



ЛАЛ-тест

Сигнальный номер. Август 2002 года.

Уважаемые коллеги!

Вашему вниманию предлагается первый номер бюллетеня «ЛАЛ-тест». Идея издания информационного листка появилась очень давно. И, наконец, сделана первая попытка воплотить ее в жизнь. Этот бюллетень предназначен для тех, кто использует в своей работе ЛАЛ-тест как средство контроля качества инъекционных лекарственных препаратов, в научно-исследовательской работе и контроле качества производственного процесса. Главная задача этого издания стать объединяющим элементом для всего сообщества специалистов, использующих в своей работе ЛАЛ-тест. В этом первом, сигнальном номере мы старались определить основные темы, которые будут освещаться в нашем издании, наметить примерный план и структуру.

ЛАЛ-тест в России – итоги пяти лет внедрения метода в практику фармацевтического производства.

*Ситников А.Г., Неугодова Н.П., Долгова Г.В.,
Йорданова-Пашевич А.*

История ЛАЛ-теста в России, как официального метода, началась с принятия временной фармакопейной статьи ВФС 42-2960-97 «Определение содержания бактериальных эндотоксинов. ЛАЛ-тест», введенной в действие в 1997 году (1). До этого момента ЛАЛ-тест использовался очень незначительно для контроля качества небольшого числа лекарственных препаратов, закупаемых по импорту. Для научных исследований метод так же практически не применялся, хотя препятствий в принципе не было. Прошло уже пять лет с момента официального признания ЛАЛ-теста. Это достаточный срок для того, чтобы сделать некоторые выводы и попытаться увидеть будущее.

Первый вывод, который можно сделать – метод принят официально и используется практически.

В 2000 году, когда закончился срок действия ВФС, была утверждена Общая фармакопейная статья «Бактериальные эндотоксины» (ОФС 42-0002-00) (2).

К настоящему времени более двадцати предприятий-производителей различных форм собственности контролируют или готовятся контролировать свою продукцию с помощью ЛАЛ-теста. В их числе:

- ОАО «АЙ СИ ЭН Полифарм», Челябинск
- ООО «ЛЭНС Фарм», Москва
- ОАО «АЙ СИ ЭН Октябрь», Санкт-Петербург
- ЗАО «Брынцалов А», Москва
- ФГУП Московский эндокринный завод, Москва
- Научный центр прикладной микробиологии, Оболенск
- ОАО «Новосибхимфарм», Новосибирск
- ОАО «Медполимер», Санкт-Петербург
- АО «Асфарма», Анжеро-Судженск
- ЗАО «Верофарм», Воронежский филиал

- ЗАО «Верофарм», Белгородский филиал
- ОАО «Ирбитский ХФЗ», Ирбит
- АО «ГИРфармация», Краснодар
- ФГУП «Мосхимфармпрепараты им. Н.А.Семашко», Москва
- ФГУП НПО «Вирион», Томск
- ОАО «Красфарма», Красноярск
- АКО «Синтез», Курган
- ОАО «УфаВита», Уфа
- НПФ «Покард», Москва
- ЗАО «Норбиофарм», Москва
- ФГУ «ГосНИИОХТ», Москва
- ИБХ РАН, Москва

Крупные производители лекарственных средств активно переводят выпускаемые препараты на контроль с помощью ЛАЛ-теста взамен проведения испытания пирогенности на кроликах. Не меньшую активность проявляют и небольшие новые компании, которые появились в последние десять лет. Для небольших предприятий нерентабельно строить виварии, поэтому они сразу начинают выстраивать систему контроля качества с использованием ЛАЛ-теста.

Второй, не менее важный вывод – качество отечественной продукции достаточно высоко, и препараты, которые ранее проверялись в тесте на кроликах, как правило, легко выдерживают проверку с помощью ЛАЛ-теста. Собственно, так и должно быть: ЛАЛ-тест в известной степени можно считать развитием или эволюцией испытания пирогенности, проводимого на кроликах. Только в отличие от испытания *in vivo*, ЛАЛ-тест позволяет обнаружить эндотоксин в очень малых концентрациях. Это свойство, безусловно полезное, часто является причиной одного очень распространенного заблуждения. Высокая чувствительность метода вызывает опасение, что препарат апиrogenный на кроликах, может быть забракован при определении бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста. В действительности же, как правило, апиrogenный в тесте на кроликах препарат может содержать бактериальные эндотоксины, но в концентрациях ниже значения, установленного для данного препарата. Превышение же допустимой концентрации эндотоксинов, обнаруженное с помощью ЛАЛ-теста, как правило, вызывает пирогенный ответ у кроликов. Впрочем, сравнение ЛАЛ-теста и теста «Пирогенность» - это тема отдельной большой статьи.

В качестве иллюстрации темы сравнения ЛАЛ-теста и анализа пирогенности, проводимого на кроликах, можно привести результаты, полученные в 1999 году при разработке ФС 42-213-96 «Вода для инъекций в ампулах» (3). При подготовке изменений к ФС исследовалось большое количество коммерческих препаратов разных производителей, которые осуществляли контроль своей продукции по показателю «Пирогенность» *in vivo*. Данные свидетельствуют о

том, что все 30 проверенных серий от 13 производителей, соответствуют требованиям по предельному содержанию бактериальных эндотоксинов. Следует отметить особо, что более чем для половины проверенных образцов (19 серий), содержание бактериальных эндотоксинов было ниже порогового значения для чувствительности гель-тромб теста – менее 0,03 ЕЭ/мл (4). Самое же интересное в этих результатах то, что на то время практически все эти образцы проверялись производителями с помощью испытания на кроликах.

Важным обстоятельством, которое стимулировало развитие ЛАЛ-теста, является внедрение в России ОСТа 42-510-98 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP)» (5). Новый ОСТ регламентирует стерильность и апиrogenность, как обязательное требование для всех инъекционных растворов. ЛАЛ-тест, как тест *in vitro*, позволяет проверять на наличие бактериальных эндотоксинов те препараты, которые ранее контролю не подвергались, а также контролировать субстанции и вспомогательные материалы. Метод также может быть использован для валидации технологического процесса, в постадийном контроле, и т.д. Все это позволяет более продуктивно регулировать производственный процесс и, в известном смысле, предсказывать качество конечного продукта. Подобный подход соответствует идеологии GMP – обеспечению качества всего производства в целом.

Из всего сказанного следует, что ЛАЛ-тест перестал быть экзотическим методом анализа. Нет никаких причин, сдерживающих его внедрение. Интерес к методу растет, количество проверяемых с его помощью препаратов увеличивается. При оценке перспектив напрашивается аналогия с внедрением этого метода в США. Он был узаконен Фармакопеей США в 1980 году, число препаратов, проверяемых с его помощью, постепенно увеличивалось, и к началу 90-х годов составляло около сотни. Потом произошел резкий скачок. В течение года-двух практически все инъекционные препараты были переведены на ЛАЛ-тест. Сейчас в USP около 600 монографий на инъекционные лекарственные средства включают ЛАЛ-тест. На кроликах проверяется около трех десятков препаратов. Это может повториться и у нас. Может, но несомненно. Главная причина заключается в отсутствии координации деятельности и недостаточно проработанной нормативной и информационной базы метода.

Нужно отдать должное всем тем, кто занимается практическим внедрением метода. Ведь до сегодняшнего дня им приходится во

всем разбираться самостоятельно. Каждое предприятие включает анализ в собственную ФСП, при этом проходя весь путь, начиная с расчета предельно допустимого содержания бактериальных эндотоксинов в препарате. По сути дела, внедрение метода идет «снизу». Ситуацию можно было бы значительно упростить, если бы метод вводился сначала в ФС для препарата, а потом предприятия включали бы его в собственные ФСП. Именно так был сделан первый практический шаг по внедрению ЛАЛ-теста – внесение изменений в ФС 42-213-96 «Вода для инъекций в ампулах», изменений предложенных по инициативе ИГКЛС (3). Принятое значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов – не более 0,25 ЕЭ/мл, узаконено и Фармакопеей США и Европейской фармакопеей. Таким образом, сразу был утвержден уровень требований, соответствующий международной практике. Важно, что такое изменение ФС означает, что производители избавлены, от необходимости рассчитывать и обосновывать значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов, достаточно принять утвержденную норму и представить протокол валидационных экспериментов, подтверждающих совместимость собственного продукта и ЛАЛ-реактива, а также соответствие качества 5 серий собственного продукта предложенному уровню.

Интересен и важен опыт такого внедрения теста еще и тем, что внесению изменений предшествовала работа по исследованию многих серий воды для инъекций, выпускаемых разными компаниями-производителями, о чем упоминалось выше. К сожалению, это единственный опыт внесения изменений в ФС, т.е. в стандарт качества ЛС, обязательный для всех предприятий.

Очевидно, что внесение изменений в ФС это прерогатива Фармакопейного Комитета, а не отдельных предприятий-производителей. Следовательно, необходима работа «сверху» по внесению изменений в ФС или хотя бы обобщение опыта по уже принятым ФСП. Второй вариант тоже возможен, так как на сегодняшний день существует уже довольно большое число утвержденных статей и проектов статей на препараты «Анальгин 25 и 50 %», «Диклофенак (ортофен) 2,5%», «Новокаин 1 и 2%», «Аминазин 2,5%», «Галоперидол д/и», «Сибазон д/и», «Тиопентал натрия д/и», «Морфин 1%», «Промедол 1 и 2% в амп.», «Промедол 1 и 2% в шприц-тюбиках», «Фентанил д/и», «Доксорубомицин д/и», «Фторурацил 5%», «Цитарабин д/и», «Карбоплатин», «Метотрексат д/и», субстанцию инсулина и его препараты и др. (4).

Другим, не менее важным вопросом, является расширение нормативной базы ЛАЛ-теста. На сегодняшний день существует два документа прямо или косвенно регламентирующих показатель «Бактериальные эндотоксины». Это ОФС 42-0002-00 «Бактериальные эндотоксины», в

которой приведены требования по проведению контрольных анализов и требования по валидации анализа (2). В ОСТе 91500.05-001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» (6), указывается для каких групп лекарственных средств может (или должен) проводиться этот анализ. Два метода анализа «Пирогенность» и «Бактериальные эндотоксины» признаны равнозначными и альтернативными.

Таким образом сформирована минимально достаточная нормативная база: есть документ, указывающий на то, что должно быть проверено, и документ, указывающий на то, как должен проводиться анализ. Явно не хватает документа, объясняющего, как должен вводиться метод. Возможно, полезен был бы и список препаратов, которые должны быть переведены на ЛАЛ-тест в первую очередь. Немаловажный момент – необходимы четкие требования по правилам валидации анализа.

В некоторой степени эти пробелы могут быть восполнены готовящимися методическими указаниями «Бактериальные эндотоксины». Этому документу, точнее его проекту, мы намереваемся посвятить один из будущих номеров нашего бюллетеня.

Большие пробелы и в научной литературе по методу. Издано около десятка статей (4,7-11) и одна небольшая книга – обзор зарубежной информации по ЛАЛ-тесту (12). Этого явно недостаточно.

Система обучения и популяризации метода пока только складывается. Достижением можно считать периодически проводимый семинар «Определение содержания бактериальных эндотоксинов, ЛАЛ-тест», организуемый «Центром по биотехнологии, медицине и фармации». Этот семинар проводится с 1998 года и имеет уже собственную историю. Подготовлено более 100 специалистов. В числе слушателей были специалисты из стран ближнего зарубежья: Армении, Белоруссии, Казахстана, Литвы, Латвии, Украины. Аналогичные семинары были проведены нашими специалистами по приглашениям Фармакопейных Комитетов Украины (1999 г.) и Узбекистана (2001 г.). Отдельной брошюрой дважды издавалось пособие для практических занятий (13, 14). Аналогичный семинар: «ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности» проводится и Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академией.

В целом, процесс внедрения метода, хоть и медленно, но идет. Темп этого движения будет зависеть от способности к самоорганизации всего сообщества специалистов, заинтересованных в этом

методе. То, что это сообщество существует, не вызывает сомнения, но пока оно существует в виде отдельных, не связанных друг с другом звеньев. Представляется, что лучше всего задачу самоорганизации сможет выполнить независимая ассоциация специалистов, работающих с ЛАЛ-тестом. Эта ассоциация сможет обеспечить соединение отдельных звеньев в единую цепь для общения и обмена информацией. Именно она и будет, в известной степени, формировать среду, в которой мы все работаем.

Литература:

1. ВФС 42-2960-97 «Определение содержания бактериальных эндотоксинов. ЛАЛ-тест». Москва, 1997 г.
2. ОФС 42-0002-00 «Бактериальные эндотоксины» Москва, 2000 г.
3. ФС 42-213-96 «Вода для инъекций в ампулах», Москва, 1999 г.
4. Неугодова Н.П., Долгова Г.В., Ситников А.Г. «Современные проблемы определения бактериальных эндотоксинов в России». В печати.
5. ОСТ 42-510-98 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP)». Москва, 1998 г.
6. ОСТ 91500.05-001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» Москва, 2001 г.
7. Ситников А.Г., Неугодова Н.П., Долгова Г.В. «Структура общей фармакопейной статьи «Бактериальные эндотоксины», Ситников А.Г. Материалы семинара «Биологические методы контроля качества лекарственных средств. Правила GLP и некоторые аспекты проведения доклинических испытаний» Москва 2002 г.
8. Неугодова Н.П., Ситников А.Г., Долгова Г.В. «Новый фармакопейный тест – «Бактериальные эндотоксины». Стандартизация и контроль качества лекарственных средств. Москва, 2001
9. Долгова Г.В., Неугодова Н.П. «Контроль за уровнем содержания бактериальных эндотоксинов в инъекционных препаратах» Материалы семинара «Внедрение GMP как основа обеспечения качества лекарственных средств» Москва, 2001 г.
10. Кипор С.Г. «Контроль за уровнем бактериальных эндотоксинов в изделиях медицинского назначения» Материалы семинара «Биологические методы контроля качества лекарственных средств. Правила GLP и некоторые аспекты проведения доклинических испытаний» Москва 2002 г.
11. Приходько А.Е., Долгова Г.В., Неугодова Н.П. «Качество воды для инъекций – гарантия безопасности инъекционных лекарственных средств» Материалы семинара «Биологические методы контроля качества лекарственных средств. Правила GLP и некоторые аспекты проведения доклинических испытаний» Москва 2002 г.
12. Ситников А.Г., Травина Л.А., Багирова В.Л. «ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности». Москва 1997 г.
13. Долгова Г.В., Неугодова Н.П., Ситников А.Г., Йорданова-Пашевич А., Шувалова А.Л. «Определение содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста (пособие для практических занятий)», Москва 2000 г.
14. Долгова Г.В., Неугодова Н.П., Ситников А.Г., Йорданова-Пашевич А., Шувалова А.Л. «Бактериальные эндотоксины: методика определения с помощью ЛАЛ-теста гель-тромб методом (пособие для практических занятий)». Москва 2001 г.

Технические подробности

Название этого раздела говорит само за себя. Впрочем, у него несколько рабочих названий: «Советы специалиста», «Know how» или «Технические подробности». Он будет посвящен деталям и подробностям проведения эксперимента, например:

- Каким образом можно планировать оптимальный расход реактивов;
- Как хранить ЛАЛ-реактив, как готовить испытуемый образец для анализа;
- Как лучше и быстрее подготовить положительный контроль образца;
- Как правильно выбрать пробирки для проведения анализа и можно ли их мыть;
- Каким образом должен быть валидирован процесс депирогенизации;
- Каким должно быть устройство для проведения инкубирования и что лучше – водяная баня или термоблок;

- Как правильно оформлять результаты опыта;
- Как правильно проводить анализ нескольких проб одной серии. Возможно ли объединение проб;
- Какие причины могут вызвать ложноотрицательные или ложноположительные результаты и что нужно делать в этом случае.

Перечисленные вопросы – это темы отдельных статей из тех, что уже внесены в план следующих выпусков. Надеемся, что другие темы появятся с помощью наших читателей. Возможно читатели, имеющие опыт работы с ЛАЛ-тестом, захотят поделиться своим опытом на страницах этого издания.

Реактивы и принадлежности

Назначение этой рубрики – информирование читателей о различных реактивах, предназначенных для проведения анализа, вспомогательных материалах и принадлежностях. Причем речь идет не о реактивах или приборах вообще, а о конкретных коммерческих продуктах, предлагаемых различными фирмами на отечественном рынке. Основное наполнение рубрики – это, конечно, продукция фирм-производителей ЛАЛ-реактива, а также, возможно, будет интересна и информация о приборах и принадлежностях, предлагаемых фирмами, специализирующимися на поставках лабораторной техники: это и водяные бани, рН-метры, автоматические пипетки и прочее оборудование, используемое при проведении анализа.

В первом номере мы решили привести краткое описание трех компаний – производителей ЛАЛ-реактива, представленных в РФ. В следующих номерах мы планируем более подробно рассказать о каждой компании и ее продукции.

Поскольку ЛАЛ-реактив получают из крови мечехвостов *Limulus polyphemus*, обитающего у берегов Северной Америки, то и производство этого реактива сосредоточено в основном в США. На сегодняшний



Рис 1. Вода для ЛАЛ-реактива, пробирки для проведения реакции, буферные растворы. . Associates of Cape Cod Inc.

день есть три крупных производителя, которые и обеспечивают потребности США и Европы. К настоящему времени все три компании представлены в России.

Надо сразу отметить, что производство ЛАЛ-реактива является сложным процессом, требующим высокой

культуры производства. К тому же производство это находится под строгим контролем со стороны FDA. Из этого следует, что случайных производителей в этой области нет. Качество реактивов всех производителей очень высокое. Все три компании отлично зарекомендовали себя за много лет. Это означает, что нельзя выбрать из них однозначного лидера, или говорить о том, что какая-то компания лучше остальных. Они что-то вроде трех китов, на которых стоит вся система контроля бактериальных

эндотоксинов в настоящее время. Кроме производства эти компании занимаются научно-исследовательской работой и популяризацией метода. Все они имеют интересные сайты в Интернете, все три выпускают информационные листки, в которых можно найти много разнообразной информации о методах проведения анализа, о выпускаемых компанией реактивах и о событиях, происходящих в сфере, связанной с ЛАЛ-

тестом. Все компании проводят семинары и курсы по обучению работе с ЛАЛ-реактивом и методам анализа.

Ниже приведена краткая информация о каждой компании в той последовательности, в какой они выходили на рынок в России.



Associates of Cape Code Inc.

В каждом деле всегда есть кто-то первый, иногда обогнавший конкурентов на несколько месяцев или даже дней. Среди производителей ЛАЛ-реактива первой компанией, получившей официальное разрешение на производство реактива в США, была компания Associates of Cape Code Inc., которая начала коммерческий выпуск реактива в 1977 году.

Компания производит реактивы для всех официально принятых Фармакопеей США методов проведения анализа. Имеет лицензию FDA на производство ЛАЛ-реактивов № 700. Предлагает также приборы и программное обеспечение для фотометрических методов..

ЛАЛ-реактив для гель-тромб теста выпускается под торговой маркой **Pyrotell®**. Регистрационное удостоверение МЗ РФ №99/74

Очень интересный сайт в Интернете: WWW. Acciusa.com
Ежеквартальный информационный листок **LAL Update**,

Компанию АСС представляет в России фирма «Тех Кэр Систем Инк».

E-mail: Techcare@sial.com



Charles River Endosafe

Компания самая молодая, среди производителей ЛАЛ-реактива. Она образована в 1987 году. Основатель ее Джеймс Купер – человек, стоявший у истоков ЛАЛ-теста и приложивший много усилий для того, чтобы сделать его официальным методом.

Компания производит полный спектр реактивов и оборудования для всех методов проведения анализа. Ее препараты хорошо известны не только в США, но и в Европе. Имеет лицензию FDA на производство ЛАЛ-реактивов №1197.

Торговая марка ЛАЛ-реактива для гель-тромб теста – **Endosafe®**. Регистрационное удостоверение МЗ РФ №99/133

Сайт в Интернете: WWW.Criver.com
Ежеквартальный информационный листок **LAL times**

Компанию представляет в России отечественная компания **ООО «Тандра»**.

E-mail:
Tandra@online.stacks.net



BioWhittaker Inc.

Эта компания тоже один из пионеров производства ЛАЛ-реактива, сохранившая свои позиции до настоящего времени. Она получила разрешение на выпуск ЛАЛ-реактива на месяц позже АСС. В Европе большой популярностью пользуются реактивы и оборудование этой компании, предназначенные для фотометрических методов проведения реакции.

Имеет лицензию FDA на производство ЛАЛ-реактивов №709.

Торговая марка ЛАЛ-реактива для гель-тромб теста – **Pyrogen®**. Эта компания на отечественный рынок выходит последней и сейчас регистрирует свои реактивы в МЗ РФ.

Сайт в Интернете: WWW.Biowhittaker.com
Ежеквартальный информационный листок **LAL Bulletin**

Компанию в России представляет отечественная фирма **ООО «Биоскрин+»**.

E-mail: Bioscreen@mail.ru

Еще один раздел будет называться «Вопросы и ответы». В этой рубрике мы готовы привести ответы на вопросы, интересующие наших читателей. Пока же вопросов нет, мы решили начать публикацию терминологического словаря. Приводятся оригинальные термины на английском языке и эквиваленты на русском. Многие названия и определения, возможно, не являются точным переводом, но уже устоялись и могут считаться общепринятыми. В тоже время мы не считаем, что приведенные трактовки терминов окончательны и безусловны. Было бы интересно, если бы в обсуждении или уточнении их приняли участие и Вы, наши читатели и коллеги.

Термины и определения

Пирогены (Pyrogens).

Вещества, попадание которых в организм человека, минуя ЖКТ, вызывает повышение температуры тела. Термин, как правило, применяется в отношении случайных примесей, загрязняющих растворы инъекционных лекарственных средств. Наиболее часто встречающиеся пирогены – эндотоксины грам-отрицательных бактерий.

Бактериальные эндотоксины (Bacterial endotoxins).

Фрагменты клеточной оболочки грамотрицательных бактерий. Представляют собой белково-липополисахаридные комплексы разного размера и молекулярной массы. Молекулы бактериальных эндотоксинов устойчивы к нагреванию и не разрушаются при обычном цикле автоклавирования. Легко проходят через стерилизующие фильтры с диаметром пор 0,22 мкм. Они, оставаясь в растворе стерильного лекарственного средства, способны вызывать пирогенную реакцию.

Липополисахариды, ЛПС (Lipopolysaccharides).

Высокомолекулярные молекулы бактериальных эндотоксинов, лишенные белковой части. Молекула липополисахарида состоит из трех частей: гидрофильного о-полисахарида, ядра и биологически активного гидрофобного Липида А. Пирогенные свойства ЛПС определяются именно липидной частью молекулы. Стандарты эндотоксина, используемые при проведении ЛАЛ-теста по своей химической природе являются Липополисахаридами.

Международный стандарт эндотоксина (International Standard, IS).

Стандарт эндотоксина, признанный Экспертным Комитетом по биологической стандартизации ВОЗ, является очищенным эндотоксином (липополисахаридом, ЛПС) *Escherichia coli* штамма 0113:H10:K0. В одном флаконе содержится 10 000 единиц эндотоксина (ЕЭ). Международный стандарт служит для калибровки контрольных стандартов эндотоксина, выпускаемых национальными производителями различных стран, а также для установления чувствительности выпускаемых ЛАЛ-реактивов

Единица эндотоксина, ЕЭ (Endotoxin Unit, EU, International Unit, IU).

Единица активности Международного стандарта эндотоксина. В единицах эндотоксина выражается чувствительность ЛАЛ-реактива (ЕЭ/мл), а также пороговая пирогенная доза и предельное содержание бактериальных эндотоксинов в лекарственном средстве.

Пороговая пирогенная доза (Threshold pyrogenic dose).

Доза эндотоксина, введение которой способно вызвать пирогенную реакцию у человека, выраженная в единицах активности Международного стандарта эндотоксина (ЕЭ). На основании многочисленных экспериментов принято считать эту дозу, равной 5 ЕЭ/кг в час при введении лекарственного средства парентерально и 0,2 ЕЭ/кг в час при интратекальном способе введения. Значение пороговой пирогенной дозы используется при расчете предельного содержания бактериальных эндотоксинов в лекарственном средстве.

Предельное содержание бактериальных эндотоксинов (Endotoxin limit, Endotoxin limit concentration).

Содержание (концентрация) бактериальных эндотоксинов в препарате, которое не вызывает пирогенной реакции при введении этого препарата в максимальной терапевтической дозе. Эта

величина может быть выражена в ЕЭ на 1 мг или 1 мл препарата (ЕЭ/мл, ЕЭ/мг), в ЕЭ на 1 единицу активного вещества (ЕЭ/ЕД) или в ЕЭ на дозу. Учитывая специфику анализа и то, что предельное содержание бактериальных эндотоксинов рассчитывается исходя из пороговой пирогенной дозы, реальное содержание бактериальных эндотоксинов в лекарственном средстве, определенное с помощью ЛАЛ-теста, должно быть меньше предельного содержания бактериальных эндотоксинов.

ЛАЛ-реактив (LAL-reagent).

Реактив, получаемый из клеток крови (амебоцитов) мечехвостов (*Limulus polyphemus*). Аббревиатура «ЛАЛ» - сокращение, образованное первыми буквами словосочетания «Лизат Амебоцитов Лимулос». ЛАЛ-реактив – это лиофилизированный лизат амебоцитов, забуференный и стабилизированный.

ЛАЛ-тест (LAL-test).

Это тест, в котором используется ЛАЛ-реактив. Он предназначен для определения содержания бактериальных эндотоксинов в водных растворах. ЛАЛ-тест может выполняться в различных модификациях: гель-тромб тест, хромогенный или турбодиметрический.

Гель-тромб тест (Gel-clot test, Gel-clot procedure).

Способ проведения ЛАЛ-теста, в котором конечный результат реакции оценивается визуально по образованию плотного геля на дне пробирки после завершения инкубирования реакционной смеси. Гель-тромб тест является основным методом проведения ЛАЛ-теста, принятым ведущими фармакопеями мира.

Качественный гель-тромб тест (Pass/fail test, limit test).

Самый простой и распространенный способ проведения гель-тромб теста, по результатам которого можно сделать вывод о том, что концентрация бактериальных эндотоксинов в испытуемом препарате меньше установленного для данного препарата предельного содержания бактериальных эндотоксинов. Этот тест также называется «разрешающим» или «разрешающим/запрещающим». В Европейской фармакопее и Фармакопее США он указан, как Метод А и является арбитражным методом.

Количественный гель-тромб тест (Specimen Assay Semiquantitative test).

Способ проведения эксперимента, который дает возможность определения концентрации эндотоксина в анализируемом препарате путем испытания серии его последовательных разведений. Концентрация эндотоксина рассчитывается путем умножения чувствительности используемого ЛАЛ-реактива на фактор максимального разведения препарата, в котором был получен плотный гель. Этот тест иногда называют полуквантитативным из-за невозможности точно определить истинное значение концентрации бактериальных эндотоксинов.

Новости

Эта часть издания будет посвящена программам семинаров, круглых столов и заседаний, посвященных ЛАЛ-тесту, новым официальным документам, новым статьям и брошюрам по методу и областям его использования. Здесь же мы планируем помещать планы следующих номеров нашего листка.

1. Следующий номер листка «ЛАЛ-тест» планируется к выпуску в сентябре. Основная тема: **«ОФС 42-0002-00. Бактериальные эндотоксины»** - общая обзорная статья о документе, нормирующем правила проведения анализа бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста, о перспективах развития или обновления статьи. А так же о документах, которые должны быть приняты, для того, чтобы система контроля стала сбалансированной.

Среди прочих материалов – рассказ о компании Associates of Cape Cod и ее продукции, продолжение словаря терминов и определений и др.

2. В августе откроется сайт в Интернете. Адрес: WWW.Limulustest.ru.

Структура сайта пока только разрабатывается. Предполагается, что будут страницы, посвященные реактивам и материалам, необходимым для анализа; страница под рабочим названием «Библиотека», в которой будут представлены научные статьи по теме; страница «Обучение» с темами семинаров, а так же новости.

Заключение.

Издание этого бюллетеня - только часть программы формирования сообщества специалистов, использующих ЛАЛ-тест. Анонсированный в этом номере сайт в Интернете будет еще одним шагом к формированию такого сообщества. Обязательным элементом должно быть формирование системы обучения ЛАЛ-тесту для специалистов разной степени подготовленности. Такая программа разрабатывается, и первые ее варианты будут опубликованы в следующем номере и на сайте.

Нам хочется верить в то, что дело, которое мы начинаем сегодня, интересно не только нам. Надеемся, это начинание будет поддержано и Вами, нашими коллегами. Одна из главных целей бюллетеня будет достигнута, когда мы будем больше знать о методе, друг о друге, сможем делиться опытом и в конце концов сами будем определять развитие метода.

Что касается настоящего издания, то оно станет возможным в том случае, если заинтересованных в нем будет хотя бы два – три десятка специалистов. Рассылаться оно будет индивидуально. Если Вас заинтересовал этот проект и Вы хотели бы получить следующий номер, пожалуйста, свяжитесь с нами или по электронной почте: E-mail: LALNews@Limulustest.ru, или заполните регистрационную карточку и вышлите ее по адресу: Москва 107564, А/Я 13.

Мы будем рады любым откликам наших читателей.

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

Ситников А. Г.

Неугодова Н.П.

Долгова Г.В.

Йорданова А.

Шувалова А.Л.

«ЛАЛ-тест» - периодический бюллетень для пользователей ЛАЛ-теста, а также для специалистов, работающих в области фармации, медицины и биологии.

Главный редактор: Ситников А.Г.

Ответственный за выпуск: к.б.н. Йорданова-Пашевич А.

Подписано к печати: 20.08.2002 г.

Формат А4; Бумага: 100 г/м²; Печать: Ризограф; Объем: 8 стр.; Тираж: 500 экземпляров.

Издатель ООО «Центр по биотехнологии, медицине и фармации» Россия, Москва, 113105, ул. Нагатинская, 3а. Тел/факс 111-51-85

Лицензия на издательскую деятельность: Код 221 Серия ИД № 00274

Типография : ООО «Копиринг», Москва.