

*Уважаемые коллеги!*

*Мы начинаем цикл публикаций, посвященных введению раздела «Бактериальные эндотоксины» в Фармакопейную статью предприятия (ФСП). Эта работа состоит из нескольких этапов. Начинается она с расчета значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов в препарате, а завершается проведением анализа «Мешающие факторы». Собственно анализ «Мешающие факторы» и является валидацией метода для лекарственного средства.*

*Статья этого номера посвящена работе, подготавливающей почву для проведения анализа «Мешающие факторы». Правила проведения предварительных анализов не описаны в фармакопейных статьях и документах, регламентирующих правила валидации метода. Тем не менее, эти анализы очень важны, так как помогают не только правильно провести анализ «Мешающие факторы», но и позволяют оптимизировать последующие рутинные анализы.*

*Следующий номер будет посвящен правилам проведения валидации метода для лекарственного препарата.*

## ВВЕДЕНИЕ РАЗДЕЛА «БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ» В ФСП. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ АНАЛИЗЫ.

Ситников А.Г.

**К** наиболее фундаментальным действиям, проводимым при введении показателя «Бактериальные эндотоксины» в фармакопейную статью предприятия на лекарственный препарат, можно отнести расчет значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов в препарате и проведение анализа «Мешающие факторы». Вопросу расчета предельного содержания бактериальных эндотоксинов

был посвящен один из предыдущих номеров нашего бюллетеня (ЛАЛ-тест № 3. 2003). Анализ «Мешающие факторы» и является собственно валидацией ЛАЛ-теста для лекарственного препарата. Схема проведения анализа «Мешающие факторы» описана в ОФС 42-0002-00 «Бактериальные эндотоксины». В ОФС приведены и требования, которым должен соответствовать испытываемый препарат или его разведение, испытываемое в опыте.

ОФС 42-0002-00

Испытанию может быть подвергнут препарат в любом разведении, не превышающем значения МДР. Используемые в данном анализе пробы испытываемого препарата (или его разведения) не должны содержать бактериальных эндотоксинов в определяемых в тесте количествах.

Если присутствие мешающих факторов обнаружено для испытываемого препарата, который проверялся в разведении меньшем МДР, анализ может быть повторен для разведения, равного МДР. В большинстве случаев дополнительное разведение испытываемого препарата способно снять действие мешающих факторов. Использование ЛАЛ-реактива большей чувствительности позволяет увеличить степень разведения.

Для успешного проведения анализа «Мешающие факторы» необходимо испытывать препарат в разведении, не ингибирующим реакцию. Следовательно, необходимо заранее выяснить: способен ли препарат ингибировать реакцию, и в каком разведении это ингибирование снимается. Анализ «Мешающие факторы» способен выявить и возможность усиления реакции ЛАЛ-реактива и эндотоксина, что выражается в виде получения положительных результатов при фактическом отсутствии эндотоксинов в испытуемом растворе. Но с уверенностью можно говорить об усилении реакции только, зная, что в испытуемом растворе не содержится эндотоксинов. Следовательно, проводить анализ «Мешающие факторы» можно только для разведений испытуемого препарата, в которых концентрация эндотоксина не обнаруживается ЛАЛ-реактивом с используемой чувствительностью. Выбрать разведение, в котором соблюдаются оба этих условия, можно только после предварительной проверки испытуемого препарата. Несмотря на то, что проведение предварительных анализов не предписано официальными документами, оно является целесообразным действием, позволяющим сократить время и расход реактивов при проведении анализа «Мешающие факторы». Поскольку из проявлений действия мешающих факторов наибольшую проблему представляет ингибирование, то и предварительные анализы построены таким образом, чтобы выявить это ингибирование. Одновременно выясняется и концентрация эндотоксинов в испытуемых сериях.

Опыт очень похож на количественный гель-тромб тест, описанный в ОФС. Испытуемый препарат проверяют в ряду последовательных двукратных разведений, определяют конечную точку реакции, по которой рассчитывают концентрацию эндотоксинов. Отличие от фармакопейного анализа заключается в том, что положительный контроль испытуемого образца (испытуемое разведение, к которому добавлен эндотоксин в концентрации 2 л) ставят не для одного наименьшего разведения, а для всех разведений, испытываемых в опыте. Т.е. в анализе параллельно испытываются два ряда разведений испытуемого препарата: один без эндотоксина, к другому добавлен эндотоксин в известной концентрации, которая гарантирует образование геля.

Следует отметить, что по результатам этого опыта нельзя обнаружить усиление реакции.

Рассмотрим разные варианты результатов опытов и правила интерпретации результатов. Например, исследуется препарат, предельное содержание бактериальных эндотоксинов в котором должно быть не более 4 ЕЭ/мл. Чувствительность ЛАЛ-реактива – 0,03 ЕЭ/мл. Значение максимально допустимого разведения в этом случае равно 1/128. В приведенных примерах стандартные контроли не указаны.

### Пример 1.

Разведения испытуемого препарата							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+
Разведения испытуемого препарата с КСЭ в конц. 2л							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+

### Результаты и интерпретация.

Препарат не ингибирует реакцию. Содержание бактериальных эндотоксинов в проверяемой серии испытуемого препарата точно определить невозможно. Можно говорить только, что оно более 4 ЕЭ/мл ( $128 \cdot 0,03125 \text{ ЕЭ/мл} = 4 \text{ ЕЭ/мл}$ ). Возможно, содержание эндотоксинов настолько велико, что оно полностью маскирует проявление ингибирующего действия препарата. Данная серия не может быть использована для проведения анализа «Мешающие факторы».

**Комментарии.** Само по себе высокое содержание эндотоксинов в одной серии не означает невозможность введения раздела «Бактериальные эндотоксины» и проведения валидации метода. Необходимо подобрать другую серию с низким содержанием эндотоксина. В том случае, если и остальные серии такого же качества, стоит задуматься о состоянии производства. Не следует также думать, что анализ «Пирогенность» для такого препарата позволит пропускать серии, бракуемые ЛАЛ-тестом. Значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов соответствует пороговой пирогенной дозе, и превышение ее будет вызывать пирогенный ответ у кроликов.

### Пример 2.

Разведения испытуемого препарата							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
Разведения испытуемого препарата с КСЭ в конц. 2λ							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-

### Результаты и интерпретация.

Препарат ингибирует реакцию, и разведение препарата не снимает ингибирование реакции. Содержание бактериальных эндотоксинов в проверяемой серии испытуемого препарата определить невозможно. Эндотоксинов может не быть вообще. Возможно, присутствие эндотоксина маскируется ингибирующим действием препарата. Проводить анализ «Мешающие факторы» для такого препарата можно, только устранив ингибирующее действие.

**Комментарии.** Самый простой и надежный способ снятия ингибирования - это разведение испытуемого препарата. Чем чувствительней ЛАЛ-реактив, тем больше степень разведения. Из сказанного следует, что при проведении предварительных исследований наиболее предпочтительно использование ЛАЛ-реактива с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл. В данном примере увеличить степень разведения невозможно. Необходимо отработать методику снятия ингибирования.

### Пример 3.

Разведения испытуемого препарата							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
+	+	+	+	-	-	-	-
+	+	+	+	-	-	-	-
Разведения испытуемого препарата с КСЭ в конц. 2λ							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
-	-	+	+	+	+	+	+
-	-	+	+	+	+	+	+

### Результаты и интерпретация.

Препарат ингибирует реакцию до разведения 1/2 включительно. Содержание бактериальных эндотоксинов в проверяемой серии испытуемого препарата равно 0,25 ЕЭ/мл ( $8 \cdot 0,03125$  ЕЭ/мл = 0,25 ЕЭ/мл).

Данная серия может быть использована для проведения анализа МФ. Анализ можно проводить для разведения более 1/8.

**Комментарии.** При выборе степени разведения для проведения анализа «Мешающие факторы» следует помнить, что концентрация эндотоксина

может колебаться от серии к серии. Поэтому необходимы данные по нескольким сериям испытуемого препарата. Другими словами исследовать надо каждую серию, для которой будет проводиться анализ «Мешающие факторы».

### Пример 4.

Разведения испытуемого препарата							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
+	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-
Разведения испытуемого препарата с КСЭ в конц. 2λ							
1:1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
-	-	-	+	+	+	+	+
-	-	-	+	+	+	+	+

### Результаты и интерпретация.

Препарат ингибирует реакцию до разведения 1/4 включительно. Содержание бактериальных эндотоксинов в проверяемой серии испытуемого препарата точно определить невозможно. Можно только утверждать что оно не более 0,25 ЕЭ/мл ( $8 \cdot 0,03125$  ЕЭ/мл = 0,25 ЕЭ/мл). Этот расчет сделан по результатам, полученным для препарата, к которому был добавлен эндотоксин. Известно, что ингибирование пропадает в разведении 1/8, и в этом разведении эндотоксины не обнаружены.

Данная серия может быть использована для проведения анализа «Мешающие факторы». Анализ можно проводить для разведения более 1/8.

**Комментарии.** В отличие от случайной концентрации эндотоксинов, ингибирование – свойство относительно постоянное. Оно, как правило, связано с концентрацией активного вещества и, соответственно, незначительно будет изменяться от серии к серии.

Из приведенных примеров первые два носят скорее теоретический характер, на практике такие результаты встречается редко. Наиболее часто встречаются варианты, рассмотренные в примерах 3 и 4.

При проведении предварительных анализов совершенно необязательно ставить ряды двукратных разведений испытуемого препарата до МДР включительно. Можно разработать собственную схему проведения анализов, оптимизировав расход реактивов. В рассмотренных примерах значение МДР препарата относительно невелико, и постановка анализа для ряда двукратных

разведений выглядит обоснованным действием. В том случае, если МДР более 1/1000, предварительные анализы могут быть разделены на два этапа. Сначала испытывают препарат в разведениях с большим шагом, например, 1:10 (1/1, 1/10, 1/100, 1/1000). Такой анализ позволяет сделать предварительную оценку неингибирующей концентрации. Затем можно переходить к двукратным разведениям в определенном диапазоне, чтобы точно определить значение концентрации эндотоксинов или неингибирующую концентрацию (разведение) испытуемого препарата. В том случае, если качество препарата совершенно неизвестно, и есть опасение, что концентрация эндотоксина в нем может быть высока, целесообразно провести простой качественный анализ для максимального разведения. И убедившись в том, что содержание эндотоксинов ниже предельно допустимого, можно переходить к проведению предварительных анализов.

Перед проведением опыта следует измерить рН испытуемого препарата и его разведений. Значение рН часто оказывается причиной ингибирования. Наиболее правильное действие - измерение значения рН реакционной смеси (ЛАЛ-реактив + испытуемый препарат). Технически же удобнее измерять рН испытуемого препарата или его разведений, которые можно готовить на дистиллированной воде и в объемах, достаточных для измерения стандартным рН-метром. В ОФС указано, что значение рН испытуемого препарата должно быть в диапазоне 6-8. Предварительно определив значения рН препарата и его разведений, можно исключить из ряда разведений, испытываемых в предварительных анализах, те разведения, в которых значения рН сильно отличаются от указанного диапазона.

В заключении необходимо коснуться вопроса интерпретации результатов, полученных при проведении предварительных анализов. Полученные данные позволяют принять решение о выборе той степени разведения препарата, для которой можно провести анализ «Мешающие факторы». Считается правильным проводить этот анализ в разведении вдвое большим того разведения, при котором исчезает ингибирующее действие. Так, если препарат ингибирует реакцию в

разведениях до 1/2, а в разведении, равном 1/4, ингибирование пропадает (Пример 3), то валидацию проводят для разведения 1/8 или для большего разведения. Для простоты подготовки испытуемых образцов при проведении анализа «Мешающие факторы» это значение можно округлить до 1/10 или даже 1/20. Так делается поправка на возможные различия, зависящие от конкретной серии. На выбор степени разведения может повлиять и реальное содержание эндотоксина, обнаруженное в предварительном тесте. Например, если эндотоксин обнаруживают в разведениях до 1/8, то валидацию для такого препарата целесообразно проводить для разведений от 1/32. Стоит обратить внимание на то, что в приведенных примерах рассматривались результаты, полученные для одной серии препарата. Анализ «Мешающие факторы» проводят на нескольких сериях (3-5 сериях). Поэтому целесообразно проводить предварительные анализы для всех серий, отобранных для проведения валидации. Принимать решение о выборе степени разведения для постановки анализа «Мешающие факторы» можно только после обобщения результатов, полученных для всех испытуемых серий.

#### *Литература.*

*Case MJ, Ryther SS, Novitsky TJ Detection of endotoxin in antibiotic solutions with Limulus amoebocyte lysate. Antimicrob // Agents Chemother 1983 May;23(5):649-652.*

*Cooper J.F. Using validation to reduce LAL pH measurements. // LAL Times 1997.,Vol.4.,No.2*

*Cooper J.F. Validation of bacterial endotoxins test methods. LAL Times 1999 Vol. 6.,No.2,*

*Dawson M.E. Preliminary testing. // LAL Update, 1996, Vol.14.,No.1*

*Dawson M.E. Inhibition and enhancement testing. Part 2.// LAL Update 1997 Vol. 15.,No.1/*

*Novitsky T., ed. Preliminary Inhibition Test.// LAL Update 1984 Vol. 2.,No.3, Suppl.*

# МОНИТОРИНГ КАЧЕСТВА РАСТВОРОВ ДЛЯ ИНФУЗИЙ, ВЫПУСКАЕМЫХ ЛПУ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ.

Шукиль Л.В.

Директор ГУ "Территориальный Центр по сертификации и контролю качества лекарственных средств Омской области"

В течение 2002 – 2003 гг. ГУ «Территориальный Центр по сертификации и контролю качества лекарственных средств Омской области» проводил контроль качества растворов для инфузий, производимых ЛПУ области по показателю «Бактериальные эндотоксины». Всего было проверено 209 образцов раствора хлорида натрия изотонического (0,9%) и раствора глюкозы 5%. ЛАЛ-тест использовался как анализ, альтернативный анализу на кроликах. В качестве значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов для испытуемых препаратов было принято значение 0,5 ЕЭ/мл, что соответствует требованиям, предъявляемым большинству растворов для инфузий. Из 209 проверенных образцов 12 потребовали повторной проверки. По результатам повторных анализов 7 испытуемых образцов были забракованы по показателю «Бактериальные эндотоксины». Полученные результаты подтверждают важность проведения мониторинга качества продукции, выпускаемой производственными аптеками. Использование ЛАЛ-теста может стать адекватной заменой анализа пирогенности, проводимого на кроликах. Необходимо отметить, что дополнительными преимуществами метода являются быстрота получения результатов и возможность организации рабочего места без привлечения крупных капиталовложений.

## Введение

В практической фармации определение содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста применяется для контроля технологических процессов и для контроля качества готовой продукции. В настоящее время ЛАЛ-тест используется как альтернатива тесту на кроликах.

Чаще всего причиной лихорадки являются пирогены микробного происхождения, а именно эндотоксины грамотрицательных бактерий, входящие в состав клеточной стенки. Эндотоксины устойчивы к нагреванию и легко переносят процесс стерилизации, сохраняя свои свойства (1). Таким образом, стерилизация инъекционных растворов не гарантирует отсутствия в них эндотоксинов. Высокая устойчивость эндотоксинов, большая вероятность их присутствия в готовых инъекционных лекарственных формах из-за возможного попадания бактерий с сырьем, водой, либо из воздуха, а также

серьезные последствия, вызванные попаданием эндотоксинов в кровь, делают необходимым обязательный контроль содержания эндотоксинов в готовом лекарственном препарате. Использование ЛАЛ-теста в качестве метода контроля пирогенных примесей представляет интерес не только для производителей лекарственных средств, но и для учреждений, осуществляющих контроль за препаратами отечественного и зарубежного производства.

ГУ «Территориальный Центр по сертификации и контролю качества лекарственных средств Омской области» осуществляет контроль качества лекарственных средств, поступающих на территорию области, а также контроль за изготовлением лекарственных средств в аптеках.

На территории Омской области в 2002 году на основании Санитарных правил СП 1.1.1058-01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и

выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» (2) создана Программа производственного контроля для аптек, занимающихся изготовлением лекарственных средств. Данная программа утверждена Главным государственным санитарным врачом Омской области и Председателем комитета по фармацевтической деятельности и производству лекарств Омской области. Согласно приказу МЗ РФ № 214 от 16.07.1997 г. «О контроле качества лекарственных средств, изготавливаемых в аптечных организациях (аптеках)» испытание на пирогенность растворов для инъекций и инфузий проводят в соответствии с требованиями действующей ГФ 1-2 раза в год (3,4). В рамках программы производственного контроля данный вид исследования с 2002 года осуществляет ГУ «ТЦСКК лекарств Омской области», в составе которого имеется микробиологическая лаборатория, аккредитованная на все виды микробиологических исследований, в том числе, на проведение исследований лекарственных средств по определению содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста.

### **Материалы и методы**

**Испытуемые образцы.** Определение содержания бактериальных эндотоксинов в инъекционных лекарственных препаратах с помощью ЛАЛ-теста качественным гелем-тромб методом проводилось трижды: 1 раз в 2002 году и 2 раза в 2003 году.

В 2002 году в качестве эксперимента было исследовано 56 проб 0,9% раствора натрия хлорида, поступивших из аптечных учреждений города и области, а также из аптек ЛПУ.

В 2003 году определение содержания бактериальных эндотоксинов в экстемпоральных инъекционных лекарственных формах проводилось дважды. В первом полугодии было исследовано 78 проб 5% раствора глюкозы.

Во втором полугодии 2003 года проводился еще один цикл исследований на наличие пирогенных

примесей в растворах для инъекций, приготовленных аптеками города и области. Всего поступило 75 проб, из них 43 пробы 9% раствора натрия хлорида и 32 пробы 5% раствора глюкозы.

Все испытуемые образцы представляли собой готовые лекарственные формы в первичной упаковке: стеклянные флаконы, закрытые резиновыми пробками и обкатанные алюминиевыми колпачками.

### **Расчет значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов.**

Содержание бактериальных эндотоксинов выражается в Единицах Эндотоксина (ЕЭ). В том случае, если в фармакопейной статье не указано значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов, оно может быть рассчитано по формуле:

$$A = K / M, \text{ где}$$

A – максимально допустимая концентрация эндотоксина;

K – пороговая пирогенная доза (ЕЭ/кг/час); для растворов, предназначенных для парентерального введения, это значение равно 5 ЕЭ/кг/час;

M – максимальная терапевтическая доза препарата, вводимая в течение 1 часа на кг массы тела; для растворов для инфузий M равно 10мл/кг/час.

Таким образом, расчетное значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов в растворах натрия хлорида 0,9% и глюкозы 5% должно быть не более 0,5 ЕЭ/мл. Это значение соответствует нормам, принятым для аналогичных препаратов отечественного и зарубежного производства.

### **Анализ содержания бактериальных эндотоксинов.**

Определение содержания бактериальных эндотоксинов проводилось в соответствии с требованиями ОФС «Бактериальные эндотоксины» (5). В работе были использованы реактивы и посуда фирмы "Associates of CAPE COD. Inc",

регистрационное удостоверение МЗ РФ № 99/74 от 07.06.1999 г. Использовали ЛАЛ-реактивы с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл и 0,125 ЕЭ/мл.

Испытуемые препараты проверяли в разведениях, равных МДР или 1/2 МДР. В случае получения положительных результатов в разведении, равном 1/2 МДР, проводили повторный анализ в разведении, равном МДР. Окончательное решение

проводилось дважды. В первом полугодии было исследовано 78 проб 5% раствора глюкозы. В результате в 9-ти пробах из 78 был получен положительный результат в обеих повторностях (образование плотного геля). Опыт для этих 9-ти проб был повторен в разведении, равном МДР, и для 4-х испытуемых образцов были получены положительные результаты в обеих повторностях. Во втором

Таблица 1 **Результаты проверки содержания бактериальных эндотоксинов проведенной микробиологической лабораторией ГУ «ТЦСКК лекарственных средств Омской области» в 2002 – 2003 гг**

Год	Препарат	Количество аптек, доставивших пробы	Количество исследованных проб	Соответствует требованиям	Не соответствует требованиям
2002	0,9 % раствор натрия хлорида	56	56	56	0
2003	5 % раствор глюкозы	146	110	106	4
	0,9 % раствор натрия хлорида	146	43	40	3

принималось по результатам повторных анализов.

Ежедневно проводили исследование 10 проб с обязательной постановкой заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива, контроля ингибирования (положительного контроля испытуемого образца), отрицательного и положительного контролей.

### Результаты

В 2002 году в качестве эксперимента было исследовано 56 проб 0,9% раствора натрия хлорида, поступивших из аптечных учреждений города и области, а также из аптек ЛПУ.

Превышения содержания бактериальных эндотоксинов ни в одной пробе 0,9 % раствора натрия хлорида зафиксировано не было (Табл. 1).

В 2003 году определение содержания бактериальных эндотоксинов в экстемпоральных инъекционных лекарственных формах

полугодии 2003 года проводился еще один цикл исследований на наличие пирогенных примесей в растворах для инъекций, приготовленных аптеками города и области. Всего поступило 75 проб, из них 43 пробы 9% раствора натрия хлорида и 32 пробы 5% раствора глюкозы. В результате в 3-х пробах 0,9% раствора натрия хлорида содержание бактериальных эндотоксинов превысило допустимый уровень (Табл. 1).

### Обсуждение

Полученные результаты позволяют говорить о достаточно высоком уровне качества лекарственных средств, производимых больничными аптеками области. Вместе с тем, около 3% (7 из 209) от общего количества испытанных серий оказались неудовлетворительными.

Причиной превышения допустимого содержания бактериальных эндотоксинов в забракованных сериях может быть неудовлетворительное

качество используемых субстанций или, что кажется более вероятным, колебания качества воды для инъекций, используемой для приготовления лекарственных форм. Анализируя накопленный за два года работы опыт по применению ЛАЛ-теста для определения пирогенности экстемпоральных инъекционных лекарственных средств, можно сказать, что даже выборочный контроль, проводимый в настоящее время микробиологической лабораторией ГУ «ТЦСККЛС Омской области», позволяет территориальному органу контроля качества осуществлять контроль за изготовлением лекарственных средств в аптеках по всем показателям. Используя метод, характеризующийся своей простотой, высокой чувствительностью, надежностью, возможностью получения результатов в короткий срок, можно добиться осуществления максимального контроля за уровнем пирогенных примесей каждой партии экстемпоральных инъекционных препаратов, изготовленных в аптечных учреждениях, что является особенно актуальным для аптек, обслуживающих детские лечебные учреждения и учреждения родовспоможения.

Таким образом, ЛАЛ-тест может использоваться не только независимыми контрольными лабораториями, но и непосредственно организациями-

производителями лекарственных средств.

#### Литература:

1. А.Г.Ситников, Л.А.Травина, В.Л.Багирова «ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности» Москва, 1997 г.

2. СП 1.1.1058-01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

3. Приказ МЗ РФ № 214 от 16.07.1997г. «О контроле качества лекарственных средств, изготовляемых в аптечных организациях (аптеках)».

4. Государственная фармакопея СССР XI издание, Москва 1987 г.

5. ОФС 42-0002-00 «Бактериальные эндотоксины» Москва 2000 г.

*От редакции.*

*Представленная статья затрагивает очень важные вопросы, связанные с применением ЛАЛ-теста для контроля качества растворов для инфузий, которые готовят в аптеках ЛПУ и используют сразу после приготовления. Возможно, это наиболее массовые и часто употребляемые препараты, качество которых может испытать на себе буквально каждый.*

*Хочется обратить внимание на проблему, которую создает отсутствие нормативной базы для проведения анализов. Отсутствие показателя «Бактериальные эндотоксины» в фармакопейных статьях на растворы натрия хлорида и глюкозы значительно осложняет работу контролирующих организаций и производителей. Вместе с тем, значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов в растворах для инфузий общеизвестны и утверждены всеми фармакопеями. Определенно, этот недостаток – отсутствие ЛАЛ-теста в ФС на наиболее распространенные лекарственные препараты - должен быть устранен как можно быстрее.*

*Выражаем свою искреннюю признательность автору - Людмиле Владимировне Шукиль, которая первая откликнулась на наш призыв принять участие в обсуждении проблем практического применения ЛАЛ-теста.*



# ВОДЯНЫЕ БАНИ ДЛЯ ИНКУБИРОВАНИЯ РЕАКЦИОННЫХ СМЕСЕЙ.

Чиркова М.Н., Демидова В.В

**В** одном из номеров бюллетеня за прошлый год («ЛАЛ-тест» 2003, №3) мы рассказывали о термоблоках, используемых для инкубирования реакционных смесей. Сегодня мы решили продолжить ранее начатую тему и представить вашему вниманию водяные бани.

Водяная баня до сих пор считается классическим приспособлением для проведения инкубирования. Водяная баня хорошо держит температуру и обеспечивает наиболее равномерный нагрев для всех пробирок. Особенно хорошо держат температуру большие бани, которые медленно разогреваются, но зато не допускают скачков температуры. Дополнительным преимуществом больших бань является возможность проведения инкубирования одновременно для десятков пробирок в нескольких штативах. Создается возможность проведения нескольких анализов. Удобно и отсчитывать время начала инкубирования от момента помещения в баню штатива с пробирками.

Безусловным преимуществом водяных бань является хорошая теплопередача. Пробирки, помещенные в воду, практически сразу разогреваются до необходимой температуры. Важная деталь, на которую надо обратить внимание, – уровень воды в бане должен быть большим, что обеспечивает стабильность нагрева. В некоторой степени большой объем воды в бане способен компенсировать незначительные вибрацию или сотрясения, которые могут оказаться критическими. В то же время термоблок, стоящий на столе, представляет собой более уязвимую конструкцию, для которой фатальным может оказаться случайное резкое сотрясение стола. Единственное противоречие, которое необходимо разрешить для бани с



Водяная баня JOUAN J18

глубокой емкостью, – как добиться того, чтобы объем был максимально большим, а пробирки погружались бы в воду не более чем на 1/3. В противном случае они начинают всплывать.

Водяные бани являются очень распространенным лабораторным оборудованием. При желании можно подобрать модель, которая в наибольшей степени соответствует стоящим перед исследователями задачам.

Мы в нашей лаборатории при проведении исследовательских работ и обучении используем и водяные бани, и термоблоки. Из всего используемого нами оборудования для инкубации наиболее подходящей для проведения ЛАЛ-теста оказалась водяная баня производства французской компании Jouan.

Эта баня исключительно проста в управлении и при этом гарантирует высокую стабильность температуры.

Конструктивно баня состоит из двух компонентов: емкости и блока управления. Емкость изготовлена из нержавеющей стали и заключена в термозащитный кожух, что предотвращает потерю тепла. Блок управления с нагревательными элементами легко устанавливается на кромке емкости и легко снимается с нее.

Это значительно облегчает процесс очистки и емкости, и нагревательных элементов. Блок управления состоит из нагревательных элементов, регулятора температуры, индикатора нагрева и встроенного термометра. Система управления очень проста: желаемая температура устанавливается с помощью регулятора температуры, реальная измеряется термометром. Пока идет разогрев воды, горит индикатор нагрева, когда нагрев прекращается, лампочка гаснет. Принудительная циркуляция воды отсутствует, что очень важно для проведения анализа. При этом конструкция бани гарантирует высокую гомогенность температуры для всего объема воды. Конечно, такая система управления сегодня может показаться несколько архаичной. Давно уже используются бани с программируемыми режимами работы, со встроенными электронными термометрами, осуществляющими контроль за температурой и т.д. С другой стороны, требования, которым должна отвечать баня для проведения ЛАЛ-теста, элементарны: способность обеспечить равномерный и постоянный нагрев в заданных температурных интервалах в течение часа. Для такой задачи не нужны очень "умные" приборы. На первый план выходят другие потребительские свойства: надежность, стабильность работы, простота в обслуживании. Всем этим требованиям удовлетворяют бани Jouan.

Бани Jouan дополнительно комплектуются штативами. Штативы, входящие в комплект бани, изготовлены из нержавеющей стали. Штатив за скобы подвешивается к краю емкости, "дно" штатива регулируется по высоте, и таким образом, можно выставить необходимый уровень погружения пробирок в воду. Важно, что предусмотрены штативы для пробирок разного диаметра, в том числе и для пробирок диаметром 10 мм. Штативы для пробирок на 10 мм представляют собой известную проблему. Они довольно редки, конструкции некоторых из них если и позволяют работать с пробирками на столе, то для бани могут быть вообще не приспособлены. Они или всплывают, или затрудняют теплообмен, или не соответствуют по

габаритам размерам емкости. Установка штативов в бане на нужном уровне превращается в трудно разрешимую проблему. Отрадно, что всех этих проблем можно избежать благодаря использованию штативов, специально разработанных для бани.

В баню емкостью 18 литров (Jouan J18) можно поставить одновременно три штатива, в каждом из которых помещается до 80 пробирок. Этого количества более чем достаточно для постановки любых опытов.

В заключении надо отметить, что компания Jouan имеет свое представительство в России и оказывает пользователям разнообразную техническую и сервисную поддержку.

Бани Jouan внесены в реестр медицинской техники.

---

Технические характеристики водяных бань JOUAN J12 J18 (объем 12л и 18 л)

---

Градуировка регулятора	2° С
Однородность температуры при 37°С	±0,3° С
Стабильность температуры 37°С	±0,5° С
Диапазон задаваемой температуры	от 10° С до 95° С
Температура воздуха в помещении	от 5° С до 40° С
Максимальная влажность воздуха в помещении	80%.
Потребляемая мощность JOUAN J12, J 18	1200 Вт
Электрическое питание	230 В, 50 Гц

---

## КОМПАНИИ-ПРОИЗВОДИТЕЛИ ЛАЛ-РЕАКТИВА.

В первом номере нашего бюллетеня мы привели краткий обзор компаний-производителей ЛАЛ-реактива. В этом номере мы продолжаем эту тему и представляем компанию Наемасчет, с которой работают наши коллеги на Украине. Мы думаем, что нашим читателям будет интересна информация об этой компании и предлагаем статью Попович Галины Михайловны - директора компании ООО "Инновафарм", представителя компании Наемасчет на Украине.



### НАЕМАШЕМ *DIVISION OF WAKO CHEMICALS USA, INC.*

Попович Г. М.  
Директор ООО "Инновафарм", Киев.

**К**омпания Наемасчет Inc., США была основана в 1974 году. В перечень продукции фирмы для проведения гель-тромб теста входят ЛАЛ-реактив под торговой маркой **Limusate** и антагонист гепарина **Hepant**. Компания Наемасчет Inc. была первым производителем, использующим технологию экстракции хлороформом при производстве ЛАЛ-реактива. В 2002 году компания вошла в состав Wako Chemicals USA.

Имеет лицензию FDA на производство ЛАЛ-реактивов №852. Продукция компании реализуется в США, Западной Европе, Азии и Латинской Америке. В 2001 году реактив **Limusate** начал поставляться на Украину. В настоящее время **Limusate** используется большинством Украинских фармацевтических предприятий.

Сайт в Интернете: [www.wakousa.com](http://www.wakousa.com).

В странах СНГ компанию представляет фирма ООО «Инновафарм» (Киев).

E-mail: [innovapharm@svitonline.com](mailto:innovapharm@svitonline.com)

---

## НОВОСТИ

Программа семинаров на 2 квартал 2004 года:

Практические занятия по программе: **«Контроль качества инъекционных лекарственных средств по показателю «Бактериальные эндотоксины» с помощью ЛАЛ-теста»**. Занятия проводятся Учебным центром Государственного Научного Центра по Антибиотикам при участии специалистов ООО «ЛАЛ-Центр».

### **Апрель**

**14.04.04 - 15.04.04** «Бактериальные эндотоксины. Проведение контрольных анализов в соответствии с требованиями ОФС 42-0002-00».

**21.04.04 - 22.04.04** «Введение раздела «Бактериальные эндотоксины» в Фармакопейную статью предприятия. Валидация метода».

## Май

**12.05.04 – 13.05.04** «Бактериальные эндотоксины. Проведение контрольных анализов в соответствии с требованиями ОФС 42-0002-00».

**19.05.04 – 20.05.04** «Введение раздела «Бактериальные эндотоксины» в Фармакопейную статью предприятия. Валидация метода».

## Июнь

**16.06.04 – 17.06.04** «Бактериальные эндотоксины. Проведение контрольных анализов в соответствии с требованиями ОФС 42-0002-00».

**23.06.04 – 24.06.04** «Введение раздела «Бактериальные эндотоксины» в Фармакопейную статью предприятия. Валидация метода».

Заявки на участие в семинарах можно отправлять в **Учебный центр Государственного Научного Центра по Антибиотикам:**

Тел./факс: (095) 111-50-08.

E-mail: [mailto:gmp2002@mail.ru](mailto:mailto:gmp2002@mail.ru)

или в **ООО «ЛАЛ-Центр»:**

Тел.: (095) 517-40-37, тел./факс: (095) 265-32-54

E-mail: [LALNews@Limulustest.ru](mailto:LALNews@Limulustest.ru)

**«ЛАЛ-тест» - периодический бюллетень для специалистов, работающих в области фармации, медицины и биологии.**

Бюллетень зарегистрирован в Министерстве РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации № 77-16115 от 11.08.03 г.

Главный редактор: Ситников А.Г.  
Редакционная коллегия:  
Неугодова Н.П.  
Долгова Г.В.  
Чиркова М.Н.

Информация, справки и вопросы:  
Тел.: (095) 517-40-37  
Тел./факс: (095) 265-32-54  
E-mail: [LALNews@Limulustest.ru](mailto:LALNews@Limulustest.ru)

Подписка  
Бюллетень «ЛАЛ-тест» выходит с периодичностью 4 раза в год. Бюллетень распространяется бесплатно. Номера высылаются подписчикам по почте. Для оформления подписки необходимо оформить заявку с указанием названия организации, почтового адреса, фамилии и должности подписчика. Просим отправлять заявки по почте: 117525, г. Москва, а/я 20, ООО «ЛАЛ-Центр».  
Сообщить по телефону:  
**Тел.: (095) 517-40-37**  
**Факс: (095) 265-32-54**  
или отправить заявку по электронной почте:  
**E.mail: [LALNews@Limulustest.ru](mailto:LALNews@Limulustest.ru)**

Подписано к печати: 29.03.2004 г.  
Формат: А4; Бумага: \_\_\_\_\_; Печать: Офсет; Объем: 12 стр.; Тираж: 300 экземпляров.  
Типография: \_\_\_\_\_, Москва.