

Испытательная лаборатория ООО «НПО «ЛАЛ-Центр»



Описание работ лаборатории

Москва. Нагатинская ул., д. 3 А
+7 925 -517-40-37
www.limulustest.ru



Содержание

1	Научно-исследовательская лаборатория ООО «НПО «ЛАЛ-Центр».	1
2	Работы, выполняемые лабораторией	2
2.1	Испытания по показателю «Бактериальные эндотоксины» в соответствии с требованиями НД	2
2.2	Качественный анализ бактериальных эндотоксинов в образце	3
2.3	Количественный анализ бактериальных эндотоксинов в образце	5
2.4	Отработка методики подготовки образца для определения бактериальных эндотоксинов	6
2.5	Разработка раздела «Бактериальные эндотоксины» для лекарственного средства, валидация анализа	9
2.6	Валидация анализа «Бактериальные эндотоксины» для лекарственного средства	11
2.7	Разработка стандартной операционной процедуры анализа «Бактериальные эндотоксины»	13
2.8	Качественный анализ бактериальных эндотоксинов в медицинском изделии	14
2.9	Отработка методики подготовки медицинского изделия для определения бактериальных эндотоксинов	15
2.10	Готовые СОПы	17

1. Научно-исследовательская лаборатория ООО «НПО «ЛАЛ-Центр».



Лаборатория ООО «НПО «ЛАЛ-Центр» с 2002 года проводит полный цикл научно-исследовательских работ по определению бактериальных эндотоксинов, включая разработку методик проверки по показателю «Бактериальные эндотоксины» для лекарственных препаратов, медицинских изделий (изделий медицинского назначения) и вспомогательных материалов, проверка которых требует сложной и тщательно отвалидированной пробоподготовки.

Лаборатория оснащена всем необходимым современным оборудованием, позволяющим проводить испытание любым фармакопейным методом. Персонал лаборатории имеет достаточную квалификацию для выполнения испытания и проходит периодическую аттестацию по обучению.

Испытательная лаборатория в 2014 году получила аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ЛК53 от 02.07.2014 с заявленной областью аккредитации (проверка по показателю «Бактериальные эндотоксины» лекарственных препаратов, субстанций и медицинских изделий).

Испытания проводятся в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи ОФС «Бактериальные эндотоксины» основными фармакопейными методами: гель-тромб тестом, кинетическими турбидиметрическим и хромогенным методами.



2. Работы, выполняемые лабораторией

2.1. Испытание по показателю «Бактериальные эндотоксины» в соответствии с требованиями НД

Описание работы

Испытательная лаборатория ООО «НПО «ЛАЛ-Центр» (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ЛК53 от 02.07.2014) проводит испытания по показателю «Бактериальные



эндотоксины» лекарственных препаратов, субстанций и медицинских изделий.

Лаборатория в течение пяти рабочих дней предоставляет данные Протоколов испытаний (включая выводы о соответствии/несоответствии требованиям НД) в Федеральную службу по аккредитации при помощи электронного компонента ФГИС Росаккредитации.

Способы проведения определения.

Испытание по показателю «Бактериальные эндотоксины» проводится в соответствии с областью аккредитации на основании требований, указанных в НД и согласно ОФС «Бактериальные эндотоксины».

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Для проведения испытания по показателю «Бактериальные эндотоксины» Заказчик предоставляет нормативный документ, в котором указана норма содержания бактериальных эндотоксинов на образец.

Проведение испытаний.

Испытание проводится в максимально допустимом разведении (МДР), которое рассчитывается по формуле, приведенной в ОФС.

Результаты анализа и выводы могут быть следующими:

- **Более или равно** установленной норме, т.е. **не соответствует** требованиям НД;

- **Менее** установленной нормы, т.е. **соответствует** требованиям НД.

Формы представления результатов.

Срок исполнения испытаний - в течение 5 (пяти) рабочих дней, не считая дня приемки образцов.

Результаты работы предоставляются Заказчику в виде Протоколов испытаний.

2.2. Качественный анализ бактериальных эндотоксинов в образце

Описание работы.

Качественный анализ — это наиболее простой и быстрый способ проверки испытуемого образца. Это анализ позволяет определить содержатся ли эндотоксины в испытуемом образце в количествах больших или меньших установленного уровня.



Настоящий анализ является научно-исследовательской работой.

Способы проведения определения.

Качественное определение эндотоксинов в образце проводится в соответствии с действующей ОФС «Бактериальные эндотоксины» Государственной Фармакопеи, методами А, С или D.

Выбор метода качественной оценки содержания бактериальных эндотоксинов для каждого представленного на проверку образца является прерогативой Лаборатории ООО «НПО «ЛАЛ-Центр».

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Для проведения качественного испытания по показателю «Бактериальные эндотоксины» Заказчик должен информировать Лабораторию о норме содержания бактериальных эндотоксинов в образце. Норма может быть взята из нормативного документа на образец (НД или ФСП) или определена Заказчиком самостоятельно.

Проведение испытаний.

Проведение испытаний Методом А. При проведении качественного гель-тромб теста анализ проводится в максимально допустимом разведении (МДР). Если в этом разведении получен плотный гель это означает, что содержание бактериальных эндотоксинов **более** установленной нормы. Отсутствие геля означает, что содержание бактериальных эндотоксинов **менее** установленной нормы.

Проведение испытания Методами С и D. В случае использования фотометрических методов анализа образец может быть проверен в любом разведении, включая и МДР.

Формы представления результатов.

Официальным результатом для Заказчика, отраженном в Протоколе испытаний, всегда будет заключение в виде: *«содержание бактериальных эндотоксинов более или менее установленной нормы»*, вне зависимости от выбранного метода проведения испытаний. Если анализ будет проведен фотометрическими методами, по желанию заказчика ему могут быть предоставлены первичные протоколы, полученные в программе EndoScan-V.

По окончании испытаний Заказчику предоставляются Протоколы испытаний.

2.3. Количественный анализ бактериальных эндотоксинов в образце

Описание работы.

Количественное определение содержания бактериальных эндотоксинов может проводиться как для готовых лекарственных форм, так и для субстанций, вспомогательных веществ, воды для инъекций и пр. Это хороший способ отработки технологии производства, инструмент



внутрипроизводственного контроля, который позволяет вводить промежуточные (технологические) нормы на разных стадиях производства ЛС.

Настоящий анализ является научно-исследовательской работой.

Способы проведения определения.

Количественное определение эндотоксинов в образце проводится в соответствии с действующей ОФС «Бактериальные эндотоксины» Государственной Фармакопеи методами В, С или D.

Выбор метода количественной оценки содержания бактериальных эндотоксинов для каждого представленного на проверку образца является прерогативой Лаборатории ООО «НПО «ЛАЛ-Центр».

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Для проведения количественного определения эндотоксинов в образце Заказчик должен информировать Лабораторию о норме содержания бактериальных эндотоксинов в образце. Норма может быть взята из нормативного документа на образец (НД или ФСП) или определена заказчиком самостоятельно.

Проведение испытаний.

Для количественной оценки содержания эндотоксина наиболее предпочтительно проведение анализов Методами С или D.

Для определения содержания бактериальных эндотоксинов строится калибровочная кривая с разными концентрациями эндотоксина. Если содержание бактериальных эндотоксинов находится в измеряемом калибровочной кривой диапазоне, содержание будет определено и выражено в ЕЭ/мл (ЕЭ/мг).

В определенных случаях результаты количественного определения могут быть качественными. Так если реальное содержание бактериальных эндотоксинов в образце очень низкое, то оно не будет определено и в Протоколе испытаний будет указано, что оно ниже предела определения.

Формы представления результатов.

По окончании испытаний Заказчику предоставляются Протоколы испытаний.

2.4. Отработка методики подготовки образца для определения бактериальных эндотоксинов

Описание работы.

Многолетняя практика использования ЛАЛ-теста свидетельствует о том, что практически любой препарат может быть проверен с его помощью. ЛАЛ-реактив позволяет определить концентрацию эндотоксина в водном растворе, однако не все препараты могут быть переведены в водный раствор, это может быть актуально для:



- Порошков (субстанций) нерастворимых в воде,
- Масляных растворов;
- Липосомальных препаратов;
- Образцов, разведение которых проводится специальным растворителем;
- Растворов, имеющих рН сильно смещенный от интервала 6,0 – 8,0;
- Образцов, содержащих в составе β -D-глюканы, или гликаноподобные вещества.

Для таких образцов проведение анализа содержания бактериальных эндотоксинов невозможно без отработки методики пробоподготовки.

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Целью данной работы не является определение содержания эндотоксинов в образце, однако построить правильную схему пробоподготовки можно только с учетом той нормы содержания БЭ, которая установлена для препарата, или для той, которая интересует заказчика. Поэтому, Заказчик должен указать, какая норма содержания бактериальных эндотоксинов считается приемлемой для данного образца.

Отработка методики пробоподготовки.

Данная работа, в зависимости от свойств образца может состоять из нескольких этапов:



I. Если для растворения или разведения препарата требуется специальный растворитель, то первая часть работы посвящена тому специфическому растворителю, который требуется для подготовки препарата к испытанию. На этом этапе необходимо выяснить следующие вопросы:

- Как растворитель влияет на ход реакции ЛАЛ-реактива и эндотоксина.
- Как растворитель влияет на эндотоксины.
- Необходимо также убедиться в том, что растворитель не содержит эндотоксинов.

II. Если в ходе первичного анализа свойств испытуемого препарата понятно, что никаких специальных растворителей для его подготовки не требуется, но при этом необходимо получить водный раствор для труднорастворимого препарата, работа начинается с подбора способов специальной обработки испытуемого образца.

- Гели, вязкие растворы, труднорастворимые в воде препараты – отработывается процедура растворения (нагревание, перемешивание, УЗ-обработка).
- Масляные растворы – отработывается процедура экстракции эндотоксинов из масла в водную фазу.

III. На заключительном этапе работы выясняется, какая минимальная концентрация эндотоксина может быть зарегистрирована в испытуемом препарате после его подготовки к анализу.

Формы представления результатов.

По окончании работы Заказчик получает:

- Описание способа пробоподготовки испытуемого образца.
- Протоколы испытаний.

2.5. Разработка раздела «Бактериальные эндотоксины» для лекарственного средства, валидация анализа

Описание работы.

Лаборатория выполняет работы по введению раздела «Бактериальные эндотоксины» в фармакопейную статью предприятия или нормативный документ на лекарственное средство. Данная работа проводится на стадии разработки нормативной документации или на стадии ее пересмотра. Работа может быть проведена любым официально утвержденным фармакопейным методом по желанию Заказчика.



Проведение работы.

Разработка раздела «Бактериальные эндотоксины» для НД состоит из следующих этапов:

I. Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов, который делается по формуле, приведенной в ОФС «Бактериальные эндотоксины», и на основании всей доступной информации о лекарственном средстве (НД/проект НД, спецификация, инструкция и др.).

Предлагаемая норма предельного содержания бактериальных эндотоксинов согласуется с Заказчиком.

II. Проведение предварительных анализов на отсутствие ингибирования/усиления реакции со стороны ЛС, измерение профиля pH, количественная оценка содержания БЭ.

На данном этапе работы становится понятно, нужна ли специальная пробоподготовка препарата (выбор растворителя, коррекция рН с помощью буферных растворов, нагревание и т.д.).

III. Проведение анализа «Мешающие факторы» по ОФС «Бактериальные эндотоксины». Этот анализ является валидацией метода для лекарственного средства и проводится на трех представленных сериях испытуемого препарата.

IV. Отработка методики проведения испытания на содержание БЭ (качественная оценка содержания БЭ). Описание правил проведения анализа в виде стандартной операционной процедуры (СОП).

Формы представления результатов.

По окончании работы Заказчик получает:

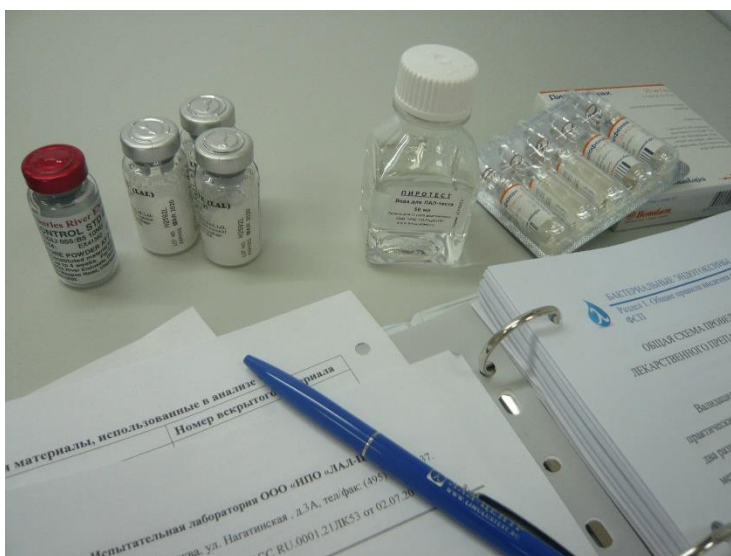
- Отчет с обоснованием выбора предельного содержания бактериальных эндотоксинов.
- Протокол валидации.
- Стандартную операционную процедуру (проект) проведения испытания.
- Протоколы испытаний.

2.6. Валидация анализа «Бактериальные эндотоксины» для лекарственного средства

Описание работы.

Валидация и ревалидация метода проводится для препаратов, для которых раздел «Бактериальные эндотоксины» включен или будет включен в НД. Работа может быть проведена любым официально утвержденным фармакопейным методом по желанию заказчика.

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.



Для проведения валидации Заказчик должен информировать Лабораторию о норме содержания бактериальных эндотоксинов в препарате. Норма может быть указана в утвержденном нормативном документе (НД или ФСП). Если НД находится в процессе разработки и утверждения, следует указать то значение содержания эндотоксинов, которое планируется для введения в НД.

Проведение работы.

Валидация метода состоит из следующих этапов:

I. Проведение предварительных анализов на отсутствие ингибирования/усиления реакции со стороны испытуемого препарата.

Выбор степени разведения испытуемого препарата для проведения анализа «Мешающие факторы» согласуется с Заказчиком.

II. Проведение анализа «Мешающие факторы» по ОФС «Бактериальные эндотоксины».

Этот анализ проводится на трех представленных сериях испытуемого препарата и является демонстрацией возможности применения метода для контроля качества лекарственного средства.

Формы представления результатов.

По завершении работ Заказчику предоставляется:

- Протокол валидации.
- Стандартная операционная процедура проведения испытания.
- Протоколы испытаний.

2.7. Разработка стандартной операционной процедуры анализа «Бактериальные эндотоксины»

Описание работы.

Стандартная операционная процедура проведения испытания – документ, в котором подробно разобраны правила обращения с реактивами и материалами, правила и пошаговая схема подготовки разведений испытуемого препарата (пробоподготовка), приведено пошаговое описание техники постановки опыта, правила учета и интерпретации его результатов.



Данная работа может быть проведена на стадии разработки нормативной документации, на стадии пересмотра правил проверки или при переходе на другой метод анализа.

СОП может быть разработан на проведение анализа любым методом проведения анализа по выбору Заказчика.

Проведение работы.

Работа по подготовке СОП включает в себя предварительный скрининг образца для определения неингибирующей концентрации лекарственного препарата. Одновременно делается оценка содержания эндотоксинов в проверенных сериях и выясняется возможность использования их в дальнейшей работе.

На основании этих данных выбирается разведение, в котором будет проводиться рутинный анализ, описанный в СОП. Выбранное значение согласуется с Заказчиком.

Далее отрабатывается методика проведения испытания по ОФС «Бактериальные эндотоксины». Предлагается наиболее оптимальная и экономичная схема пробоподготовки (разведения) испытуемого образца, дается подробное пошаговое описание последовательности подготовки и проведения анализа.

Формы представления результатов.

По завершении работ Заказчику предоставляется:

- Стандартная операционная процедура проведения испытания.
- Протоколы испытаний.

2.8. Качественный анализ бактериальных эндотоксинов в медицинском изделии

Описание работы.

К стерильным медицинским изделиям (МИ) могут предъявляться требования по апиrogenности/отсутствию внутри и на их поверхности бактериальных эндотоксинов (ГОСТ Р 52770-2016 *Изделия медицинские. Требования безопасности. Методы санитарно-химических и токсикологических испытаний*).

Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Для проведения испытания МИ по показателю «Бактериальные эндотоксины» Заказчик предоставляет норму содержания бактериальных эндотоксинов на изделие и утвержденную методику определения содержания бактериальных эндотоксинов для изделия.

Проведение работы.

Первый этап – подготовка исходного раствора (смыва с изделия). В качестве растворителя, как правило используется вода БЭТ. В методике, также должны быть указаны: объем воды, необходимый для подготовки смыва с изделия, и/или количество одновременно обрабатываемых изделий, температура и время экстракции.

Второй этап – анализ полученного смыва с изделия (испытуемого раствора) по показателю «Бактериальные эндотоксины» любым методом, или рекомендованным методикой проверки, согласно действующей ОФС «Бактериальные эндотоксины».



В методике проверки изделия медицинского назначения после указаний по подготовке смыва с образца может быть указан любой метод по ОФС «Бактериальные эндотоксины», и именно указанным методом и будет проведен анализ. *Однако в отсутствии прямого указания метода Лаборатория вправе самостоятельно выбрать метод проведения анализа.*

Чаще всего анализ удобнее проводить кинетическим турбидиметрическим методом – Метод С. Этот метод позволяет оценить количественное содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом растворе (в ЕЭ/мл), а затем, если необходимо, выполнить пересчет в единицах эндотоксинов на изделие.

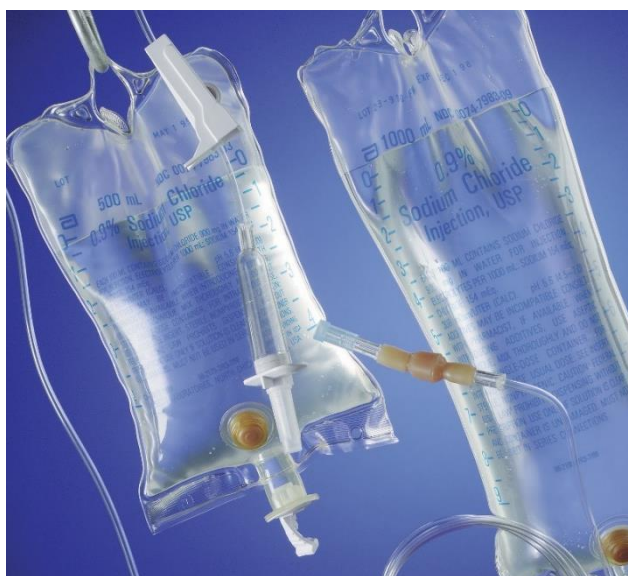
Формы представления результатов.

По окончании испытаний Заказчик получает Протоколы испытаний.

2.9. Отработка методики подготовки медицинского изделия для определения бактериальных эндотоксинов

Описание работы.

Возможно проведение проверки медицинских изделий, для которых еще нет утвержденной методики проведения анализа «Бактериальные эндотоксины». В этом случае Заказчик должен информировать Лабораторию о назначении изделия и сообщить какое содержание эндотоксинов может быть приемлемым для изделия.



Норма содержания бактериальных эндотоксинов в образце.

Для медицинских изделий предельное содержание определяется способом введения и регламентируется следующими документами: ANSI/AAMI ST72:2011, USP <161>, USP <85>, EP 2.6.14.

Для готовых медицинских изделий предельное содержание составляет не более чем 20 ЕЭ/изделие. Для медицинских изделий, контактирующих с цереброспинальной жидкостью,

предельное содержание составляет не более чем 2,15 ЕЭ/изделие. Для интраокулярных офтальмологических изделий предельное содержание составляет не более чем 0,2 ЕЭ/изделие.

Опираясь на принятые нормативы, и зная назначение изделия, можно рассчитать допустимую норму содержания эндотоксинов на изделие. После согласования расчетной нормы с Заказчиком Лаборатория переходит к проведению испытаний.

Проведение работы.

Первый этап проверки – подготовка исходного раствора (смыва с изделия). Для получения смыва необходимо рассчитать объем воды для БЭТ. В методику пробоподготовки часто может включаться одно или несколько физико-химических воздействий на изделие, например, настаивание, ультразвуковое воздействие и/или нагревание, охлаждение, центрифугирование, сепарирование, фильтрование и т.п.

Также должен быть решен вопрос о количестве изделий, используемых при разовой экстракции, поскольку мелкие изделия (резиновые пробки) обрабатываются группами по нескольким десяткам штук на один объем воды БЭТ.

Второй этап проверки – анализ полученного смыва с изделия (испытуемого раствора) по показателю «Бактериальные эндотоксины» любым методом, согласно действующей ОФС «Бактериальные эндотоксины».

Приоритетным методом проведения испытания является кинетический турбидиметрический метод – Метод С. Этот метод позволяет оценить количественное содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом растворе (в ЕЭ/мл), а затем, если необходимо, выполнить пересчет в единицах эндотоксинов на изделие. *Выбор метода в данном исследовании является прерогативой Лаборатории.*

Формы представления результатов.

По окончании испытаний Заказчик получает:

- Описание методики подготовки смыва с МИ;
- Протоколы испытаний.

2.10. Готовые СОПы

В каждой лаборатории существует большое количество многократно повторяющихся действий. Все эти действия должны быть детально описаны и оформлены в виде СОПов (Стандартных Операционных Процедур). Мы предлагаем готовые СОПы, описывающие основные стандартные процедуры в лаборатории, проводящей определение бактериальных эндотоксинов.

СОП «Порядок оформления результатов испытаний»

Многие лаборатории, начинающие работать с ЛАЛ-тестом, сталкиваются с вопросом оформления результатов испытаний. В данной СОП приводятся требования к форме протоколов испытаний, описывается порядок их заполнения и хранения, а также предлагается готовая форма протокола.

Содержание:

1. Общий порядок действий по формированию и утверждению Протокола испытаний.
2. Требования к форме Протокола испытаний
3. Порядок заполнения Протокола испытаний
4. Порядок хранения Протокола испытаний

Приложения:

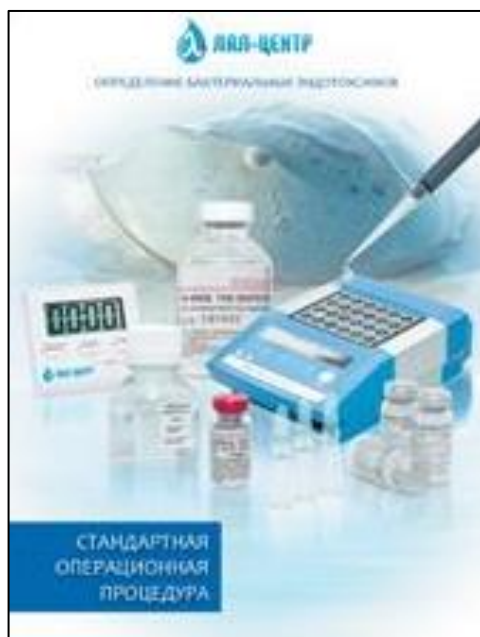
Форма – Протокол испытаний

Пример заполнения Протокола испытаний

Объем 16 страниц.

СОП «Реактивы и материалы, используемые при проведении ЛАЛ-теста. Правила обращения, сроки годности, журналы учета»

В СОПе подробно изложены правила хранения реактивов и вспомогательных материалов, используемых в лаборатории. Описываются принципы хранения вскрытых реактивов и материалов и контроль за истечением сроков их годности. Приводятся формы журналов для учета поступивших в лабораторию материалов и контроля сроков хранения вскрытых материалов.



Содержание:

1. Общие требования, предъявляемые к реактивам и материалам
2. Сроки годности и условия хранения реактивов и материалов, поступивших в ИЛ
3. Журнал учета реактивов и вспомогательных материалов, поступивших в ИЛ
4. Стабильность и сохранение заявленных характеристик реактивов и материалов после вскрытия
5. Условия хранения материалов после вскрытия
6. Маркировка вскрытых реактивов и материалов
7. Журнал учета сроков годности вскрытых реактивов и вспомогательных материалов
8. ЛАЛ-реактив
9. Контрольный стандарт эндотоксина, КСЭ
10. Вода для ЛАЛ-теста
11. Буферные растворы
12. Пробирки для проведения анализа 10x75 мм
13. Пробирки для приготовления разведений 13x100 мм
14. Микропланшеты
15. Наконечники к дозаторам

Приложения:

Форма - «Журнал учета реактивов и вспомогательных материалов, поступивших в ИЛ».

Форма - Этикетка срока годности вскрытой упаковки реактивов и материалов.

Форма - «Журнал учета сроков годности вскрытых реактивов и вспомогательных материалов».

Условия хранения реактивов и материалы, указанные производителем.

Объем 30 страниц.

СОП «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива Endosafe»

Пошаговое описание процедуры предварительного анализа «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива» в соответствии с требованиями ОФС.1.2.4.0006.15 «Бактериальные эндотоксины» ГФ РФ. СОП универсальный и может быть использован для проверки ЛАЛ-реактива Endosafe и Endosafe КТА любой чувствительности.

Содержание:

1. Разведение лиофилизированного контрольного стандарта эндотоксина
2. Подготовка серии разведений контрольного стандарта эндотоксина
3. Подготовка водяной бани или термоблока для проведения инкубирования

4. Разведение лиофилизированного ЛАЛ-реактива
5. Подготовка реакционных смесей
6. Инкубирование реакционных смесей
7. Оценка и интерпретация результатов

Приложения:

Пример заполненного Протокола испытаний

Объем 26 страниц.

В комплект поставки входит печатный вариант СОПа и электронная копия на диске, в которую заказчик может вносить свои внутренние данные в соответствии с принятой на производстве системой индексирования и оформления документов.