

19 декабря 2022 г.

Проверка на содержание бактериальных эндотоксинов медицинских изделий большого размера.



В настоящее время в проверке медицинских изделий (МИ), контактирующих с кровью, лимфатической жидкостью или имплантируемых в ткани человека, все больше и больше место занимает анализ «Бактериальные эндотоксины». В отечественной нормативной литературе тема проверки медицинских изделий пока представлена слабо. Из зарубежных нормативных документов, сегодня наибольший интерес представляет статья из Американской фармакопеи USP <161> Medical Devices—Bacterial Endotoxin and Pyrogen Tests. Новая, пересмотренная и измененная редакция которой была введена в действие с 1 августа 2015 года. Статья небольшая всего несколько страниц, но очень информативная. Используя правила и

положения статьи, можно выстроить оптимальную схему проверки самых разных изделий. Также полезно помнить о том, что правила и методики, приведенные в фармакопейной статье, считаются валидированными и могут быть повторены без привлечения собственной доказательной базы.

В рассматриваемом примере перед нами была поставлена задача провести проверку на содержание бактериальных эндотоксинов эндопротеза тазобедренного сустава. Изделие крупное, металлическое, состоящее из нескольких компонентов.



Норма содержания бактериальных эндотоксинов стандартная – не более 20 ЕЭ/изделие.

Для проведения проверки надо:

- Рассчитать объем воды, потребный для приготовления смыва;
- Провести экстракцию изделия водой (подготовить смыв);
- Провести проверку смыва на содержание бактериальных эндотоксинов.

1. Расчет объема воды для смыва.

Само изделие состоит из нескольких компонентов - головки, ножки эндопротеза, вкладыша. Эти компоненты рассматриваются как составные части изделия и норма 20 ЕЭ/изделие - это суммарная норма для всех компонентов. Наиболее крупный фрагмент – ножка и понятно, что для приготовления смыва с нее будет необходим значительный объем воды.

Для расчета объема воды для смыва можно обратиться к нормам, указанным в статье <161> Medical Devices—Bacterial Endotoxin and Pyrogen Tests:

Предел эндотоксина для экстракта с изделия в единицах эндотоксина/мл рассчитывается как:

$$\text{Результат} = (K \times N)/V$$

Где:

K = предельное содержание эндотоксина, в ЕЭ на изделие

N = количество протестированных изделий

V = общий объем экстракта

Объем воды явно должен быть большим, соответственно допустимая концентрация в смыве будет низкой. В качестве метода проверки сразу был выбран фотометрический анализ с пределом определения 0,005 ЕЭ/мл.

Трансформированная формула, в которой содержание в смыве (предел обнаружения) известен, выглядит следующим образом:

$$0,005 \text{ ЕЭ/мл} = \frac{20 \text{ ЕЭ/изделие} \times 1 \text{ изделие}}{X \text{ мл}}$$

Объем смыва будет равен

$$X = \frac{20 \text{ ЕЭ/изделие}}{0,005 \text{ ЕЭ/мл}} = 4000 \text{ мл}$$

2. Подготовка смыва.

Правила подготовки смывов также приведены в статье Medical Devices—Bacterial Endotoxin and Pyrogen Tests:

Для подготовки смывов используют воду для ЛАЛ-теста, подогретую до 37°C. Время экстракции составляет один час. Постоянное в течение всего часа поддержание температуры 37°C не требуется. Перемешивание достаточно проводить в начале и в конце экстрагирования.

Правила простые, легко выполнимые, а так как они включены в фармакопейную статью, то они считаются валидированными.

Для подготовки смыва сначала надо депирогенизировать при 250°C стеклянную посуду (объем стакана 10 л), подготовить воду для ЛАЛ-теста в объеме 4 л (содержание бактериальных эндотоксинов менее 0,005 ЕЭ/мл). После этого переходить к приготовлению экстракта и его последующей проверке.

Проверенную воду для смыва (4000 мл) нагрели до 37°C, разделили на несколько емкостей, в которых готовили смывы с отдельных компонентов эндопротеза. В начале и в конце экстракции перемешали содержимое стаканов.



По окончании экстракции смывы объединили и еще раз перемешали. Общий объем составил 4000 мл.

3. Проверка смыва на содержание бактериальных эндотоксинов.

Проверку проводили по ОФС «Бактериальные эндотоксины». Объединенный смыв проверяли сразу после его подготовки. Проверку проводили кинетическим турбидиметрическим методом, предел определения был равен 0,005 ЕЭ/мл. Содержание эндотоксинов в смыве оказалось ниже 0,005 ЕЭ/мл. В пересчете на изделие – менее 20 ЕЭ/изделие.

Заключение.

Проверка изделий медицинского назначения на содержание бактериальных эндотоксинов во многом повторяет правила проверки лекарственных препаратов. Норматив для большинства изделий – не более 20 ЕЭ/изделие. Основное отличие – проверке подвергаются смывы или экстракты с изделий. Объем смыва и количество изделий, используемых для приготовления смыва могут быть самими разными, соответственно допустимое содержание эндотоксинов в смыве - величина переменная. В приведенном примере проверялось одно крупное изделие, состоящее из нескольких частей. Для проверки требовался большой объем воды. Поэтому сразу был выбран метод с чувствительностью 0,005

ЕЭ/мл и под него уже рассчитывался объем воды для смыва. Зная чувствительность метода можно рассчитать объем смыва в котором 20 ЕЭ/изделие дадут концентрацию эндотоксина 0,005 ЕЭ/мл.

Расчетное значение объема получилось равным 4000 мл воды для ЛАЛ-теста. Кстати, это практически максимально возможный объем воды для проведения экстракции медицинских изделий, который может быть использован при их проверке фотометрическими методами с максимальной чувствительностью равной 0,005 ЕЭ/мл. Если же проверка МИ делается с помощью гель-тромб теста со стандартной чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл, то максимальный объем воды для проведения экстракции составит всего 640 мл ($20 \text{ ЕЭ/изделие} \div 0,03125 \text{ ЕЭ/мл} = 640 \text{ мл/изделие}$).