

ИНДИКАТОРЫ ЭНДОТОКСИНА ДЛЯ ДЕПИРОГЕНИЗАЦИИ, ФЛАКОНЫ

КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР

ECV2500A, ECV2500V

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Индикаторы эндотоксина (ИЭ) используются для валидации циклов сухожаровой депилогенизации. Способность каждого цикла депилогенизации к разрушению/инактивации эндотоксинов измеряют путем сравнения уровня содержания эндотоксинов в обработанных флаконах с уровнем содержания эндотоксинов в необработанных (контрольных) флаконах. В Фармакопее США указано, что для валидации процесса депилогенизации следует продемонстрировать снижение содержания эндотоксинов в индикаторах, прошедших депилогенизацию, как минимум в 1000 раз (снижение $>3 \log$ за цикл депилогенизации). ИЭ могут использоваться при гель-тромб анализе с использованием лизата амебоцитов, при кинетическом турбидиметрическом анализе с использованием лизата амебоцитов, при кинетическом хромогенном анализе с использованием лизата амебоцитов или при хромогенном анализе по конечной точке.

РЕАКТИВ

Индикатор эндотоксина (ИЭ) для валидации процедуры депилогенизации, который содержит ≥ 2500 ЕЭ очищенного эндотоксина, полученного из штамма *E. coli* O111:B4.

ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ: Хранить флаконы с неповрежденными крышками и пробками при температуре от 2 до 8 °C.

ПРИМЕЧАНИЕ.

Флаконы ИЭ могут выглядеть пустыми, так как в каждом флаконе содержится очень небольшое количество эндотоксинов. Так и должно быть.

ВНИМАНИЕ!

Продукт содержит пирогенную дозу эндотоксинов.

Индикатор эндотоксина предназначен только для использования в условиях *in vitro*. Применение на людях или животных запрещено.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА

Примечание: этикетки на флаконах ИЭ устойчивы к высоким температурам и не нуждаются в удалении перед депилогенизацией. Для ИЭ, запечатанных во флаконы, применяются герметичные колпачки и пробки, которые также являются устойчивы к высоким температурам и не нуждаются в удалении перед депилогенизацией. При применении ИЭ, запечатанных в ампулах, открывать флакон не требуется.

Помещают соответствующее количество флаконов ИЭ в сухожаровой шкаф в заранее определенные области, наименее доступные для воздействия жара.

Обработывают ИЭ в соответствии с выбранными параметрами цикла депилогенизации.

После окончания цикла извлекают флаконы для определения содержания эндотоксинов. Для ECV2500A, которые запечатаны в ампулах, необходимо открыть флаконы. Разводят содержимое каждого обработанного флакона ИЭ и соответствующее количество необработанных флаконов ИЭ путем добавления 1,0 мл воды для БЭТ.

Перемешивают на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 15 минут. Готовят соответствующие разведения из необработанных образцов, используя воду для БЭТ (см. **ПЕРИОД ИСПЫТАНИЯ И РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**) . Немедленно проводят анализ с использованием гель-тромб метода, кинетического турбидиметрического метода, кинетического хромогенного метода или проводят хромогенный анализ по конечной точке.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ И ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гель-тромб тест (на концентрацию эндотоксина)

Определяют концентрацию эндотоксина в необработанных контрольных флаконах ИЭ путем 5000-, 10000-, 20000-, 40000-кратного разбавления разведенного необработанного индикатора эндотоксина с использованием воды для испытания на бактериальные эндотоксины.

Не разбавляют содержимое обработанных флаконов ИЭ.

Выполняют количественный анализ разведенного содержимого необработанных флаконов ИЭ и обработанных флаконов ИЭ, используя ЛАЛ-реактив с чувствительностью лизата 0,25 ЕЭ/мл.

Концентрация эндотоксина в разведенном содержимом флаконов ИЭ может быть рассчитана следующим образом: Концентрация эндотоксина

= чувствительность лизата x объем воды для разведения (ЕЭ/флакон) x максимальное разведение положительного контроля (в качестве значения разведения используется знаменатель фракции разведения, например, для разведения 1/10000 знаменатель = 10000. Для неразведенных образцов разведение = 1).

Положительная реакция означает, что содержание эндотоксина выше, чем расчетное значение эндотоксина, или соответствует ему.

Отрицательная реакция означает, что содержание эндотоксина ниже расчетного значения эндотоксина.

Положительная реакция при разведении 1/10000 для необработанных контрольных флаконов означает, что изначальная концентрация эндотоксинов составляет 2500 ЕЭ/флакон или более.

Пример:

Концентрация эндотоксина = 0,25 ЕЭ/мл x 1 мл/флакон x 10000 = 2500 ЕЭ/флакон.

Отрицательная реакция для неразведенного содержимого обработанных флаконов означает, что конечная концентрация эндотоксина составляет менее 0,25 ЕЭ/флакон.

Степень снижения концентрации эндотоксина (lg)

= lg средней концентрации эндотоксинов в необработанных контрольных флаконах

- lg средняя концентрация эндотоксина в запеченных флаконах

Средняя концентрация эндотоксина в необожженных контрольных ECV равна или превышает 2500 ЕЭ / мл. Если эта концентрация в обработанных флаконах ИЭ составляет менее 0,25 ЕЭ/мл, то степень снижения концентрации эндотоксина составляет более 4. Если эта концентрация в обработанных флаконах ИЭ составляет 0,25 ЕЭ/мл или более, степень снижения концентрации эндотоксина составляет 4 или менее.

Примечание : Если минимальное требование к степени снижения концентрации эндотоксина составляет 3, то выполняют 10-кратное разведение содержимого обработанного флакона ИЭ.

Использование кинетического турбидиметрического, кинетического хромогенного анализа или анализа конечных точек хромогенных эндотоксинов

Выполняют разведение 1/10000 разведенного содержимого необработанного флакона индикатора эндотоксина с использованием воды для испытания на бактериальные эндотоксины.

Не следует разводить содержимое обработанных флаконов.

Концентрация эндотоксина в разведенном содержимом флакона ИЭ может быть рассчитана следующим образом: Концентрация эндотоксина (ЕЭ / флакон)

= концентрация эндотоксина в испытуемом образце (по стандартной кривой) x объем разведения x коэффициент разведения

(для неразведенных образцов коэффициент разведения = 1).

Если полученное для разведенного содержимого контрольного флакона ИЭ среднее значение соответствует диапазону значений стандартной кривой, то можно рассчитать соответствующую концентрацию эндотоксина. Расчет концентрации эндотоксина для ИЭ выполняют по приведенной выше формуле.

Пример:

Концентрация эндотоксинов

= 0,37 ЕЭ/мл (по стандартной кривой) x 1 мл/флакон x 10000

= 3700 ЕЭ/флакон.

Если полученное для неразведенного содержимого обработанного флакона ИЭ среднее значение соответствует диапазону значений стандартной кривой, то можно рассчитать концентрацию эндотоксина для этого образца. Расчет концентрации эндотоксина для обработанного флакона ИЭ производится по приведенной выше формуле.

Пример:

Концентрация эндотоксинов

= 0,21 ЕЭ/мл (по стандартной кривой) x 1 мл/флакон x 1

= 0,21 ЕЭ/флакон.

Степень снижения концентрации эндотоксинов в приведенном выше примере может быть рассчитана следующим образом:

Степень снижения концентрации эндотоксинов = $\log$ концентрации эндотоксинов в необработанном контрольном индикаторе – $\log$ концентрации эндотоксинов в обработанном индикаторе.

Логарифм снижения = $\log$ 3700 ЕЭ / флакон - $\log$ 0,21 ЕЭ / флакон

= 3.568 - (-0.678)

= 4.25

Если полученное для неразведенного содержимого обработанного флакона ИЭ среднее значение меньше среднего значения для наименьшего стандарта эндотоксина, то следует использовать значение наименьшего стандарта в качестве значения концентрации эндотоксинов в образце. Расчетная степень снижения концентрации эндотоксинов будет равна наименьшей степени снижения концентрации эндотоксинов.

Для ограничения степени снижения концентрации эндотоксина до 3 log необходимо выполнить количественный анализ с разбавлением 1/10 разведенного содержимого обработанного флакона-индикатора.