

## **ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕЛЬ-ТРОМБ ТЕСТА**

Одно из основных требований, предъявляемых к лекарственным средствам – безопасность. Одним из важнейших показателей безопасности лекарственных средств парентерального применения, обеспечивающий их надлежащее качество являются «бактериальные эндотоксины». Эндотоксины представляют собой бактериальные токсические вещества, которые являются структурными компонентами определённых бактерий и высвобождаются только при лизисе бактериальной клетки. Это ключевой момент, который отличает эндотоксины от экзотоксинов, которые секретирует живая бактериальная клетка в окружающую среду.

Валидация – процедура, дающая высокую степень уверенности в том, что конкретный процесс, метод или система будет последовательно приводить к результатам, отвечающим заранее установленным критериям приемлемости; в частности, валидация технологических процессов проводится с использованием образцов не менее трёх серий реального продукта с целью доказательства и предоставления документального свидетельства, что процесс (в пределах установленных параметров) обладает повторяемостью и приводит к ожидаемым результатам при производстве полупродукта или готового продукта требуемого качества; валидация аналитических методов состоит в определении: точности, воспроизводимости, чувствительности, устойчивости (межлабораторная воспроизводимость), линейности и других метрологических характеристик [1].

Гель-тромб тест самый простой и самый известный из всех методов, в точности повторяющий реакцию коагуляции мечехвоста *in vitro*. Для его проведения смешивают равные количества ЛАЛ-реактива и испытуемого препарата, затем реакционные смеси инкубируют 60 мин при температуре 37°C. Если в результате реакции получается твёрдый гель, то результат называется положительным и означает, что концентрация эндотоксина равна или более чувствительности ЛАЛ-реактива. Если гель не образуется, то результат отрицательный, и это означает, что концентрация эндотоксина менее чувствительности ЛАЛ-реактива [2]. Схема проведения эксперимента представлена в таблице 1.

**Таблица 1 – Схема проведения эксперимента**

Раствор	Исходный раствор	Растворитель	Фактор разведения	Конечная концентрация КСЭ в испытуемом растворе	Количество повторностей
С	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией КСЭ – 2λ	Вода для ЛАЛ-теста	1	2λ	4
			2	λ	4
			4	0,5λ	4
			8	0,25λ	4
D	Вода для ЛАЛ-теста	—	—	—	—

Анализ «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива» является универсальным средством проверки работоспособности тест-системы и может быть использован при решении валидационных задач разного уровня. Заявленная чувствительность ЛАЛ-реактива считается подтверждённой и используется в дальнейших расчётах в том случае, если полученное в эксперименте значение чувствительности ЛАЛ-реактива не менее 0,5λ и не более 2λ, результаты подтверждения чувствительности представлены в таблице 2.

**Таблица 2 – Результаты подтверждения чувствительности анализа**

A* \ B*	2λ	λ	0,5λ	0,25λ	K—
1	+	+	+	—	—
2	+	+	+	—	—
3	+	+	+	—	
4	+	+	+	—	

\*Примечание: А – концентрация контрольного стандарта эндотоксина;

В – номер повторности.

В ходе проведения испытаний была подтверждена заявленная чувствительность ЛАЛ-реактива, выявлены основные аспекты проведения исследуемого испытания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. ФАРМПРОМ. Валидация в фармацевтическом производстве [Электронный ресурс] – Отраслевой информационный портал – Режим доступа: <http://pharmprom.ru/glossary/validation/> – Дата доступа: 22.04.2024.

2. Ситников А.Г. Методы проведения анализа / А.Г. Ситников // Сборник статей, лекций и практических рекомендаций «ЛАЛ-тест», № 4 (11) 2005 г., С 17–32.