



Xiamen Bioendo Technology Co., Ltd.

ИНДИКАТОРЫ ЭНДОТОКСИНА ДЛЯ ДЕПИРОГЕНИЗАЦИИ, ФЛАКОНЫ

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ

ECV100000V

НАЗНАЧЕНИЕ

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). Флаконы ИЭ можно использовать для проведения гель-тромб теста, кинетического турбидиметрического теста, кинетического хромогенного теста или хромогенного теста по конечной точке реакции с использованием ТАЛ-реактива.

РЕАКТИВ

Индикатор эндотоксина (ИЭ) для валидации процедуры депилогенизации, который содержит $\geq 100\,000$ ЕЭ очищенного эндотоксина, полученного из штамма *E. coli* O111:B4.

УСЛОВИЯ 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.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

Продукт содержит пирогенную дозу эндотоксинов.

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

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА

Примечание: Этикетки на флаконах термостабильны, их снятие перед депирогенизацией не требуется. Пробка не является термостабильной. Пробку следует снять и заменить алюминиевой фольгой при помещении флакона в сухожаровой шкаф.

Содержимое флакона ИЭ разводят путем добавления 4,0 мл воды для испытания на бактериальные эндотоксины. Перемешивают на вихревой мешалке в течение не менее 15 минут. Стабильность эндотоксинов после разведения содержимого флаконов сохраняется в течение 10 дней при температуре 2–8 °С.

Переносят по 0,1 мл разведенного раствора эндотоксина в каждый из пустых флаконов, не содержащих эндотоксины; каждый флакон будет содержать около 2500 ЕЭ эндотоксина.

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

Обрабатывают флаконы с эндотоксинами в соответствии с выбранными параметрами цикла депирогенизации.

После окончания цикла извлекают флаконы для определения содержания эндотоксинов. Разводят содержимое каждого обработанного флакона 1,0 мл воды для испытания на бактериальные эндотоксины. Добавляют 0,9 мл воды для испытания на бактериальные эндотоксины в каждый необработанный флакон. Перемешивают на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 15 минут. Готовят соответствующие разведения содержимого необработанных флаконов, используя воду для испытания на бактериальные эндотоксины (см. раздел «Процедура испытания и вычисление результатов»). Незамедлительно проводят испытание путем гель-тромб теста, кинетического турбидиметрического теста, кинетического хромогенного теста или хромогенного теста по конечной точке реакции с использованием ТАЛ-реактива.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ И ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гель-тромб тест (ТАЛ-реактив)

Определяют концентрацию эндотоксинов в необработанных контрольных флаконах путем 5000-, 10000-, 20000-, 40000-кратного разбавления разведенного содержимого необработанных флаконов с эндотоксинами с использованием воды для испытания на бактериальные эндотоксины.

Не разводят содержимое обработанных флаконов.

Выполняют количественный анализ разведенного содержимого необработанных флаконов с эндотоксинами и обработанных флаконов с эндотоксинами, используя ТАЛ-реактив с чувствительностью лизата 0,25 ЕЭ/мл. Концентрация эндотоксина

в разведенном содержимом флаконов с эндотоксинами может быть рассчитана следующим образом:

Концентрация эндотоксина

= чувствительность лизата (ЕЭ/мл) x объем воды для разведения (мл/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 средней концентрации эндотоксинов в необработанных контрольных флаконах

– lg средней концентрации эндотоксинов в обработанных флаконах

Средняя концентрация эндотоксинов в необработанных контрольных флаконах составляет 2500 ЕЭ/мл или более. Если эта концентрация в обработанных флаконах составляет менее 0,25 ЕЭ/мл, то степень снижения концентрации эндотоксинов составляет более 4. Если эта концентрация в обработанных флаконах составляет 0,25 ЕЭ/мл или более, степень снижения концентрации эндотоксинов составляет 4 или менее.

Примечание: Если минимальное требование к степени снижения концентрации эндотоксинов составляет 3, выполняют 10-кратное разведение содержимого обработанных флаконов с эндотоксинами.

Кинетический турбидиметрический тест, кинетический хромогенный тест или хромогенный тест по конечной точке с использованием ТАЛ-реактива

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 необработанных флаконах 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 с эндотоксинами среднее значение соответствует диапазону значений стандартной кривой, то можно рассчитать соответствующую концентрацию эндотоксина.

Расчет концентрации эндотоксина для разведенного содержимого флаконов производится по приведенной выше формуле.

Пример:

Концентрация эндотоксина

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

= 3700 ЕЭ/флакон.

Если полученное для неразведенного содержимого обработанного флакона с эндотоксинами среднее значение соответствует диапазону значений стандартной кривой, то можно рассчитать концентрацию эндотоксина для этого образца.

Расчет концентрации эндотоксина для обработанного флакона с эндотоксинами производится по приведенной выше формуле.

Пример:

Концентрация эндотоксина

= 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.

Степень снижения концентрации эндотоксина = log 3700 ЕЭ/флакон – log 0,21 ЕЭ/флакон

= 3,568 – (-0,678)

= 4,25

Если полученное для неразведенного содержимого обработанного флакона с эндотоксинами 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



Xiamen Bioendo Technology Co., Ltd.

концентрации эндотоксинов.

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