

5.1.10. ПРИМЕНЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ

Настоящая общая фармакопейная статья приводится для информации.

1. ВВЕДЕНИЕ

Эндо токсины грамотрицательных бактерий являются самой распространенной причиной токсических реакций, возникающих в результате загрязнения фармацевтической продукции пирогенами; их общая пирогенная активность намного выше, чем у других известных пирогенных веществ. Бактериальные эндо токсины представляют собой липополисахариды, термостабильный компонент наружной части клеточной стенки всех грамотрицательных микроорганизмов. Существует лишь небольшое количество пирогенов, обладающих иной структурой. В целом, по отсутствию бактериальных эндо токсинов в субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственном препарате можно сделать вывод об отсутствии пирогенных веществ при условии, что наличие пирогенов неэндо токсиновой природы исключено. Испытания на пирогенность (2.1.6.2) и на активацию моноцитов (2.6.30) являются подходящими методами для определения отсутствия пирогенов неэндо токсиновой природы в лекарственных средствах и вспомогательных веществах..

Присутствие бактериальных эндо токсинов в субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственном препарате может быть замаскировано факторами, влияющими на реакцию между эндо токсинами и лизатом амёбоцитов мечехвоста. Кроме того, на способность обнаруживать эндо токсины могут влиять условия хранения или время хранения. Следовательно, перед проведением испытания на бактериальные эндо токсины или перед выбором между испытаниями на бактериальные эндо токсины или на пирогенность или на активацию моноцитов, необходимо подтвердить возможность его проведения для конкретной субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата; при этом может оказаться необходимым выполнение процедуры устранения мешающих факторов.

Согласно указаниям общей фармакопейной статьи 2.1.6.8 *Бактериальные эндо токсины*, результаты испытания считают приемлемыми лишь при выполнении двух условий:

– при подтверждении отсутствия влияния материалов, используемых в испытании. Должно быть показано отсутствие эндо токсинов в воде для испытания на бактериальные эндо токсины, других реактивах и расходных материалах. Также, должна быть подтверждена чувствительность лизата амёбоцитов, заявленная производителем;

– при определении чувствительности лизата амёбоцитов как в присутствии, так и в отсутствии испытуемого образца, в связи с возможностью его влияния на результат испытания. Между двумя полученными значениями чувствительности не должно быть значимой разницы.

В общей фармакопейной статье 2.1.6.8 *Бактериальные эндо токсины* представлены методы удаления мешающих факторов; в случае использования других методов должно быть проведено дополнительное испытание для подтверждения нейтрализации или удаления мешающих факторов.

В данной общей фармакопейной статье приведены причины установления требований к испытаниям на бактериальные эндо токсины, а также разъяснения по вычислениям и интерпретации результатов.

Замена испытания *Пирогенность*, указанного в частной фармакопейной статье, на испытание *Бактериальные эндотоксины* или другие методы, например, испытание на активацию моноцитов или испытание с использованием рекомбинантного фактора С, требует подтверждения возможности проведения метода для конкретной субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата и получения соответствующего результата альтернативным методом, в соответствии с указаниями раздела 1. *Общие сведения* (см. также раздел 13 данной общей фармакопейной статьи).

Метод для определения бактериальных эндотоксинов может быть указан в частной фармакопейной статье. Если метод не указан, используют любой из методов от А до F общей фармакопейной статьи 2.1.6.8 *Бактериальные эндотоксины*.

2. МЕТОДЫ И КРИТЕРИИ ПРИЕМЛЕМОСТИ

2.1. МЕТОДЫ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Добавление бактериальных эндотоксинов к лизату амёбоцитов может привести к помутнению, осаждению или гелеобразованию (гель-тромб). Первоначально, только гель-тромб метод применяли для оценки качества субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата при проведении испытания на бактериальные эндотоксины. Преимущество метода заключалось в простоте принятия решения о качестве испытуемого образца по результатам испытания на основании отсутствия или присутствия плотного геля, видимого невооруженным глазом. Количественные фотометрические методы С, D, E и F были разработаны позднее: данные методы требуют оснащения соответствующим оборудованием, но легче поддаются автоматизации для рутинных испытаний большого количества образцов одного и того же лекарственного средства.

Бактериальные эндотоксины могут адсорбироваться на поверхности пробирок или пипеток из определенных полимерных материалов или типов стекла. Мешающие факторы могут появиться вследствие высвобождения веществ из полимерных материалов. Следовательно, используемые расходные материалы должны быть проверены.

2.2. ПРЕДЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ

Решение использовать в испытании на бактериальные эндотоксины методы качественного анализа подразумевает, во-первых, что должно быть определено теоретически допустимое предельное содержание эндотоксинов для субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата, подлежащих исследованию, и, во-вторых, испытания проводят с целью получения информации будет ли концентрация эндотоксинов в испытуемом образце ниже или выше установленного предельного содержания эндотоксинов.

Количественные фотометрические методы С, D, E и F позволяют определить содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом образце, но для соответствия фармакопейным требованиям и при рутинном контроле качества основной вопрос заключается в том, превышает ли это значение допустимое предельное содержание эндотоксинов.

При установлении предельного содержания бактериальных эндотоксинов в лекарственном препарате следует учитывать его терапевтическую дозу и пути введения.

При установлении предельного содержания эндотоксинов в субстанции для фармацевтического применения следует использовать рекомендации по применению и дозированию лекарственного препарата, в состав которого она входит.

Предельное содержание бактериальных эндотоксинов определяет допустимую концентрацию эндотоксинов в лекарственном препарате. Если содержание эндотоксинов не превышает этого показателя, то даже при введении пациенту максимальной дозы лекарственного препарата в течение часа предполагаемым путем не возникает токсической реакции, обусловленной эндотоксинами.

Качественный анализ испытания на бактериальные эндотоксины подразумевает «все или ничего», что делает невозможным установление различий между содержанием эндотоксинов равным предельному содержанию или выше его. Образование плотного геля происходит, если содержание эндотоксинов в испытуемом образце достигает значения предельного содержания эндотоксинов и когда превышает его. В обоих случаях испытуемый образец не выдерживает испытание. Только при отсутствии образования плотного геля можно сделать вывод, что содержание эндотоксинов ниже допустимого предельного содержания эндотоксинов.

Для лекарственных средств в твердом состоянии предельное содержание эндотоксинов на единицу массы или международную единицу активности лекарственного средства должно быть преобразовано в содержание бактериальных эндотоксинов на миллилитр испытуемого раствора, поскольку данное испытание может быть проведено только в растворе. Лекарственные препараты в жидком состоянии (например, растворы для инфузий) обсуждаются ниже, в разделе 2.5 данной общей фармакопейной статьи.

2.3. ВЫЧИСЛЕНИЕ ПРЕДЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЭНДОТОКСИНОВ

Для лекарственных препаратов, вводимых парентерально, предельное содержание эндотоксинов, определенное на основе дозы, рассчитывают по формуле:

$$\frac{K}{M},$$

где, K – предельная пирогенная доза бактериальных эндотоксинов из расчета на килограмм массы тела,

M – максимальная разовая доза испытуемого лекарственного препарата из расчета на килограмм массы тела.

В случае введения лекарственного препарата через частые интервалы или инфузионно, в качестве M используют общую максимальную дозу, вводимую в течение одного часа.

Предельное содержание эндотоксинов зависит от лекарственного препарата, пути его введения и может быть указано в некоторых частных фармакопейных статьях.

Значения для предельной пирогенной дозы бактериальных эндотоксинов (K) приведены в таблице *номер-1*.

Таблица номер-1.

Путь введения	К
Внутривенный	5,0 МЕ/кг (международных единиц эндотоксина на килограмм массы тела)
Внутривенный, для радиофармацевтических лекарственных препаратов	2,5 МЕ/кг (международных единиц эндотоксина на килограмм массы тела)
Инtrateкальный	0,2 МЕ/кг (международных единиц эндотоксина на килограмм массы тела)
Инtrateкальный, для радиофармацевтических лекарственных препаратов	14 МЕ/V, МЕ/мл, где V – максимальная рекомендуемая доза (объем) (международных единиц эндотоксина на максимальную рекомендуемую дозу (объем))
Парентеральный, для лекарственных препаратов вводимых в дозе, рассчитываемой на квадратный метр поверхности тела	100 МЕ/м ² (международных единиц эндотоксина на квадратный метр поверхности тела)
Примечание. Одна международная единица (МЕ) эндотоксина соответствует одной единице эндотоксина (ЕЭ).	

2.4. РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРЕДЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЭНДОТОКСИНОВ В КОНКРЕТНОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ И (ИЛИ) ЛЕКАРСТВЕННОМ ПРЕПАРАТЕ

Допустимое предельное содержание эндотоксинов в субстанции для фармацевтического применения или лекарственном препарате устанавливают с учетом следующих аспектов.

Рассчитанное значение предельного содержания эндотоксинов. Предельное содержание эндотоксинов рассчитывают, как описано в разделе 2.3 данной общей фармакопейной статьи. Показатель определяет границу безопасности, которую нельзя превышать, если лекарственное средство предназначено для медицинского применения.

Предельное содержание эндотоксинов, указанное в частной фармакопейной статье. Данный показатель, обычно отражает то, что достижимо в контролируемом производственном процессе. Следовательно, предельное содержание эндотоксинов, представленное в частной фармакопейной статье, может быть меньше рассчитанного значения предельного содержания эндотоксинов. Производитель может указать более жесткие требования к предельному содержанию эндотоксинов, чем представленные в частной фармакопейной статье.

Возможности процесса. Способность производственных процессов к снижению концентрации или удалению бактериальных эндотоксинов может привести к более низким значениям предельного содержания эндотоксинов для конкретных процессов.

Дополнительные требования безопасности. Меры предосторожности принимают с учетом популяции пациентов (например, использование в педиатрии, для пациентов с истощением или кахексией и т.д.), конкретных региональных требований (например, использование при расчетах предельного содержания эндотоксинов более низкой средней массы тела, 60 кг вместо 70 кг) или любые дополнительные меры безопасности, запрошенные уполномоченным органом.

Состав лекарственного препарата. При установлении значения предельного содержания эндотоксинов необходимо учитывать любую теоретическую эндотоксиновую нагрузку, вносимую любыми компонентами, используемыми для восстановления и (или) разведения (например, вода для инъекций) субстанции для фармацевтического применения или лекарственного препарата, или получаемую от исходных материалов и (или) исходного сырья.

2.5. МАКСИМАЛЬНО ДОПУСТИМОЕ РАЗВЕДЕНИЕ

В данном разделе рассматривают вопросы: какое разведение субстанции для фармацевтического применения или лекарственного препарата следует использовать в испытании для получения подтверждения, что при отрицательном результате содержание эндотоксинов в испытуемом образце меньше предельного содержания эндотоксинов, а при положительном результате – равно или превышает допустимое предельное содержание.

Максимально допустимое разведение (МДР) представляет собой наибольшее разведение испытуемого образца, при котором может быть определено предельно допустимое содержание эндотоксинов. Оно зависит от предельного содержания эндотоксинов и чувствительности лизата амёбоцитов (предела обнаружения). МДР рассчитывают по формуле:

$$\frac{\text{Предельное содержание эндотоксинов} \times \text{Концентрация испытуемого раствора}}{\text{Предел обнаружения}}$$

Концентрацию испытуемого раствора выражают:

- в миллиграммах на миллилитр (мг/мл), если предельное содержание эндотоксинов установлено в массовых единицах (МЕ/мг);
- в единицах активности на миллилитр (Ед/мл), если предельное содержание эндотоксинов выражено в пересчете на единицу биологической активности (МЕ/Ед);
- в миллилитрах на миллилитр (мл/мл), если предельное содержание эндотоксинов выражено в объемных единицах (МЕ/мл).

Предел обнаружения (λ) представляет собой чувствительность лизата в гель-тромб методе (МЕ/мл), заявленная производителем лизата амёбоцитов или самая низкая концентрация эндотоксинов, определенная по стандартной калибровочной кривой в турбидиметрическом или хромогенном фотометрических методах.

Если значение МДР не является целым числом, для рутинных целей можно использовать подходящее целое число, меньшее, чем МДР (приготовление раствора

испытуемого образца в меньшем разведении, чем МДР). В таком случае, отрицательный результат означает, что содержание бактериальных эндотоксинов ниже допустимого предельного содержания. Если содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом образце ниже допустимого предельного содержания эндотоксинов, но достаточно велико, чтобы вызвать гелеобразование лизатом амёбоцитов, то испытание в таких условиях может быть положительным. Следовательно, когда в испытании с использованием «рабочего» разведения, кратность которого меньше МДР, получен положительный результат, испытуемый образец разводят до МДР и повторяют испытание. В любом сомнительном или спорном случае необходимо использовать МДР. Данный факт подчеркивает важность подтверждения чувствительности лизата амёбоцитов.

Пример.

Необходимо провести испытание раствора 50 мг/мл натрия фенитоина (для внутривенного введения). Определяют МДР, используя следующие данные:

M – максимальная доза для человека – 15 мг на килограмм массы тела;

C – концентрация испытуемого раствора – 50 мг/мл;

K – предельная пирогенная доза эндотоксинов – 5 МЕ/кг;

λ – предел обнаружения – 0,4 МЕ/мл.

$$\text{МДР} = \frac{5 \times 50}{15} \times \frac{1}{0,4} = 41,67$$

Для рутинных испытаний данного лекарственного препарата целесообразно развести 1 мл испытуемого раствора до 20 мл (МДР/2 округляют до ближайшего меньшего целого числа). В случае, если результат испытания будет положительным, следует разбавить 1 мл до 41,67 мл и повторить испытание. Разведение до 41,67 мл также необходимо, когда испытание проводят в спорных случаях.

3. ОЦЕНКА РИСКА

В целом, как указано в разделе 1 данной общей фармакопейной статьи, отсутствие бактериальных эндотоксинов в субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственном препарате позволяет сделать вывод об отсутствии пирогенов при условии исключения присутствия пирогенов неэндотоксиновой природы.

Для подтверждения отсутствия неэндотоксиновых пирогенов в субстанциях для фармацевтического применения и (или) лекарственных препаратах рекомендуется использовать испытания на пирогенность (2.1.6.2) или на активацию моноцитов (2.6.30) при выпуске или в ходе разработки производственного процесса. Если в производственный процесс вносят какие-либо изменения, способные повлиять на качество субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата в отношении пирогенности, испытания выбранным методом повторяют. Например, к таким изменениям относят использование другого исходного сырья, другой производственной площадки и других параметров процесса.

Решение об использовании испытания на бактериальные эндотоксины в качестве единственного испытания на пирогенность необходимо принимать после тщательной оценки риска для субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного

препарата, содержащих пирогены неэндотоксиновой природы. Оценку риска проводят с учетом любого фактора, способного привести к включению пирогенов, не обнаруживаемых при испытании на бактериальные эндотоксины.

Далее представлен перечень факторов, которые необходимо учитывать при оценке риска. Список не является исчерпывающим, при необходимости может быть дополнен.

Производство (химический синтез, ферментация, биотехнологический метод). Для продуктов ферментации следует учитывать тип экспрессионной системы (прокариотическая или эукариотическая) и, в случае прокариотической системы – используются ли грамположительные или грамотрицательные бактерии. Кроме того, рассматривают компоненты питательных сред с учетом их происхождения (синтетические, животные, растительные).

Бионагрузка. Должно быть учтено потенциальное присутствие грамположительных бактерий и грибов в качестве контаминантов активной фармацевтической субстанции, вспомогательных веществ или исходных материалов и исходного сырья, используемых при производстве лекарственного препарата, а также происхождение сырья (синтетическое, животное, растительное). Качество воды также играет важную роль в общей оценке риска.

Возможности последующей стадии производственного процесса. Необходимо подтвердить, удаляются ли бактериальные эндотоксины на последующих стадиях производственного процесса.

Безопасность. При оценке риска необходимо учитывать целевую популяцию и путь введения (например, внутривенно, интратекально и др.).

Стабильность обнаружения эндотоксинов. Следует учитывать, что на возможность обнаружения эндотоксинов может оказать влияние взаимодействие с определенными компонентами, условия или время хранения, температура и пробоподготовка испытуемого образца. Должны быть установлены процедуры хранения, пробоподготовки и смешивания образцов, подтверждающие отсутствие влияния на стабильность обнаружения бактериальных эндотоксинов.

4. СТАНДАРТЫ ЭНДОТОКСИНА

В качестве стандартного образца может быть использован стандартный образец, с содержанием бактериальных эндотоксинов выраженным в международных единицах эндотоксина на упаковку, калиброванный относительно Международного стандартного образца, например, *СО ФЕАЭС Эндотоксина*. За международную единицу принимают активность определенного количества Международного стандартного образца эндотоксина, устанавливаемого Всемирной организацией здравоохранения. Одна международная единица (МЕ) эндотоксина соответствует одной единице эндотоксина (ЕЭ).

5. ВОДА ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ

Вода для испытания на бактериальные эндотоксины представляет собой стерильную воду, не содержащую эндотоксинов в количествах, определяемых в испытании. Обычно она коммерчески доступна и сертифицирована.

Для подготовки воды для испытания на бактериальные эндотоксины помимо тройной дистилляции могут быть использованы и другие методы. Приемлемые результаты дает метод обратного осмоса, в некоторых случаях предпочтительнее проведение процесса дистилляции более трех раз. Независимо от используемого метода, полученная вода не должна содержать поддающиеся обнаружению бактериальные эндотоксины.

6. pH СМЕСИ

В испытании на бактериальные эндотоксины оптимальное образование плотного геля происходит при pH (6,0–8,0). Следует учитывать, что добавление лизата амёбоцитов в испытуемый образец может приводить к снижению значения pH.

7. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ЗАЯВЛЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛИЗАТА АМЁБОЦИТОВ

При приготовлении растворов лизата амёбоцитов необходимо следовать инструкциям производителя. Концентрации эндотоксинов в конечной точке реакции для каждого из разведений в гель-тромб методах А и В преобразуют в логарифмы. Необходимость преобразования заключается в том, что построенный график частотного распределения логарифмических значений, обычно гораздо ближе к кривой нормального распределения, чем частотное распределение самих коэффициентов разведения; фактически они настолько близки, что допустимо использовать нормальное распределение в качестве математической модели и вычисление доверительного интервала с помощью *t*-критерия Стьюдента.

8. ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИСПЫТАНИЕ НА МЕШАЮЩИЕ ФАКТОРЫ

Испытания на присутствие бактериальных эндотоксинов не могут быть проведены без дополнительной подготовки, если:

- испытуемый образец не смешивается с реактивами;
- pH раствора испытуемого образца нельзя довести до (6,0–8,0);
- испытуемый образец ингибирует или активирует ферментативную реакцию (например, β -D-глюканы).

Необходимо проводить предварительное испытание на наличие мешающих факторов. В случае обнаружения мешающих факторов необходимо доказать эффективность процедуры их удаления и отсутствие влияния процедуры на любые присутствующие бактериальные эндотоксины.

Целью предварительного испытания является проверка нулевой гипотезы, что чувствительность лизата амёбоцитов в присутствии испытуемого образца не отличается от чувствительности лизата амёбоцитов в отсутствие испытуемого образца. В методах А и В нулевую гипотезу принимают, если чувствительность лизата амёбоцитов в присутствии испытуемого образца составляет не менее 0,5 и не более 2 от чувствительности лизата амёбоцитов в отсутствие испытуемого образца.

Испытание на присутствие мешающих факторов в методах А и В требует использования испытуемого образца, в котором эндотоксины не обнаруживаются. Это представляет собой теоретическую проблему при испытании совершенно новых лекарственных средств. В связи с этим, для количественных фотометрических методов С, D, E и F был разработан другой подход.

Следует обратить внимание, что для проведения испытания методами D и E, в которых используют хромогенный пептид, необходимы реактивы, не используемые в методах A, B, C и F. Следовательно, соответствие методов A, B, C или F требованиям к мешающим факторам нельзя экстраполировать на метод D или метод E без дальнейшего испытания.

9. УСТРАНЕНИЕ МЕШАЮЩИХ ФАКТОРОВ

Методики устранения мешающих факторов не должны приводить к увеличению или уменьшению (например, вследствие адсорбции) количества бактериальных эндотоксинов в испытуемом образце. Корректный способ проверки эффективности нейтрализации мешающих факторов состоит в применении метода добавок, который представляет собой добавление к испытуемому образцу известного количества бактериальных эндотоксинов с последующим измерением их открываемости.

Методы C и D. Если мешающие факторы обусловлены природой субстанции для фармацевтического применения или лекарственного препарата и не могут быть устранены общепринятыми методами (например, разведением или центрифугированием), возможно построение калибровочной кривой с использованием лекарственного средства такого же типа, очищенного от эндотоксинов путем соответствующей обработки или разведения. Испытание на бактериальные эндотоксины проводят путем сравнения с указанной калибровочной кривой.

Установлено, что в большинстве случаев подходит ультрафильтрация с использованием асимметричных мембранных фильтров из триацетата целлюлозы. Фильтры должны быть надлежащим образом проверены, поскольку при некоторых обстоятельствах производные целлюлозы (β - D-глюканы) могут быть причиной ложноположительных результатов.

Другим вариантом удаления мешающих факторов является двухэтапная процедура, при которой, во-первых, бактериальные эндотоксины в испытуемом образце с мешающими факторами фиксируют на твердой фазе (например, метод предварительного концентрирования с использованием твердофазной экстракции) и, во-вторых, после удаления мешающих факторов (например, путем промывки) бактериальные эндотоксины обнаруживают в неизменном виде в подходящих условиях испытания.

10. ЦЕЛЬ ПРОВЕДЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ ИСПЫТАНИЙ

Цель проведения контрольных испытаний состоит в проверке активности лизата амёбоцитов в условиях испытаний методами A и B.

Выполняют контрольное испытание с раствором стандартного образца эндотоксина в воде для испытания на бактериальные эндотоксины в концентрации, в два раза превышающей указанную производителем чувствительность лизата амёбоцитов.

В качестве отрицательного контроля используют воду для испытания на бактериальные эндотоксины для подтверждения отсутствия бактериальных эндотоксинов в обнаруживаемой концентрации.

Положительный контроль, содержащий испытуемый образец в концентрации, применяемой в испытании, предназначен для подтверждения отсутствия мешающих факторов.

11. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Незначительные количества бактериальных эндотоксинов, содержащиеся в воде или в любом другом реактиве или материале, с которыми во время испытания контактирует лизат амёбоцитов, могут не обнаруживаться до тех пор, пока это количество не достигнет предела обнаружения лизата амёбоцитов. Однако, даже незначительные количества эндотоксинов могут увеличить их содержание в растворе с испытуемым образцом до значения, несколько превышающего предел обнаружения лизата амёбоцитов, и вызвать положительную реакцию.

Риск возникновения такого нежелательного явления можно уменьшить путем проверки воды для испытания на бактериальные эндотоксины, других реактивов и материалов с использованием наиболее чувствительного лизата амёбоцитов или, по крайней мере, более чувствительного, чем лизат амёбоцитов, применяемый при испытании лекарственного средства. Даже в этом случае риск такого ложноположительного результата не может быть полностью исключен.

12. РЕАЛИЗАЦИЯ МЕТОДОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В ФАРМАКОПЕЕ ЕАЭС

Методы испытаний, приведенные в общих фармакопейных статьях и частных фармакопейных статьях, валидированы в соответствии с принятой научной практикой и действующими рекомендациями по валидации аналитических методик и являются официальными (см. раздел 1. *Общие сведения*). Следовательно, методы, представленные в общих фармакопейных статьях 2.1.6.8 *Бактериальные эндотоксины*, 2.6.30 *Испытание на активацию моноцитов* и 2.6.32 *Испытание на бактериальные эндотоксины с использованием рекомбинантного фактора С* не нуждаются в повторной валидации (ревалидации), однако требуют подтверждения возможности их использования для конкретной субстанции для фармацевтического применения и (или) лекарственного препарата в конкретных условиях испытания. Процедура, а также материалы и реактивы, используемые в методике, должны быть проверены, согласно указаниям для соответствующего испытания. Отсутствие мешающих факторов (при необходимости, процедуры их устранения) проверяют на образцах из не менее трех производственных серий.

Испытание на активацию моноцитов, согласно указаниям общей фармакопейной статьи 2.6.30. *Испытание на активацию моноцитов*, в первую очередь, предназначено для замены испытания *Пирогенность*. В этой же общей фармакопейной статье представлены рекомендации по выбору и использованию методов (1, 2 или 3) и валидации испытания.

13. ЗАМЕНА МЕТОДА, ПРЕДПИСАННОГО В ЧАСТНОЙ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬЕ

13.1. ЗАМЕНА МЕТОДОМ, ПРЕДСТАВЛЕННЫМ В ФАРМАКОПЕЕ ЕАЭС

Замена метода, предписанного в частной фармакопейной статье, на другой метод, представленный в ФЕАЭС, необходимо рассматривать как использование альтернативного метода взамен фармакопейного (см. раздел 1. *Общие сведения*). Альтернативный метод, представленный в фармакопее не нуждается в повторной валидации, однако необходимо подтверждение возможности его использования для конкретной субстанции для

фармацевтического применения или лекарственного препарата в конкретных условиях испытания, а также для подтверждения эквивалентности предписанному методу.

13.2. ЗАМЕНА МЕТОДОМ, НЕ ПРЕДСТАВЛЕННЫМ В ФАРМАКОПЕЕ ЕАЭС

Замена метода, предписанного в частной фармакопейной статье, методом, не представленным в ФЕАЭС, необходимо рассматривать как использование альтернативного метода взамен фармакопейного (см. раздел 1. *Общие сведения*).