

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-53

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ В ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

### COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS FOR THE CONTROL OF BACTERIAL ENDOTOXINS IN IMMUNOBIOLOGICAL MEDICINES

М. В. Булатова, С. В. Усова, Е. С. Башкина, Н. С. Куцерубова, М. П. Богрянцева

*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово*

M. V. Bulatova, S. V. Usova, E. S. Bashkina, N. S. Kutserubova, M. P. Bogryantseva

*State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo*

✉ mari.bulatova.90@mail.ru

#### Аннотация

Несмотря на то что список пирогенов довольно обширен, в области контроля качества инъекционных лекарственных средств практическое значение имеют главным образом пирогены, вырабатываемые грамотрицательными бактериями, — бактериальные эндотоксины [1]. Их значительное присутствие в готовых лекарственных инъекционных формах и активных фармацевтических субстанциях может оказывать существенное воздействие на организм человека, вызывая аллергические и воспалительные реакции, повреждение тканей, и даже может приводить к серьезным нарушениям биохимических процессов. Согласно требованиям международного и отечественного стандарта, содержащего свод правил безопасного и качественного изготовления лекарственных средств, количество пирогенных примесей в инъекционных лекарственных препаратах должно быть сведено к минимуму [2]. Необходимый контроль за уровнем этих примесей может быть осуществлен с помощью трех методов: теста на пирогенность с использованием животных — кроликов [3], ЛАЛ-теста [4] и теста активации моноцитов [5], который методически еще требует дополнительных исследований и валидации. Наиболее распространенными методами контроля в лабораториях являются пирогенность и ЛАЛ-тест.

#### Abstract

Despite the fact that the list of pyrogens is quite extensive, in the field of quality control of injectable medicines, pyrogens produced by gram-negative bacteria — bacterial endotoxins are mainly of practical importance [1]. Their significant presence in ready-made injectable dosage forms and active pharmaceutical substances can have a significant effect on the human body, causing allergic and inflammatory reactions, tissue damage and can even lead to serious violations of biochemical processes. According to the requirements of the international and domestic standard, which contains a set of rules for the safe and high-quality manufacture of medicines, the amount of pyrogenic impurities in injectable medicines should be minimized [2]. The necessary control over the level of these impurities can be carried out using three methods: a pyrogenicity test using rabbit animals [3], a LAL test [4] and a monocyte activation test [5], which methodically still requires additional research and validation. The most common control methods in laboratories are pyrogenicity and LAL test.

Целью данного исследования являлось сравнение метода определения пирогенности с использованием животных и ЛАЛ-теста для контроля бактериальных эндотоксинов в вакцинах, полученных генно-инженерным методом.

Определение бактериальных эндотоксинов проводилось с использованием экспериментальных серий вакцин. Во всех исследуемых образцах тест на пирогенность показал, что вакцины апиrogenны и не вызывают серьезных аллергических или воспалительных реакций у кроликов. ЛАЛ-тест показал результат ниже верхней границы порогового пирогенного предела для нормальной переносимости организмом 350 ЕЭ/доза. Таким образом, с помощью теста на пирогенность удалось определить действие обоих классов пирогенов: экзо- и эндотоксинов. ЛАЛ-тест в свою очередь показал наличие бактериальных эндотоксинов в пределах нормы для подтверждения безопасности экспериментальных вакцин.

Несмотря на высокую чувствительность, которая составляет 0,005 ЕЭ/мл, ЛАЛ-тест специфичен только к выявлению эндотоксинов, а все виды пирогенных примесей определяются методом контроля пирогенности на кроликах или на моноцитах крови человека. При этом чувствительность метода пирогенности на кроликах го-

раздо меньше, чем в ЛАЛ-тесте. Таким образом, тест на пирогенность и ЛАЛ-тест можно считать однонаправленными, так как оба теста определяют пирогенные примеси. Однако при разработке новых вакцин для подтверждения безопасности допускается проводить оба метода с последующим включением в нормативную документацию на препарат.

### **Литература**

1. Шаповалова О. В., Неугодова Н. П., Гунар О. В. Практические аспекты анализа фармацевтических субстанций по показателю «Бактериальные эндотоксины» // Науч. результаты биомед. исслед. 2019. № 2.
2. ГОСТ Р 52249-2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. М.: Стандартинформ, 2009. 139 с.
3. Thurman T. L., Lahti C. J., Mateffy J. M. et al. Comparison of pyrogen assays by testing products exhibiting low endotoxin recovery // ALTEX. 2023. Vol. 40 (1). P. 117–124.
4. Grallert H., Leopoldseder S., Schuett M. et al. Endo LISA®: a novel and reliable method for endotoxin detection // Nat. Methods. Appl. Notes. 2011. 3–5.
5. Brown J., Clippinger A. J., Fritz Briglia C. et al. Using the monocyte activation test as a stand-alone release test for medical devices // ALTEX. 2021. Vol. 38 (1). P. 151–156.