

Определение пирогенных примесей в гормональных имплантатах с помощью ЛАЛ-теста

Н. П. Неугодова, О. В. Шаповалова*, Г. А. Сапожникова, Е. О. Степанюк

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Резюме. Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. имплантаты являются стерильной лекарственной формой, для которой обязательным является контроль пирогенности. Однако особенности выполнения анализа для данной лекарственной формы в отечественной фармакопее не описаны. **Цель работы:** разработать методику определения содержания бактериальных эндотоксинов (БЭ) с помощью ЛАЛ-теста в имплантатах на примере гормонального препарата с активным веществом гозерелин. **Материалы и методы:** выполняли процесс экстракции БЭ с поверхности имплантата в водную среду и определяли содержание БЭ в смыве турбидиметрическим кинетическим методом. Затем имплантат растворяли в диметилсульфоксиде и оценивали наличие БЭ в полученном растворе гозерелина с помощью гель-тромб теста. **Результаты:** на основании существующих в отечественной и зарубежной фармакопейной практике подходов к определению пирогенных примесей в гормональных имплантатах предложено два способа предварительной подготовки образцов для последующего определения содержания БЭ (в смыве и в растворе имплантата). Установлено, что содержание БЭ в водном смыве не превышает 0,01 ЕЭ/мл и составляет менее 0,07 ЕЭ на имплантат. Содержание БЭ в растворе имплантата составило менее 8,3 ЕЭ на 1 мг гозерелина, что почти в 11 раз меньше теоретически рассчитанной нормы. **Выводы:** разработаны две методики определения БЭ в имплантатах гормональных препаратов с помощью ЛАЛ-теста, пригодные для включения в нормативную документацию. Первая методика предусматривает испытание водного смыва с поверхности имплантата с нормой предельного содержания БЭ «не более 20 ЕЭ/изделие». Вторая методика основана на полном растворении имплантата в диметилсульфоксиде с нормой «не более 97,22 ЕЭ на 1 мг гозерелина».

Ключевые слова: ЛАЛ-тест; бактериальные эндотоксины; пирогены; имплантаты; гормональные препараты

Для цитирования: Неугодова НП, Шаповалова ОВ, Сапожникова ГА, Степанюк ЕО. Определение пирогенных примесей в гормональных имплантатах с помощью ЛАЛ-теста. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2021;11(2):115–120. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-115-120>

* **Контактное лицо:** Шаповалова Ольга Владимировна; shapovalova@expmed.ru

Detection of Pyrogens in Hormonal Implants Using the LAL Test

N. P. Neugodova, O. V. Shapovalova*, G. A. Sapozhnikova, E. O. Stepanyuk

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th edition states that implants are a sterile dosage form, and have to be tested for pyrogens. However, it does not provide details on how the test should be performed for this dosage form. **The aim of the study** was to develop a LAL test procedure for detection of bacterial endotoxins (BE) in implants, using the example of a goserelin product. **Materials and methods:** BE extraction from the implant surface into an aqueous medium was performed with subsequent BE detection in the extract by turbidimetric kinetic test. The implant was then dissolved in dimethyl sulfoxide, and the obtained goserelin solution was tested for BEs using the gel-clot test. **Results:** the analysis of the Russian and foreign pharmacopoeial approaches to pyrogenic substance detection in hormonal implants helped to develop two sample preparation procedures for determination of BE content (in the extract and the implant solution). It was demonstrated that the BE content in the water extract did not exceed 0.01 EU/mL and was less than 0.07 EU per implant. The BE content in the implant solution was less than 8.3 EU per 1 mg of goserelin, which is almost eleven-fold lower than the theoretically-derived limit. **Conclusions:** the authors developed two test procedures for BE detection in hormonal implants using the LAL test, which could be included in manufacturers' product files. The first procedure involves testing of the water extract from the implant surface and establishes the BE limit of no more than 20 EU/product. The second procedure involves complete dissolution of the implant in dimethyl sulfoxide and establishes the limit of not more than 97.22 EU per 1 mg of goserelin.

Key words: LAL test; bacterial endotoxins; pyrogens; implants; hormone products

For citation: Neugodova NP, Shapovalova OV, Sapozhnikova GA, Stepanyuk EO. Detection of pyrogens in hormonal implants using the LAL test. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2021;11(2):115–120. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-115-120>

* **Corresponding author:** Olga V. Shapovalova; shapovalova@expmed.ru

Препараты для парентерального применения представляют собой стерильные лекарственные формы, предназначенные для введения в организм человека путем инъекций, инфузий или имплантации (с нарушением целостности кожных покровов или слизистых оболочек, минуя желудочно-кишечный тракт). В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) лекарственные формы для парентерального применения¹ и фармацевтические субстанции², используемые для их приготовления, подвергаются испытанию на бактериальные эндотоксины (БЭ) или пирогены. Испытания проводят в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей (ОФС) «Бактериальные эндотоксины»³ или «Пирогенность»⁴. Пирогенные примеси могут вызывать у человека лихорадку, шок и даже смерть. Следовательно, необходимо обнаруживать и/или количественно определять БЭ в лекарственных формах для парентерального применения. К таким формам относятся и имплантаты⁵ [1].

В настоящее время гормональные имплантаты активно применяются в гинекологии и офтальмологии: это препараты, содержащие эстрогены, дексаметазон и другие активные вещества, высвобождающиеся в течение длительного времени [2–6]. Определение пирогенных примесей в имплантатах возможно с помощью трех методов: испытание на пирогенность, тест активации моноцитов, определение БЭ с помощью лизата амебоцитов клеток крови мечехвоста (ЛАЛ-тест). У каждого метода есть свои преимущества и недостатки [7, 8]. При определении пирогенности с использованием лабораторных животных испытуемый образец имплантируют в тело кролика и наблюдают за изменением температуры, указывающей на пирогенную реакцию. К несовершенству метода можно отнести несколько факторов: 1) более низкая чувствительность животных к пирогенам по сравнению с человеком; 2) ложноположительные пирогенные реакции как следствие воспалительного процесса в результате разрушения тканей при имплантации гормонального препарата в тело животного; 3) возможность применения только для имплантатов небольшого размера [7].

В соответствии с общемировыми тенденциями по сокращению использования лабораторных животных в Европе проводятся исследования с использованием теста активации моноцитов (monocyte

activation test, MAT) для обнаружения пирогенных примесей в медицинских изделиях [9]. Для оценки пирогенного загрязнения имплантируемых медицинских устройств применяли методику *in vitro*: образец инкубировали со свежей или криоконсервированной цельной кровью человека и определяли наличие провоспалительного цитокина (интерлейкин-1 β) с помощью иммуноферментного анализа. Исследовали возможность применения МАТ для проверки нейрохирургических имплантатов, а именно зажимов аневризмы. Благодаря непосредственному контакту исследуемого материала с клетками крови в этом тесте не нужно оценивать смыв с поверхности образца, при выполнении которого возможно получение неоднозначных результатов [10–12]. Непосредственное определение пирогенов — это одно из важных преимуществ МАТ перед методикой определения с помощью ЛАЛ-теста. Препятствием использования МАТ в рутинных анализах является трудоемкая и длительная по времени работа с цельной кровью для создания пула от различных доноров, пригодного для теста, или с моноцитами, выделенными из периферической крови, дороговизна реактивов и необходимость испытания специальных условий для проведения испытания [9].

При выполнении ЛАЛ-теста возможны два варианта анализа. В первом случае имплантат следует оценивать согласно требованиям статьи Фармакопеи США 42 изд. (USP 42)⁶, где указано, что содержание БЭ определяют в водных смывах с изделий медицинского назначения, в том числе и с имплантатов. Расчет допустимой концентрации БЭ в смыве выполняется с учетом установленной нормы БЭ (не более 20 ЕЭ/изделие)⁷, количества изделий и объема воды для приготовления смыва. Для подготовки смывов предлагается использовать воду для ЛАЛ-теста, подогретую до 37 °С. Время экстракции составляет 1 ч. Перемешивание достаточно проводить в начале и в конце экстрагирования⁸. Предельное содержание БЭ в исходном растворе смыва рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{K \times N}{V}, \quad (1)$$

где C — концентрация БЭ в смыве, ЕЭ/мл;
 K — допустимое содержание БЭ в расчете на одно изделие, ЕЭ/изделие;
 N — количество изделий, шт.;
 V — объем воды для приготовления смыва, мл.

¹ ОФС.1.4.1.0007.15 Лекарственные формы для парентерального применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

² ОФС.1.1.0006.15 Фармацевтические субстанции. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

³ ОФС.1.2.4.0006.15 Бактериальные эндотоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

⁴ ОФС.1.2.4.0005.15 Пирогенность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

⁵ ОФС.1.4.1.0026.18 Имплантаты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

⁶ Monograph (161) Medical devices — bacterial endotoxin and pyrogen tests. United States Pharmacopeia. 42nd ed. Rockville, MD; 2019.

⁷ Guidance for industry. Pyrogen and endotoxins testing: Questions and answers. U.S. Department of Health and Human Services; 2012.

⁸ ЛАЛ-тест. Периодический бюллетень для специалистов, работающих в области фармации, медицины и биологии. 2019;1(25):2–5.



Рис. 1. Объект исследования
Fig. 1. Test object

Другой способ определения БЭ предусматривает полное растворение имплантата и дальнейшее испытание полученного раствора согласно требованиям ГФ РФ⁹. Для этого испытуемые образцы растворяют в органических растворителях, исходные растворы разбавляют водой для ЛАЛ-теста до концентрации, при которой не обнаруживаются мешающие факторы растворителя. Установлено, что растворы этанола (5%) и диметилсульфоксида (2%) не обладают мешающими факторами в ЛАЛ-тесте [13].

Цель работы — разработать методику определения содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста в имплантатах на примере гормонального препарата с активным веществом гозерелин.

Для достижения цели необходимо было установить и апробировать подходы к определению БЭ в исследуемом объекте, предложить методику предварительной подготовки образцов для последующего определения содержания БЭ с помощью гел-трома теста и турбидиметрического кинетического метода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлся гормональный препарат пролонгированного действия, содержащий 3,6 мг гозерелина (рис. 1). Имплантат из полимерного материала в виде гибкого стержня длиной 12 мм цилиндрической формы белого цвета заключен в иглу одноразового шприца. Вспомогательные вещества в составе имплантата: сополимеры DL-молочной и гликолевой кислот.

Все используемые реактивы и материалы соответствовали требованиям ОФС.1.2.4.0006.15 «Бактериальные эндотоксины»¹⁰, не содержали определяемое количество БЭ и не оказывали влияния на результаты испытаний. Качество использованных



Рис. 2. Процедура экстракции бактериальных эндотоксинов с поверхности имплантата в водную среду

Fig. 2. Procedure for bacterial endotoxin extraction from the implant surface into an aqueous medium

реактивов и расходных материалов подтверждено сертификатами.

В первом случае для приготовления смыва три стержня помещали в апиrogenный флакон и добавляли 20 мл воды для ЛАЛ-теста (рис. 2). Процедуру экстракции выполняли в течение 1 ч на водяной бане при температуре 37 °С. Перемешивание проводили в начале и конце экстрагирования. По окончании процедуры экстракции имплантаты извлекали, смыв использовали в качестве испытуемого раствора. Рассчитывали предельную концентрацию БЭ в смыве по формуле (1):

$$C = \frac{20 \text{ ЕЭ/изд.} \times 3 \text{ изд.}}{20 \text{ мл}} = 3,0 \text{ ЕЭ/мл.}$$

Определяли БЭ в смыве с помощью набора реактивов для турбидиметрического кинетического теста (Charles River Endosafe), измерение степени мутности реакционной смеси проводили на автоматическом фотометре для микропланшетов (BioTek ELx808IU) со специальным программным обеспечением (Endoscan-V). Для построения калибровочной кривой готовили растворы контрольного стандарта эндотоксина (КСЭ) с концентрациями 5; 1; 0,2; 0,05 и 0,01 ЕЭ/мл. Положительный контроль смыва с концентрацией эндотоксина 0,5 ЕЭ/мл готовили, используя раствор КСЭ с концентрацией 5 ЕЭ/мл. Испытуемый раствор (смыв) перед определением БЭ дополнительно не разбавляли.

Во втором случае определение БЭ в растворе гозерелина выполняли в соответствии со схемой, представленной на рисунке 3. Для этого имплантат помещали в апиrogenный флакон с 10 мл диметилсульфоксида 99,5% (Sigma-Aldrich, кат. № D4540) и интенсивно перемешивали в течение 7–10 мин на вихревой мешалке до полного растворения стержня. Норму предельного содержания БЭ рассчитывали в соответствии с ОФС «Бактериальные

⁹ ОФС.1.2.4.0006.15 Бактериальные эндотоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.; 2018.

¹⁰ Там же.

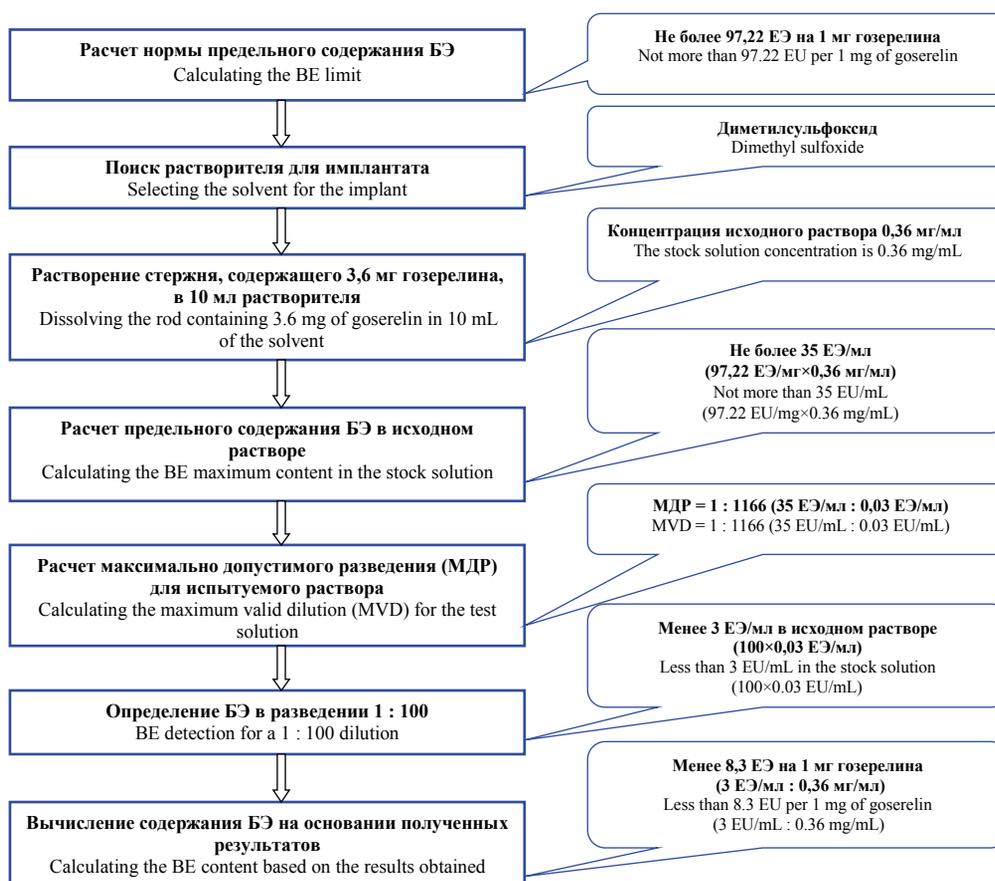


Рис. 3. Схема определения бактериальных эндотоксинов (БЭ) в растворенном имплантате с результатами исследований
Fig. 3. Flow chart for bacterial endotoxin (BE) detection in the dissolved implant, and the results of the study

эндотоксины»¹¹ и указаниями инструкции по медицинскому применению. Из исходного раствора с концентрацией гозерелина 0,36 мг/мл готовили испытуемый раствор в воде для ЛАЛ-теста (разведение 1 : 100). Содержание БЭ в испытуемом растворе оценивали с помощью реактивов для выполнения гель-тромб теста (Associates of Cape Cod, Inc.). Чувствительность используемого лизата амебоцитов (ЛАЛ-реактива) составляла 0,03 ЕЭ/мл (λ). Для проведения предварительного анализа «Мешающие факторы» готовили разведения КСЭ с концентрациями 2λ (0,06 ЕЭ/мл), λ (0,03 ЕЭ/мл), 0,5λ (0,015 ЕЭ/мл), 0,25λ (0,0075 ЕЭ/мл) как на воде для ЛАЛ-теста, так и на растворах имплантата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первом случае наличие БЭ оценивали в водном смыве имплантатов. Данная методика предусматривала испытание с учетом нормы «не более 20 ЕЭ/изделие»¹². Концентрацию БЭ в смыве определяли с помощью турбидиметрического кинетического теста как наиболее чувствительного метода. Результат составил «менее 0,01 ЕЭ/мл» или «менее 0,07 ЕЭ/изделие», что значительно ниже

установленной нормы предельного содержания БЭ. Значения коэффициента корреляции свидетельствовали о линейности полученных результатов. Содержание БЭ в положительном контроле смыва составило 75% от установленного значения и соответствовало критериям приемлемости, то есть находилось в диапазоне от 50 до 200% (табл. 1).

Второй вариант методики исследования основан на полном растворении имплантата и определении БЭ в полученном растворе препарата с известной концентрацией гозерелина. В качестве растворителя для имплантата использовали диметилсульфоксид. Возможность применения данного органического растворителя в ЛАЛ-тесте была подтверждена ранее [14]. С учетом пороговой пирогенной дозы, безопасной для человека при парентеральном введении (не более 350 ЕЭ), содержание БЭ в имплантате гозерелина при однократном подкожном введении не должно превышать 350 ЕЭ на 1 имплантат. В пересчете на активное вещество норма БЭ составила «не более 97,22 ЕЭ на 1 мг гозерелина».

Для подтверждения соответствия качества исследуемого имплантата по показателю

¹¹ Там же.

¹² Monograph (161) Medical devices — bacterial endotoxin and pyrogen tests. United States Pharmacopeia. 42nd ed. Rockville, MD; 2019.

Таблица 1. Учет результатов испытаний смыва турбидиметрическим кинетическим тестом

Table 1. Results of testing the extract by kinetic-turbidimetric method

Валидационный показатель Validation parameter	Критерии приемлемости Acceptance criteria	Результаты Results
Линейность Linearity	Коэффициент корреляции от -1,000 до -0,980 Correlation coefficient: from -1.000 to -0.980	-0,9992
	Наклон: от -0,400 до -0,100 Slope: from -0.400 to -0.100	-0,2762
	Отрезок, отсекаемый на оси Y: 2,500–3,500 Y-intercept: 2.500–3.500	2,8439
Отрицательный контроль (вода для ЛАЛ-теста) Negative control (LAL reagent water)	Менее концентрации эндотоксина, определяемой используемым методом Less than the endotoxin concentration determined by the test method used	<0,01
Устойчивость Robustness	Степень извлечения бактериальных эндотоксинов в положительном контроле образца: 50–200% Bacterial endotoxin recovery in the positive product control: 50–200%	75%

Таблица 2. Валидация установленного разведения раствора гозерелина с концентрацией 0,36 мг/мл

Table 2. Validation of the established dilution of the 0.36 mg/mL goserelin solution

Повторность № Replicate	Разведения контрольного стандарта эндотоксина Dilutions of the control standard endotoxin				Концентрация эндотоксина в конечной точке реакции, ЕЭ/мл Endotoxin concentration at the reaction endpoint, EU/mL	Среднее геометрическое значение концентрации эндотоксина, ЕЭ/мл Geometric mean endotoxin concentration, EU/mL	Отрицательный контроль (вода для ЛАЛ-теста) Negative control (LAL reagent water)	Испытуемый раствор Test solution
	2λ	λ	0,5λ	0,25λ				
в воде для ЛАЛ-теста in LAL reagent water								
1	+	+	–	–	0,03	0,03		
2	+	+	–	–	0,03			
в испытуемом растворе имплантата in the implant test solution								
1	+	+	–	–	0,03	0,04		
2	+	+	–	–	0,03			
3	+	–	–	–	0,06			
4	+	–	–	–	0,06			

Примечание. «+» — наличие геля, «–» — отсутствие геля.

Note. “+” —with gel, “–” —without gel.

«Бактериальные эндотоксины» было проведено исследование, демонстрирующее возможность выполнения анализа с помощью гель-тромб теста. Оценивали испытуемый раствор в разведении водой для ЛАЛ-теста 1 : 100, данное разведение в 11 раз меньше величины максимально допустимого разведения. Содержание БЭ в исследуемом образце составило менее 8,3 ЕЭ/мг гозерелина. При проведении предварительного анализа «Мешающие факторы» выполнена валидация установленного разведения раствора гозерелина с концентрацией 0,36 мг/мл (табл. 2). Чувствительность ЛАЛ-реактива, определенная с использованием разведений КСЭ в воде для ЛАЛ-теста, во всех опытах практически не отличалась от чувствительности ЛАЛ-реактива, определенной в серии разведений КСЭ в растворах имплантата. Это означает, что разведение 1 : 100 исходного раствора имплантата не ингибирует и не потенцирует реакцию гелеобразования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложено два различных подхода к определению пирогенных примесей в имплантатах, в соответствии с которыми разработаны методики оценки качества гормонального имплантата с активным веществом гозерелин по показателю «Бактериальные эндотоксины».

1. Для определения БЭ в смыве с поверхности препарата пробоподготовку рекомендуется проводить при температуре 37 °С в воде для ЛАЛ-теста в течение 1 ч. В соответствии с международными требованиями норма предельного содержания БЭ для смыва с поверхности имплантата должна составлять «не более 20 ЕЭ на изделие» и рассчитываться с учетом количества анализируемых имплантатов и объема воды для ЛАЛ-теста.

2. Для оценки содержания БЭ в пересчете на количество активного вещества в препарате предложено растворять имплантат в диметилсульфоксиде

и проводить определение БЭ в полученном растворе. Выбрано разведение исходного раствора имплантата, в котором не обнаруживается мешающее влияние растворителя на реакцию гелеобразования ЛАЛ-реактива с эндотоксином. Исходный раствор имплантата в диметилсульфоксиде следует разбавлять водой для ЛАЛ-теста не менее чем в 100 раз перед определением содержания БЭ.

Обе разработанные методики могут быть рекомендованы к внесению в нормативную документацию на гормональные имплантаты, так как позволяют определять БЭ в количествах, гарантирующих безопасное применение препарата.

Вклад авторов. *Н. П. Неугодова* — обоснование концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *О. В. Шаповалова* — планирование исследования, проведение сравнительного анализа, оформление и редактирование текста; *Г. А. Сапожникова* — получение первичных данных, их анализ и систематизация; *Е. О. Степанюк* — сбор данных литературы, написание текста.

Authors' contributions. *Natalia P. Neugodova*—substantiation of the study concept, approval of the final version of the paper for publication; *Olga V. Shapovalova*—planning of the study, performing comparative analysis, formatting and editing of the text; *Galina A. Sapozhnikova*—obtaining primary data, analysis and systematisation of the obtained data; *Ekaterina O. Stepanyuk*—literature review, writing of the text.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ouédraogo M, Semdé R, Somé TI, Ouédraogo M, Ouédraogo R, Henschel V, et al. Development of an *in vitro* endotoxin test for monolein-water liquid crystalline gel for use as an implant. *Trop J Pharm Res.* 2009;8(6):501–8.
- Сунь В, Чжан С, Ван Т, Лэн Г, Сунь К, Ли Ю, Ли В. Фармацевтические композиции микросфер гозерелина с пролонгированным высвобождением. Патент Российской Федерации № 2694901С2; 2014. [Sun V, Chzhan S, Van T, Sun K, Li Yu, Liu V. Pharmaceutical compositions of Goserelin microspheres with prolonged release. Patent of the Russian Federation No. 2694901C2; 2014 (In Russ.)]
- Бикбов ММ, Файзрахманов РР, Арслангареева ИИ, Салаватова ВФ, Павловский ОА. Особенности действия имплантата с дексаметазоном при окклюзии вен сетчатки. *Офтальмохирургия.* 2018;(2):46–50. [Bikbov MM, Fayzrakhmanov RR, Arslan-gareeva II, Salavatova VF, Pavlovsky OA. Action features of the implant with dexamethasone on indicators of retinal vein occlusions. *Oftal'mokhirurgiya = Ophthalmic Surgery.* 2018;(2):46–50 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2018-2-46-50>
- Пустотина ОА. Чистогестагенная имплантационная контрацепция (обзор международных клинических рекомендаций). *Медицинский Совет.* 2015;(XX):5–6. [Pustotina OA. Progestin-only implant contraception (a review of global clinical guidelines). *Meditinskii sovet = Medical Council.* 2015;(XX):5–6 (In Russ.)]
- Stewart SA, Domínguez-Robles J, Donnelly R, Larrañeta E. Implantable polymeric drug delivery devices: Classification, manufacture, materials, and clinical applications. *Polymers (Basel).* 2018;10(12):1379. <https://doi.org/10.3390/polym10121379>
- Rajgor N, Bhaskar V, Patel M. Implantable drug delivery systems: An overview. *Syst Rev Pharm.* 2011;2(2):91–5.
- Mazzotti F, Beuttler J, Zeller R, Fink U, Schindler S, Wendel A, et al. In vitro pyrogen test — a new test method for solid medical devices. *J Biomed Mater Res A.* 2007;80(2):276–82. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30922>
- Wallin RF. A practical guide to ISO 10993-11: Systemic Effects. *Medical Device and Diagnostic Industry Magazine,* July 1998. <https://www.mddionline.com/news/practical-guide-iso-10993-11-systemic-effects>
- Allen D, Clippinger A, Morefield S, Casey W, Ghosh C, Goode J, Brown J. Using the Monocyte Activation Test for medical devices. NICEATM poster: SOT 2019 Annual Meeting. <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/meetings/sot19/allen-poster-508.pdf>
- Borton LK, Coleman KP. Material-mediated pyrogens in medical devices: Applicability of the *in vitro* Monocyte Activation Test. *ALTEX.* 2018;35(4):453–63. <https://doi.org/10.14573/altex.1709221>
- Silva C, Oliveira C, Carneiro P, Marengo E, Mattos K, Almeida R, et al. Alternative methods for the detection of pyrogens in products and environment subject to public health surveillance: advances and perspectives in Brazil based on the international recognition of the Monocyte Activation. *Vigil Sanit Debate.* 2018;6(1):137–49. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.01082>
- Stang K, Fennrich S, Krajewski S, Stoppelkamp S, Burgener IA, Wendel HP, Post M. Highly sensitive pyrogen detection on medical devices by the monocyte activation test. *J Mater Sci: Mater Med.* 2014;25(4):1065–75. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-5136-6>
- Williams KL, ed. *Endotoxins. Pyrogens, LAL Testing and Depyrogenation.* 3rd ed. New York: CRC Press; 2007.
- Шаповалова ОВ, Долгова ГВ, Неугодова НП, Сапожникова ГА. Использование органических растворителей для определения показателя «Бактериальные эндотоксины» в фармацевтических субстанциях, не растворимых в воде. *Антибиотики и химиотерапия.* 2013;58(9–10):41–4. [Shapovalova OV, Dolgova GV, Neugodova NP, Sapozhnikova GA. Organic solvents for determination of bacterial endotoxin index in water-insoluble pharmaceutical substances. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy.* 2013;58(9–10):41–4 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Неугодова Наталья Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Neugodova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>
Шаповалова Ольга Владимировна, канд. фарм. наук. *Olga V. Shapovalova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0305-7769>
Сапожникова Галина Алексеевна. *Galina A. Sapozhnikova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0379-5980>
Степанюк Екатерина Олеговна. *Ekaterina O. Stepanyuk*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>

Статья поступила 22.09.2020

После доработки 24.03.2021

Принята к печати 31.05.2021

Article was received 22 September 2020

Revised 24 March 2021

Accepted for publication 31 May 2021