

yang berlebih tanpa mengosongkan bejana), tiga kali dengan *Larutan B* sebelum setiap penambahan histamin. Penambahan berurutan dibuat dengan interval waktu yang teratur sedemikian, sehingga terjadi relaksasi sempurna di antara dua penambahan (lebih kurang 2 menit). Tambahkan volume yang sama larutan *histamin dihidroklorida P* dengan kadar lebih rendah yang menimbulkan respons yang reproduktibel lebih kurang setengah dari respons dosis tinggi. Dosis ini dinyatakan sebagai “dosis rendah”. Lanjutkan penambahan secara teratur larutan histamin “dosis tinggi” dan “dosis rendah” dengan cara tersebut di atas, bergantian dengan enceran larutan uji dengan volume yang sama, sesuaikan kadar enceran larutan uji sedemikian sehingga menimbulkan kontraksi usus halus, jika ada lebih kecil dari respons yang disebabkan oleh histamin dosis tinggi. Tetapkan apakah terjadi kontraksi, jika ada, reproduktibel dan apakah respons kontraksi terhadap histamin “dosis tinggi” dan “dosis rendah” yang diberikan berikutnya tidak berubah. Hitung aktivitas zat uji dan nyatakan ekuivalensinya dalam mikrogram histamin basa dari pengenceran yang ditetapkan di atas. Jumlah yang diperoleh tidak melebihi jumlah yang tertera pada monografi.

Jika zat uji tidak menimbulkan kontraksi, buat larutan segar dengan penambahan histamin sesuai dengan jumlah maksimum yang dapat ditoleransi dalam monografi dan catat apakah kontraksi yang dihasilkan oleh sediaan dengan penambahan histamin sesuai dengan jumlah histamin yang ditambahkan. Jika tidak, atau jika kontraksi yang disebabkan zat uji tidak reproduktibel, atau jika respons berikutnya terhadap histamin “dosis tinggi” dan “dosis rendah” berkurang, hasil uji dinyatakan tidak absah dan lakukan *Uji Daya Hipotensif* <191>.

#### Larutan A

<i>Natrium klorida P</i>	160 g
<i>Kalium klorida P</i>	4,0 g
<i>Kalsium klorida anhidrat P</i>	2,0 g
<i>Magnesium klorida anhidrat</i>	1,0 g
<i>Natrium fosfat dibasa P</i>	50 mg
<i>Air untuk injeksi P</i> hingga	1000 mL

#### Larutan B

<i>Larutan A</i>	50 mL
<i>Atropin sulfat P</i>	0,5 mL
<i>Natrium bikarbonat P</i>	1,0 g
<i>D-Glukosa P</i>	0,5 g
<i>Air untuk injeksi P</i>	950 mL

*Larutan B* harus dibuat segar dan digunakan dalam waktu 24 jam.

#### UJI PIROGEN <231>

Uji pirogen dimaksudkan untuk membatasi risiko reaksi demam pada tingkat yang dapat diterima oleh pasien pada pemberian sediaan injeksi. Pengujian meliputi pengukuran kenaikan suhu kelinci setelah penyuntikan sediaan uji secara intravena dan ditujukan untuk sediaan yang dapat ditoleransi oleh kelinci percobaan pada dosis tidak lebih dari 10 mL per kg yang disuntikkan secara intravena dalam periode tidak lebih dari 10 menit. Untuk sediaan yang memerlukan penyiapan pendahuluan atau cara pemberian khusus, ikuti petunjuk tambahan yang diberikan pada masing-masing monografi atau, dalam hal antibiotik atau sediaan biologi petunjuk tambahan diberikan dalam ketentuan lain.

#### ALAT DAN PENGECER

Alat suntik, jarum dan alat gelas dibebaskan dari pirogen dengan pemanasan pada 250° selama tidak kurang dari 30 menit atau dengan metode lain yang sesuai. Perlakukan semua pengencer dan larutan untuk mencuci dan membilas peralatan atau alat suntik parenteral sedemikian rupa yang dapat menjamin alat tersebut steril dan bebas pirogen. Lakukan uji pirogen pada pengencer dan larutan untuk pencuci atau pembilas alat secara berkala. Bila digunakan Injeksi Natrium Klorida sebagai pengencer, gunakan larutan yang mengandung natrium klorida 0,9%.

#### REKAMAN SUHU

Gunakan alat pendeteksi suhu yang teliti seperti termometer klinik atau alat termistor atau alat sejenis yang telah dikalibrasi untuk menjamin ketelitian  $\pm 0,1^\circ$  dan telah diuji untuk penetapan bahwa pembacaan maksimum dapat dicapai kurang dari 5 menit. Masukkan alat pendeteksi suhu ke dalam rektum kelinci uji dengan kedalaman tidak kurang dari 7,5 cm dan setelah periode waktu tidak kurang dari yang ditetapkan sebelumnya, catat suhu tubuh kelinci.

#### HEWAN UJI

Gunakan kelinci dewasa yang sehat. Tempatkan kelinci satu ekor dalam satu kandang dalam ruangan dengan suhu yang seragam antara 20-23° dan bebas dari gangguan yang menimbulkan kegelisahan. Perbedaan suhu tidak lebih dari  $\pm 3^\circ$  dari suhu yang ditetapkan. Kelinci yang belum pernah digunakan untuk uji pirogen, adaptasikan kelinci tidak lebih dari tujuh hari dengan uji pendahuluan yang meliputi semua tahap yang tertera pada *Prosedur*, kecuali penyuntikan. Kelinci tidak boleh digunakan untuk uji pirogen lebih dari sekali dalam waktu 48 jam, atau sebelum 2 minggu untuk uji pirogen yang

menunjukkan kenaikan suhu  $0,6^{\circ}$  atau lebih, atau telah digunakan untuk uji sediaan yang dinyatakan pirogenik.

### PROSEDUR

Lakukan uji dalam ruang terpisah yang dirancang untuk pengujian pirogen dan pada kondisi lingkungan yang sama dengan ruang pemeliharaan hewan dan bebas dari gangguan yang menimbulkan kegelisahan. Kelinci tidak diberi makan selama pengujian. Boleh diberi minum setiap saat, tetapi terbatas. Jika termistor pengukur suhu rektum digunakan untuk pengujian, kelinci diletakkan dalam penyekap yang dapat menahan kelinci dengan leher yang longgar sehingga dapat duduk dengan bebas. Tetapkan suhu kontrol dari tiap kelinci tidak lebih dari 30 menit sebelum penyuntikan larutan uji. Suhu tersebut digunakan sebagai awal untuk penetapan setiap kenaikan suhu yang dihasilkan dari penyuntikan larutan uji. Dalam setiap kelompok kelinci uji, gunakan kelinci yang mempunyai perbedaan suhu kontrol antara satu dengan lainnya tidak lebih dari  $1^{\circ}$ , dan suhu kontrol setiap kelinci tidak boleh lebih dari  $39,8^{\circ}$ . Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, suntikkan 10 mL larutan uji per kg berat badan kedalam vena telinga setiap tiga kelinci, lakukan penyuntikan dalam waktu 10 menit. Larutan uji berupa sediaan yang perlu dikonsitusi sesuai etiket, atau bahan uji yang diperlakukan seperti tertera pada masing-masing monografi dan disuntikkan sesuai dosis tersebut. Untuk uji pirogen dari alat atau perangkat injeksi, gunakan cucian atau bilasan permukaan yang kontak dengan bahan yang diberikan secara parenteral, tempat penyuntikan atau jaringan tubuh pasien. Semua larutan uji harus terjamin bebas kontaminasi. Lakukan penyuntikan setelah larutan uji dihangatkan pada suhu  $37 \pm 2^{\circ}$ . Rekam suhu berturut-turut antara jam ke-1 dan ke-3 setelah penyuntikan dengan selang waktu 30 menit.

### INTERPRETASI HASIL DAN LANJUTAN

Setiap penurunan suhu dianggap nol. Sediaan memenuhi syarat apabila tidak ada satupun kelinci yang menunjukkan kenaikan suhu  $0,5^{\circ}$  atau lebih. Bila ada kelinci yang menunjukkan kenaikan suhu  $0,5^{\circ}$  atau lebih, lanjutkan uji menggunakan lima ekor kelinci lain. Sediaan memenuhi syarat bebas pirogen bila tidak lebih dari 3 dari 8 ekor masing-masing menunjukkan kenaikan suhu  $0,5^{\circ}$  atau lebih dan jumlah kenaikan suhu maksimum 8 kelinci tidak melebihi  $3,3^{\circ}$ .

### UJI REAKTIVITAS BIOLOGI SECARA IN-VITRO <241>

Uji berikut dirancang untuk menentukan reaktivitas biologik biakan sel mamalia setelah kontak dengan plastik elastomer dan bahan polimer lain yang kontak dengan penderita secara langsung atau tidak langsung, atau dengan ekstrak khusus yang dibuat dari bahan uji. Hal yang penting adalah menyediakan luas permukaan spesifik untuk ekstraksi. Jika luas permukaan spesimen tidak dapat ditentukan, gunakan 0,1 g elastomer atau 0,2 g plastik atau bahan lain untuk setiap mL cairan ekstraksi. Juga penting berhati-hati dalam penyediaan bahan-bahan tersebut untuk menghindari kontaminasi mikroba dan zat asing lain.

Tiga uji diuraikan di bawah ini: *Uji Difusi Agar*, *Uji Kontak Langsung*, dan *Uji Evaluasi*. Keputusan jenis uji atau jumlah uji yang dilakukan untuk menilai respons biologik potensial sampel atau ekstrak khusus tergantung dari bahan, produk akhir dan tujuan penggunaan. Faktor lain yang mungkin juga mempengaruhi kesesuaian sampel untuk suatu penggunaan khusus adalah komposisi polimer; prosedur pembuatan dan pembersihan; media kontak; tinta; perekat; absorpsi, adsorpsi dan permeabilitas pengawet; dan kondisi penyimpanan. Evaluasi terhadap faktor tersebut harus dilakukan dengan berbagai uji khusus tambahan sebelum menentukan bahwa produk yang dibuat dari suatu bahan khusus tepat untuk tujuan penggunaannya.

**Baku pembanding Bioreaksi Negatif BPFI; Bioreaksi Positif Padat BPFI; Ekstrak Bioreaksi Positif BPFI.**

**Penyiapan Biakan Sel** Buat biakan ganda sel fibroblas mamalia L-929 (ATCC cell line CCL1, NCTC klon 929) dalam media esensial minimum yang ditambah serum dan mempunyai kerapatan benih lebih kurang  $10^5$  sel per mL. Inkubasi biakan pada suhu  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}$  selama tidak kurang dari 24 jam dalam atmosfer karbon dioksida  $5\% \pm 1\%$ , sampai diperoleh lapisan tunggal sel dan kompak lebih dari 80%. Periksa di bawah mikroskop untuk memastikan biakan merupakan lapisan tunggal seragam dan hampir kompak. [Catatan Reprodusibilitas Uji Reaktivitas secara Biologi in-vitro tergantung pada kerapatan biakan sel yang seragam].

**Pelarut ekstraksi** Injeksi natrium klorida seperti yang tertera pada *Injeksi Natrium Klorida* mengandung natrium klorida 0,9%. Sebagai pengganti, dapat digunakan media biakan sel mamalia bebas serum atau media biakan sel mamalia yang ditambahkan serum. Penambahan serum digunakan bila ekstraksi dilakukan pada suhu  $37^{\circ}$  selama 24 jam.

#### Alat

**Otoklaf** Gunakan otoklaf yang dapat mempertahankan suhu  $121^{\circ} \pm 2^{\circ}$ , dilengkapi dengan termometer, pengukur tekanan, lubang ventilasi, rak yang cukup untuk menampung wadah uji di atas permukaan air dan sistem pendingin air yang akan