



Разработка и валидация методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением метода Култера (электрочувствительных зон)

А. А. Воропаев*, О. В. Фадейкина, Т. Н. Ермолаева, Д. С. Давыдов, Р. А. Волкова, Д. В. Шведов

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

Вода для инъекций является одним из самых распространенных растворителей для приготовления лекарственных форм для парентерального применения. Согласно Европейской фармакопее, для контроля на невидимые механические включения рекомендуется использование счетно-фотометрического метода и метода микроскопии. В Российской фармакопее XIII издания дополнительно предусмотрено применение метода Култера (электрочувствительных зон). В связи с этим актуальным является разработка методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций, основанной на методе Култера (далее — методика). В статье представлены результаты разработки и валидационных исследований характеристик методики: правильности, линейности разведений, промежуточной прецизионности, повторяемости при оценке количества частиц размером более 10 мкм. Результаты оценки невидимых механических включений, полученные с использованием разработанной методики на основе метода Култера, сопоставляли с результатами, полученными по методике на основе счетно-фотометрического метода. Правильность разработанной методики подтверждена статистической незначимостью отличий полученных результатов. Значения промежуточной прецизионности по фактору «время» (не более 14 %) и повторяемости (не более 15 %) не превысили принятого критерия приемлемости получаемых результатов, равного пределу допускаемой погрешности прибора при оценке счетной концентрации частиц в исследуемых образцах (20 %). Показана линейность разведений методики (коэффициент детерминации $R^2 = 0,999$). Результаты, полученные в ходе валидационных исследований методики, показывают принципиальную возможность применения метода Култера для оценки невидимых механических включений в воде для инъекций.

Ключевые слова: вода для инъекций; невидимые механические включения; метод Култера (электрочувствительных зон); счетно-фотометрический метод (метод светоблокировки)

Для цитирования: Воропаев АА, Фадейкина ОВ, Ермолаева ТН, Давыдов ДС, Волкова РА, Шведов ДВ. Разработка и валидация методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением метода Култера (электрочувствительных зон). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2018;18(2):98–105. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-98-105>

* Контактное лицо: Воропаев Андрей Андреевич; voropaev@expmed.ru

Development and Validation of a Procedure for Subvisible Particles Determination in Water for Injections by the Coulter Principle (Electrical Sensing Zone Method)

A. A. Voropaev*, O. V. Fadeikina, T. N. Ermolaeva, D. S. Davydov, R. A. Volkova, D. V. Shvedov

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

Water for injections is one of the most popular diluents used for preparation of parenteral dosage forms. The European Pharmacopoeia recommends two methods for the determination of subvisible particulate matter: Light Obscuration Particle Count Test and Microscopic Particle Count Test. The Russian Pharmacopoeia, 13th ed., additionally allows for the use of the Coulter principle (Electrical Sensing Zone method). Thus, a procedure had to be developed for subvisible particles determination in water for injections based on the Coulter principle (hereinafter — procedure). The article presents the results of development and validation of the procedure, i.e. the characteristics of accuracy, dilutional linearity, ruggedness in terms of the time factor, and repeatability for particles more than 10 µm in size. The results of subvisible particles determination obtained with the help of the developed procedure based on the Coulter principle were compared to the results obtained with the help of the light obscuration particle count test. The accuracy of the developed procedure was supported by the statistical insignificance of the differences between the obtained results. The values of ruggedness in terms of the time factor (NMT 14 %) and repeatability (NMT 15 %) did not exceed the established acceptance criterion which is equal to the acceptable limit of the instrument error for particle count in the tested samples (20 %). The dilutional linearity of the procedure was demonstrated (coefficient of determination $R^2 = 0.999$). The results obtained during the validation studies support the possibility of using the Coulter principle for the assessment of subvisible particles in water for injections.

Key words: water for injections; subvisible particulate matter; Coulter principle (electrical sensing zone method); light obscuration particle count test

For citation: Voropaev AA, Fadeikina OV, Ermolaeva TN, Davydov DS, Volkova RA, Shvedov DV. Development and Validation of a Procedure for Subvisible Particles Determination in Water for Injections by the Coulter Principle (Electrical Sensing Zone Method). *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2018;18(2):98–105. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-98-105>

Contact person: Andrey A. Voropaev; voropaev@expmed.ru

Вода для инъекций является одним из самых распространенных растворителей для приготовления лекарственных форм для парентерального применения [1]. Получают воду для инъекций из воды питьевой методами дистилляции, ионного обмена, обратного осмоса или комбинацией этих методов. При этом в воде для инъекций практически не остается ионов и электропроводность, в зависимости от температуры, составляет от 2,1 до 3,1 мкСм/см [2]. Для контроля на невидимые механические включения используют счетно-фотометрический метод и метод микроскопии [3]. Российской фармакопеей дополнительно предусмотрено применение метода электрочувствительных зон (метод Култера) [4]. В связи с этим актуальным является разработка методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций, основанной на методе Култера (далее — методика).

Существенное ограничение метода Култера заключается в том, что измерения необходимо проводить в растворе электролита [5]. Изотонический раствор Изотон II, который производитель оборудования рекомендует использовать для корректной работы прибора, характеризуется удельной электропроводностью (σ), равной 17,17 мСм/см, и удельным сопротивлением (ρ), равным 58,8 кОм/см. Вода для инъекций, имеющая электропроводность в 6–8 тысяч раз меньшую, чем электропроводность Изотона, не является электролитом (неэлектропроводный материал) и непосредственное измерение в ней количества и размера частиц методом Култера невозможно. Проведенные нами ранее экспериментальные исследования показали, что для расширения возможностей применения этого метода возможно разведение испытуемого образца раствором электролита. При этом даже разведение в 2–6 раз не приводило к уменьшению точности результатов измерений: коэффициент вариации не превышал 3 % [6].

Цель работы — разработать и провести валидационные исследования методики, основанной на методе Култера, пробоподготовки и анализа воды для инъекций методом электрочувствительных зон.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить параметры разведения воды для инъекций раствором натрия хлорида;
- оценить линейность разведений методики;
- оценить характеристики точности методики: правильность, промежуточную прецизионность по фактору «время», повторяемость.

Материалы и методы

Материалы

Для разработки и проведения валидационных исследований методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением метода Култера (электрочувствительных зон) были использованы: вода для инъекций производства ООО «Гротекс», Россия; суспензия стандартных латексных частиц N.I.S.T. (National Institute of Standards and Technology) Coulter[®] CC Size Standarts с заданными размерами (20,6 мкм) производства фирмы Beckman Coulter[™], США; натрий хлорид химически чистый (содержание основного компонента 99,0–100,5 %), производства Sigma-Aldrich,

США; шприцевой фильтр Minisart с диаметром пор 0,2 мкм, производства Sartorius Stedim biotech, Франция.

Приготовление модельных суспензий частиц в воде для инъекций. Готовили три модельные смеси латексных частиц в воде для инъекций. К 200 мл воды для инъекций добавляли 1 мл суспензии стандартных латексных частиц размером 20,6 мкм (модельная смесь № 1, концентрация частиц 3000–4000 шт./мл). Затем тщательно перемешивали с использованием магнитной мешалки. Из полученной суспензии отбирали 20 мл и добавляли к 180 мл воды для инъекций и снова перемешивали с использованием магнитной мешалки (модельная смесь № 2, концентрация частиц 300–400 шт./мл). Данную процедуру повторяли еще один раз (модельная смесь № 3, концентрация частиц 30–40 шт./мл). В результате были получены смеси латексных частиц десятикратного разведения. Данные смеси использовали в качестве модельных при валидации методики. Каждый образец модельной смеси делили на две части, которые исследовали методом Култера и счетно-фотометрическим методом.

Приготовление раствора натрия хлорида 9 %. К 50 мл воды для инъекций добавляли 4,5 г натрия хлорида. Перемешивали с использованием магнитной мешалки. Затем приготовленный раствор фильтровали с использованием шприцевого фильтра с размером пор 0,2 мкм.

Методы

Метод электрочувствительных зон (метод Култера).

Принцип метода Култера основан на измерении импульсов электрического напряжения, возникающих при прохождении частицы через отверстие (апертура) в непроводящей перегородке (апертурная трубка). Импульс напряжения обусловлен увеличением сопротивления между электродами в тот момент, когда частица, увлекаемая потоком токопроводящей жидкости, проходит сквозь апертуру («электрочувствительная зона»). Величина импульса пропорциональна объему частицы.

Валидационные исследования методики проводили с использованием подготовленных модельных смесей, используя анализатор частиц Multisizer 4e и программное обеспечение Multisizer 4e. Согласно Государственной фармакопее (ГФ) Российской Федерации XIII издания использовали апертурную трубку размером 100 мкм, количество проб — 3 [4].

Метод счетно-фотометрический. Счетно-фотометрический метод (светоблокировки) основан на принципе поглощения частицами проходящего света. Действие приборов, которые реализуют этот метод, основано на прохождении исследуемого раствора через кювету, расположенную между источником света и фотодиодом. Частицы, проходящие через кювету, пересекают луч света и снижают начальную интенсивность первоначального потока. Амплитуда сигнального импульса пропорциональна площади проекции частицы в плоскости, перпендикулярной лучу [7].

Исследования проводили с использованием счетчика частиц в жидкости серии HIAC 9703+ и программы PharmSpec 3.2, лицензии на фармакопейные тесты Европейской фармакопее. Испытания проводили согласно методике, описанной в Европейской фармакопее (метод В): в пробе объемом не менее 25 мл определяли число частиц размером, равным или

превышающим 10 и 25 мкм. Проводили 4 измерения. При этом не принимали в расчет результаты определения для первой пробы и рассчитывали среднее число частиц в испытуемом образце [3].

Статистическую обработку проводили, рассчитывая среднеарифметическое значение, выборочную дисперсию (S^2), выборочное стандартное (среднеквадратическое) отклонение (SD), относительное стандартное отклонение (CV , коэффициент вариации) результатов измерений количества частиц с применением пакета статистических программ Excel.

Однородность полученных результатов оценивали с применением критерия Кохрена (G). Для каждого образца рассчитывали выборочную дисперсию (S^2). Величину $G_{расч}$ рассчитывали как отношение наибольшей дисперсии для данной выборки к сумме всех дисперсий по формуле:

$$G_{расч} = \frac{(S^2)_{max}}{\sum_{i=1}^L S_i^2}$$

и сравнивали ее с критическим значением для критерия Кохрена — $G_{расч}^*$, который выбирали в зависимости от трех основных параметров:

- а) заданной доверительной вероятности $P \geq 0,95$;
- б) числа степеней свободы $f = 3 - 1 = 2$;
- в) количества измерений (L) в серии, по которым рассчитывают сумму в знаменателе, равного 3 [8].

Оценку правильности определения счетной концентрации частиц размером более 10 мкм разработанной методикой в сравнении со счетно-фотометрическим методом проводили с помощью t -критерия Стьюдента для уровня значимости $p \leq 0,05$, числа степеней свободы $df = 2(n - 1) = 2(6 - 1) = 10$ [8].

Результаты и обсуждение

Разработка методики

Оптимальные для проведения испытаний характеристики электропроводности изотонического раствора обеспечиваются содержанием в нем 0,9 % натрия хлорида. Поэтому для создания условий, при которых возможно проведение испытаний воды для инъекции, необходимо довести содержание натрия хлорида до 0,9 % в исследуемом объеме. Объем пробы приняли равным 20 мл, так как он соответствует стандартному объему кюветы, выпускаемой производителем оборудования.

Имея исходный 9 % раствор натрия хлорида, мы рассчитали, что для создания 0,9 % раствора натрия хлорида в пробе воды для инъекций объемом 20 мл необходимо взять 19 мл воды для инъекций и 1 мл 9 % раствора натрия хлорида. Электрическое сопротивление в апертуре подготовленного таким способом образца составило 27,0 кОм, что соответствует оптимальному для реализации методики диапазону (5–40 кОм) [9]. При анализе результатов необходимо учитывать разведение и пересчитывать количество частиц на исходный объем.

Ранее нами было показано, что оптимальное количество параллельных измерений одной пробы составляет 3 (коэффициент вариации 2,7 %), так как при увеличении количества измерений, например до 14, увеличивается и коэффициент вариации (13,6 %), что объясняется гравитационным оседанием частиц за время проведения анализа [10].

Описание разработанной методики. Общий объем пробы 20 мл; пробоподготовка: к 19 мл воды для инъекций добавляют 1 мл 9 % раствора натрия хлорида. Проводили измерение трех аналитических проб объемом 1 мл, вычисляли среднее значение количества частиц размерами более 10 мкм. Результаты изме-

рения анализировали, учитывая фактор разведения. Для этого в настройках прибора вводили соотношение раствора электролита и пробы (коэффициент предварительного разведения).

Валидационные исследования разработанной методики

Исследования методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций (на основе метода Култера) проводили в сравнении со счетно-фотометрическим методом на модельных суспензиях, содержащих частицы размером 20,6 мкм (мода). Учитывали результаты оценки количества частиц размером более 10 мкм. Из каждой модельной смеси для проведения испытаний готовили по три образца.

Аналитический диапазон методики определяется размером используемой апертурной трубки и составляет 2–60 % от ее диаметра. При использовании апертурной трубки 100 мкм, как указано в ГФ XIII издания, аналитический диапазон составляет 10–60 мкм.

В ходе исследований оценивали следующие характеристики методики: правильность, линейность разведений, повторяемость, промежуточную прецизионность по фактору «время». В соответствии с методикой поверки анализаторов размера частиц Multisizer предел допускаемой погрешности при оценке счетной концентрации составляет $\pm 20\%$ [11]. Это значение приняли как критерий приемлемости результатов, получаемых с помощью разработанной методики.

Оценка правильности методики. Правильность разработанной методики оценивали в сравнении с методикой на основе счетно-фотометрического метода. Результаты оценки правильности представлены в таблице 1.

Как следует из данных, приведенных в таблице 1, значения коэффициента Стьюдента, рассчитанные по экспериментальным данным для модельных смесей № 1, 2, 3, составили $t_{эксп1} = 1,511$, $t_{эксп2} = 0,780$, $t_{эксп3} = 0,894$ соответственно, не превышают $t_{табл}$ ($p \leq 0,05$; $df = 10$) = 2,228. Из этого следует, что различие результатов подсчета количества частиц нормируемого размера, полученных методикой, разработанной на основе метода Култера, и методикой на основе счетно-фотометрического метода, статистически незначимы. Следовательно, правильность методики, оцененная в сравнении с методикой на основе счетно-фотометрического метода, является удовлетворительной.

Оценка линейности разведений. Результаты определения количества частиц при оценке правильности были использованы для определения линейности разведений методики. Результаты представлены на рисунке 1.

Коэффициент детерминации (R^2), рассчитанный по результатам определения количества частиц размером больше 10 мкм в модельных взвешях, приготовленных десятикратным разведением, как разработанной методикой, так и методикой, основанной на счетно-фотометрическом методе, составил 0,999, что свидетельствует о линейности разведений разработанной методики.

Оценка повторяемости методики. Однородность результатов анализа при реализации методики при измерении одного образца оценивали с применением критерия Кохрена, сравнивая результаты измерений отдельных аналитических проб ($n = 3$), полученные в ходе испытания каждого из трех образцов для каждой модельной смеси.

Повторяемость характеризовали значением относительного стандартного отклонения (коэффициент вариации), рассчитанного по результатам определения количества частиц в модельных смесях в условиях повторяемости.

Результаты оценки однородности полученных результатов и повторяемости методики представлены в таблице 2.

Таблица 1. Результаты оценки правильности определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением методики на основе метода Култера (электрочувствительных зон) в сравнении с методикой на основе счетно-фотометрического метода

Мо- дельная смесь	Показатель	Методика на основе метода Култера			Методика на основе счетно-фотометрического метода			Значение критерия Стьюдента	
		количество частиц, шт./мл			количество частиц, шт./мл			$t_{расч. i}$	$t_{табл}$ ($p \leq 0,05$; $df = 10$)
		X	X_{cp} ($n=6$)	$CV, \%$	X	X_{cp} ($n=6$)	$CV, \%$		
№ 1	Количество частиц ≥ 10 мкм	3833	3330	14	3935	3577	13	1,511	2,228
		3200			3753				
		2957			3042				
		4438			3428				
		3884			4201				
		3692			3100				
№ 2	Количество частиц ≥ 10 мкм	403	453	14	413	431	10	0,780	2,228
		430			399				
		527			482				
		386			457				
		432			373				
		542			460				
№ 3	Количество частиц ≥ 10 мкм	45	44	11	40	40	1	0,894	2,228
		48			40				
		39			40				
		48			39				
		36			40				
		45			40				

Примечание. $t_{расч. i}$ — значение критерия Стьюдента, рассчитанное по экспериментальным данным для модельных взвесей № 1, 2, 3 соответственно; $t_{табл}$ — табличное значение критерия Стьюдента.

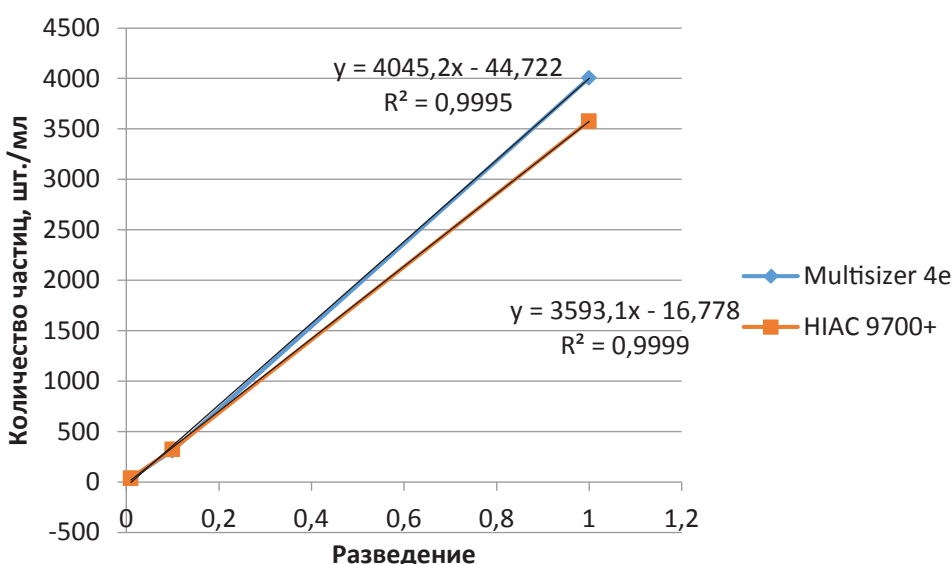


Рис. 1. Результаты определения количества частиц размером более 10 мкм в модельных взвешах в зависимости от разведения. Multisizer 4e — результаты, полученные по разработанной методике, HIAC 9700+ — результаты, полученные с помощью методики на основе счетно-фотометрического метода.

Таблица 2. Результаты подсчета количества частиц размером более 10 мкм с целью оценки однородности результатов и повторяемости методики

Мо- дельная смесь	№ об- раза	№ изме- рения	Количество частиц размером ≥ 10 мкм в единичном опыте, шт./мл									
			методика на основе метода Куллера				методика на основе счетно-фотометрического метода					
			X	X_{cp} (n = 3)	SD (CV, %) (n = 3)	$CV_{повтК}$ (n = 3)	X	X_{cp} (n = 3)	SD (CV, %) (n = 3)	$CV_{повтСФ}$ (n = 3)		
№ 1	1	1	4340	4438	87 (1,97)	11,9	3952	3935	17 (0,43)	13,2		
		2	4465				3936					
		3	4508				3918					
	2	1	4211	3884	327 (8,42)	11,9	3765	3753	43 (1,16)			
		2	3885				3679					
		3	3557				3716					
	3	1	3605	3507	140 (4,00)	11,9	3030	3042	12,5 (0,41)			
		2	3557				3041					
		3	3347				3055					
	$G_{табл} = 0,93$			$G_K = 0,80$			$G_{СФ} = 0,81$					
	№ 2	1	1	370	372	2,2 (0,59)	15,0	310	292		17,7 (6,05)	8,5
			2	374				275				
3			373	292								
2		1	339	347	9 (2,59)	15,0	338	334	3,6 (1,08)			
		2	346				330					
		3	357				334					
3		1	279	276	5,5 (2,98)	15,0	340	345	6,1 (1,78)			
		2	280				341					
		3	270				352					
$G_{табл} = 0,93$			$G_K = 0,70$			$G_{СФ} = 0,86$						
№ 3		1	1	37	38	1,8 (4,88)	10,7	34	34	0,5 (1,36)	7,9	
			2	37				34				
	3		40	33								
	2	1	40	46	3,2 (7,59)	10,7	45	40	5,1 (12,89)			
		2	57				39					
		3	41				35					
	3	1	41	39	2,8 (7,18)	10,7	35	38	4,9 (13,6)			
		2	36				35					
		3	40				44					
	$G_{табл} = 0,93$			$G_K = 0,89$			$G_{СФ} = 0,51$					

Примечание. $G_{табл}$ — табличное значение критерия Кохрена ($f = 2; L = 3$); $G_K, G_{СФ}$ — значения критерия Кохрена, рассчитанные по экспериментальным данным для разработанной методики и методики на основе счетно-фотометрического метода; $CV_{повтК}, CV_{повтСФ}$ — значение коэффициента вариации, характеризующего повторяемость методики и методики на основе счетно-фотометрического метода, рассчитанного с использованием среднеарифметического значения по трем пробам (значения приведены в столбцах 5 и 9).

Из представленных в таблице 2 данных следует, что значения критерия Кохрена, рассчитанные по экспериментальным данным для методики (G_k) и методики, основанной на счетно-фотометрическом методе ($G_{\text{фот}}$), для всех вариантов модельных смесей не превышают табличного $G_{\text{табл}} = 0,93$. Следовательно, результаты определения количества частиц методиками, основанными на разных методах, являются однородными и все полученные результаты можно использовать для оценки повторяемости.

Относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации), которое характеризует повторяемость методики, составило от 10,7 до 15 %, что не превышает принятый критерий приемлемости (20 %) получаемых с использованием методики результатов и позволяет считать полученные результаты удовлетворительными.

Оценка промежуточной прецизионности методики. Промежуточную прецизионность оценивали по коэффициенту вари-

ации результатов, полученных в разные дни. Проводили по три группы измерений в трех повторностях в образцах модельных смесей, подготовленных, как представлено в разделе «Материалы и методы» (Приготовление модельных суспензий частиц в воде для инъекций). Результаты представлены в таблице 3.

Как следует из приведенных в таблице 3 данных, значения коэффициента вариации, характеризующие внутрилабораторную прецизионность методики, составили от 4 до 15 % и не превышают принятого нами критерия приемлемости результатов (20 %). Целесообразно продолжение исследований промежуточной прецизионности методики.

Значения характеристик методики определения невидимых механических включений на основе метода Култера и методики на основе счетно-фотометрического метода, полученные по результатам статистической обработки данных при $P \geq 0,95$, приведены в таблице 4.

Таблица 3. Результаты подсчета количества частиц размером более 10 мкм с целью оценки промежуточной прецизионности методики

Факторы промежуточной прецизионности		Методика на основе метода Култера			Методика на основе счетно-фотометрического метода		
модельная смесь	№ опыта	количество частиц, шт./мл		CV, %	количество частиц, шт./мл		CV, %
		X	$X_{\text{cp}} \pm SD$		X	$X_{\text{фот}} \pm SD$	
№ 1	1	4438,0	4005 ± 387	9,7	3935,1	3577 ± 472	13
		3884,0			3753,1		
		3692,0			3042,1		
	2	3833,0	3330 ± 452	14	3271,3	3108 ± 143	5
		3200,0			3057,0		
		2957,0			2998,0		
№ 2	1	371,9	332 ± 50	15	344,5	324 ± 28	9
		347,0			334,0		
		276,5			292,3		
	2	402,5	420 ± 15	4	412,5	431 ± 44	10
		430,2			399,7		
		426,7			482,0		
№ 3	1	45,6	40 ± 5	10	39,7	36 ± 3	9
		37,9			33,8		
		39,0			34,6		
	2	44,7	44 ± 5	11	39,7	40 ± 0,23	1
		48,3			39,7		
		38,6			40,1		

Таблица 4. Значения показателей точности методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций при оценке количества частиц размером более 10 мкм

Характеристика	Оцениваемый показатель	Методика на основе метода Култера	Методика на основе счетно-фотометрического метода
Промежуточная прецизионность	Коэффициент вариации, %	10–14	1–13
Повторяемость	Коэффициент вариации, %	10,7–15,0	7,9–13,2
Аналитический диапазон	Диапазон измеряемых частиц, мкм	10–60	10–100

Результаты, полученные в ходе валидационных исследований методики, показывают принципиальную возможность применения метода Култера для оценки невидимых механических включений в воде для инъекций.

К недостаткам методики относятся необходимость проведения дополнительной пробоподготовки, длительное время анализа, более высокий коэффициент вариации результатов измерений в сравнении с методикой на основе счетно-фотометрического метода.

Более высокий коэффициент вариации результатов при использовании методики на основе метода Култера можно объяснить более длительным временем анализа, за которое частицы успевают осесть на дно в результате гравитационного воздействия. При анализе трех аналитических проб по 1 мл при небольшом объеме образца (20 мл) достигается приемлемая точность.

Выводы

Разработана методика определения невидимых механических включений в воде для инъекций на основе метода Култера. Общий объем исследуемого образца 20 мл. Пробоподготовка: к 19 мл воды для инъекций добавляют 1 мл 9 % раствора натрия хлорида. Объем аналитической пробы равен 1 мл. Количество аналитических проб равно трем. Расчет среднего результата проводят на основе трех измерений с пересчетом на 1 мл исходного образца.

Результаты валидации методики, основанной на методе Култера, проведенной на модельных смесях, подтверждает возможность ее использования для определения невидимых механических включений в воде для инъекций. Значения показателей точности методики (промежуточной прецизионности, повторяемости) не превышают предел допустимой погрешности прибора для оценки счетной концентрации. Результаты, полученные в ходе валидационных исследований методики, показывают принципиальную возможность применения метода Култера для оценки невидимых механических включений в воде для инъекций.

Информация об отсутствии конфликта интересов.

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

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

1. Пятигорская НВ, Самылина ИА, Сапожникова ЭА, Митькина ЛИ, Лавренчук РА, Багирова ВЛ. Вода для инъекций. *Фармация* 2010;(5):3–7. [Pyatigorskaya NV, Samylyna IA, Sapozhnikova EA, Mitkina LI, Lavrenchuk RA, Bagirova VL. Water for Injection. *Pharmacy* 2010;(5):3–7 (In Russ.)]
2. Фармакопейная статья 2.2.0019.15 Вода для инъекций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 3, М.; 2015. [Monograph 2.2.0019.15 Water for Injections. The State Pharmacopoeia of Russian Federation 13th ed. V. 3. Moscow; 2015 (In Russ.)] Available from: <http://pharmacopoeia.ru/fs-2-2-0019-15-voda-dlya-inektsij/>
3. 2.9.19. Particulate Contamination: Sub-Visible Particles. *European Pharmacopoeia*. 8th ed. European Directorate for the

Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). 2014. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep800>

4. Общая фармакопейная статья 1.4.2.0006.15 Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2, М.; 2015. [General Monograph 1.4.2.0006.15 Invisible Mechanical Inclusions in Dosage Forms for Parenteral Use. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation 13th ed. V. 2. Moscow; 2015 (In Russ.)] Available from: <http://www.femb.ru/feml>
5. Новик ЕС, Гунар ОВ. Метод электрочувствительных зон для определения невидимых механических включений в лекарственных препаратах для парентерального применения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2012;(1):58–61. [Novik ES, Gounar OV. Electrical Sensing Zone Method for Determination of Invisible Particulate Matters in Parenteral Medicines. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medical Products* 2012;(1):58–61 (In Russ.)]
6. Воропаев АА, Фадейкина ОВ, Ермолаева ТН, Давыдов ДС, Кудашева ЭЮ. Оценка возможности применения метода Култера (электрочувствительных зон) для определения невидимых механических включений в лекарственных препаратах крови человека отечественного производства. *Антибиотики и химиотерапия* 2017;62(7–8):36–41 [Voropaev AA, Fadeikina OV, Ermolaeva TN, Davydov DS, Kudasheva EYu. The Assessment of the Possibility to Use the Coulter's Method (Electrosensitive Zones) for Identification of Invisible Particulate Matter in Human Blood-Derived Products Produced in Russia. *Antibiotics and Chemotherapy* 2017;62(7–8):36–41 (In Russ.)]
7. Доля ВГ, Товмасын ЕК, Гризодуб АИ, Георгиевский ВП. Контроль невидимых механических включений в лекарственных средствах для парентерального применения: изменения в статье Государственной Фармакопеи Украины. *Фармаком 1-2005*;39–46 [Dolya VG, Tovmasyan EK, Gryzodub AI, Georgiyevskiy VP. The Control of Sub-Visible Particulate Contamination in Parenteral Preparations: Changes in the General Monograph of the State Pharmacopoeia of Ukraine. *Pharmacom 1-2005*;39–46 (In Russ.)]
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1998. [Glantz S. *Biomedical Statistics*. Moscow: Practica; 1998 (In Russ.)]
9. *Coulter Principle Short Course*. Available from: <http://molbiol.ru/forums/index.php?act=Attach&type=post&id=238647>
10. Научное обоснование и разработка методологии экспертизы качества, эффективности и безопасности препаратов крови. Отчет о НИР (заключительный). ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; рук.: Бондарев ВП, Борисевич ИВ; отв. исполн.: Иванов ВБ, Кудашева ЭЮ и др. М.; 2017. 1260 с. № ГР 115111740010. Деп. в ЦИТИС 18.01.2018, № ИКРБС АААА-Б18-218011890074-9. [Scientific Substantiation and Development of a Methodology for the Examination of the Quality, Efficacy and Safety of Blood Products. Research Report (Final). FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia; Advisors Bondarev VP, Borisevich IV; Prepared by: Ivanov VB, Kudasheva EYu. Moscow; 2017. 1260 p. No SR 115111740010. Deposited in CITIS on 18.01.2018, No IKRBS АААА-Б18-218011890074-9 (In Russ.)]
11. МН-242-1382-2013 «Анализаторы размеров частиц Multisizer. Методика поверки», утв. ГЦИ СИ ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» 30 мая 2013 г.

Об авторах

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

Воропаев Андрей Андреевич. Эксперт 2 категории лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества МИБП

Фадеекина Ольга Васильевна. Главный технолог Испытательного Центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук

Ермолаева Татьяна Николаевна. Эксперт 1 категории лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества МИБП

Давыдов Дмитрий Сергеевич. Начальник лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук

Волкова Рауза Асхатовна. Начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП, д-р биол. наук

Шведов Дмитрий Владимирович. Заместитель начальника Испытательного Центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук

Поступила 14.03.2018

Принята к публикации 26.04.2018

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Andrey A. Voropaev. 2nd Professional Category Expert of the Laboratory of Bacteriophages and Normal Flora Preparations with a Collection of Microorganisms of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality

Olga V. Fadeikina. Chief Technologist of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

Tatyana N. Ermolaeva. 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Bacteriophages and Normal Flora Preparations with a Collection of Microorganisms of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality

Dmitriy S. Davydov. Head of the Laboratory of Bacteriophages and Normal Flora Preparations with a Collection of Microorganisms of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

Rauza A. Volkova. Head of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Testing Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Doctor of Biological Sciences

Dmitriy V. Shvedov. Deputy Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences

Received 14 March 2018

Accepted 26 April 2018