

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТИЦ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Д-р Рольф Кляйне, компания Fluid Systems Partners GmbH

Статья публикуется с разрешения журнала Cleanroom Technology ([www.cleanroom-technology.co.uk](http://www.cleanroom-technology.co.uk))

Перевод Семеновой Е.Ю.

Д-р Рольф Кляйне обсуждает вопрос определения содержания частиц в растворах и рассматривает требования к автоматизированным системам.

Растворы для парентерального введения – это растворы фармакологически активных веществ в очищенной воде (ОВ) или воде для инъекций (ВДИ). ВДИ получают из водопроводной воды путем ее очистки и последующей дистилляции. Препараты в виде растворов путем инъекции или инфузии вводятся непосредственно в венозный кровоток, поэтому содержание в растворе частиц и любых пирогенов является потенциально опасным. Твердые частицы размером  $>50$  мкм оседают в легких, частицы среднего размера ( $>10$  мкм) проходят через систему легочных капилляров очень медленно, а мелкие частицы размером  $<10$  мкм задерживаются в печени и селезенке, где их атакуют фагоциты. Потенциальная опасность заключается в блокадах, агрегации эритроцитов, местных раздражениях и образовании антител. Поэтому все парентеральные препараты должны анализироваться на содержание частиц. С 1 января 2002 г. введена обязательная проверка на не-

видимые невооруженным глазом частицы всех препаратов для парентерального введения, даже для выпускаемых в большой фасовке, которые по некоторым фармакопеям (например, британской) могли раньше контролироваться методом детекции видимых частиц.

## Счетчики частиц

Требования к анализу парентеральных растворов на содержание частиц устанавливаются национальными фармакопеями. Существуют различные тесты для определения видимых ( $>50$  мкм) и «невидимых» ( $>10$  мкм) частиц. В настоящее время единственным официально признанным способом определения невидимых частиц является использование оптических счетчиков частиц. Они имеют датчик частиц (рис. 1), который методом затухания измеряет рассеиваемый отдельными частицами свет. При этом луч света, предпочтительно лазерный, проходит через стеклянную проточную ячейку и попадает на расположенный

по другую сторону ячейки фотоэлемент. Попадая на частицу, свет рассеивается во всех направлениях и поэтому не достигает фотоэлемента. Таким образом, каждая частица вызывает затухание света, амплитуда которого соответствует ее эффективной площади рассеяния.

Счетчик частиц должен иметь волнометрический пробоотборник, который обеспечивает необходимую скорость прохождения жидкости через датчик и контролирует начало и конец подсчета частиц в заданном объеме жидкости. Наибольшую точность при этом обеспечивают шприцевые пробоотборники. Кроме того, необходимо электронное счетное устройство, которое по калибровочной кривой соотносит высоту импульсов сигнала с размером частиц и учитывает их по нужному каналу, а также компьютер для хранения результатов, параметров измерения и пользовательский интерфейс для ввода параметров, индикации хода измерения и данных. В новой системе фирмы RION (рис. 2) все компоненты смонтированы в единый компактный прибор, который получил название ALL-IN-ONE (все в одном). Достоинством этой системы является то, что источник данных, их хранение, а также визуализация данных объединены в одном блоке.

## Фармакопеи

К основным национальным фармакопеям относятся USP25 <788> для США, JP14 для Японии и EP3 (EP, 3-е изд., Дополнение 2000, глава 2.9.19) для Европейского Союза. USP25 и EP3 вступили в действие с 1 января 2002 г. В связи с расширением международной торговли стала необходимой гармонизация, в ходе которой основные национальные требования относительно размеров частиц и их допустимого числа были приведены в соответствие друг с другом. На сегодняшний день раз-

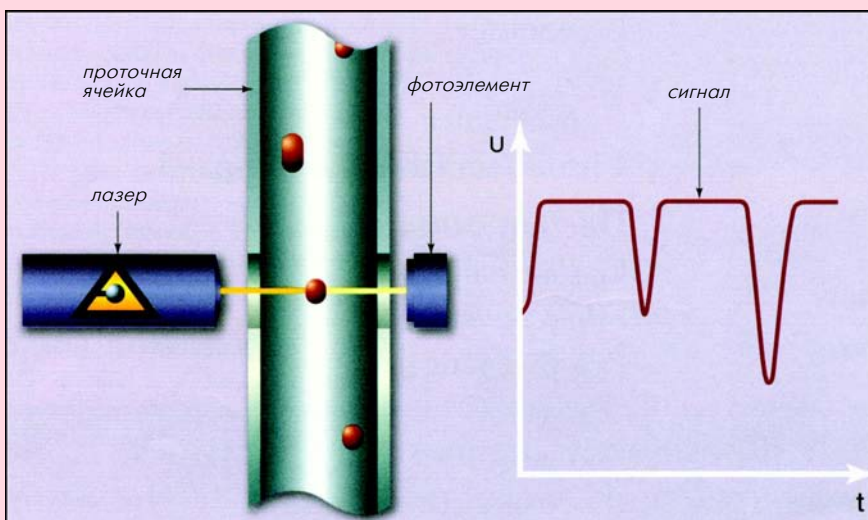


Рис. 1. Принцип работы счетчика частиц

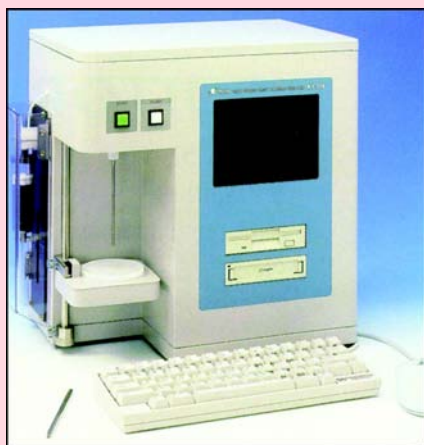


Рис. 2. Счетчик частиц в инъекционных препаратах, модель KI-04, фирма RION

личия остаются только в определениях объема контейнеров (табл. 1). Так, USP и по-прежнему относят флаконы объемом 100 мл к мелкодозированным инъекционным препаратам (МДИП), в то время как по JP они являются крупнодозированными инъекционными препаратами (КДИП).

Также были гармонизированы процедуры измерения, хотя некоторые различия все еще сохраняются (табл. 2). По требованиям USP и JP подсчет частиц должен проводиться для трех аликвот объемом не менее 5 мл, причем первое измерение считается промывкой от остатков предыдущего образца и его результаты не учитываются, а оценка производится по двум последним измерениям. Подсчету подлежат частицы >10 мкм и >25 мкм, возможен учет частиц и других размеров. Приведенные в таблице 1 показатели предельно допустимого числа частиц различны для контейнеров малого (МДИП) и большого (КДИП) объема. Для КДИП определяется число частиц в 1 мл, а для МДИП – в контейнере в целом. Если предельно допустимую концентрацию частиц для КДИП умножить на объем контейнера, то расчетное число частиц в контейнере будет гораздо меньше допустимого. Для МДИП установлены достаточно высокие предельные величины, поскольку при малом объеме удельная площадь поверхности контейнера больше и необходимо учитывать возможность попадания частиц стекла в раствор при открывании контейнера. Предельные величины, установленные для МДИП, распространяются также и на растворы стерильных лиофилизированных порошков, а EP3 допускает большее содержание частиц.

USP и JP предусматривают «объединение» проб. При анализе МДИП объемом <25 мл для получения минимального объема образца в 20 мл, как требует USP, необходимо слить в один чистый контейнер не менее 10 контей-

неров анализируемого препарата. В JP говорится просто о числе контейнеров, необходимым для получения минимального объема образца в 25 мл.

Перед объединением МДИП необходимо вымыть не только контейнеры, но и пробки и другие укупоривающие компоненты очищенной водой. В таблице 3 приведены допустимые пределы и процедура измерения при проверке чистоты. По EP по результатам измерения пяти аликвот по 5 мл суммарное количество частиц размером >10 мкм в 25 мл должно быть не более 25. По USP и JP суммируются результаты

измерения двух аликвот по 5 мл, причем по USP суммарное количество частиц размером >10 мкм в 10 мл должно быть не более 10, а по JP – в 2 раза меньше. Таким образом, по любому из этих стандартов чистота контейнера должна быть не хуже, чем 1 частица размером >10 мкм на 1 мл.

Параметры измерения для вышеописанных анализов должны программироваться в каждом конкретном случае в зависимости от объема дозирования и от используемой фармакопеи, что требует от измерительной системы гибкости.

Таблица 1.

Классификация образцов и предельное содержание частиц по основным фармакопеям

Тип препарата	Фармакопея	Объем контейнера (мл)	□		Объем, для которого установлен предел
			10 мкм	25 мкм	
КДИП	USP25	>100	25	3	1 мл
	EP 3 (Тест А)	>100			
	JP1 4	≥100			
МДИП	USP25	≤100	6000	600	контейнер
	EP 3 (Тест В)	≤100			
	JP1 4	<100			
	USP25	□100			
	EP 3 (Тест С)	≤100			
	JP1 4	<100			

Таблица 2.

Процедура измерения

	USP25	JP1 4	EP3
Число повторов (аликвот)	≥3	≥3	≥4
Объем аликвоты (мл)	□5	□5	≥5
Число предварительных измерений	1	1	1
Учитываемые измерения	2, 3	2, 3	2, 3, 4

Таблица 3.

Процедура измерения и предельное содержание частиц при проверке чистоты контейнера

	USP25	JP1 4	EP3
Анализируемый объект	Флакон	Очищенная вода	Флакон
Число измерений	3		5
Объем аликвоты (мл)	5		5
Число предварительных измерений	1		0
Учитываемые измерения	2+3		1+2+3+4+5
Предельное содержание частиц			
>=10 мкм	≤10/10 мл	≤5/10 мл	≤25/25 мл
>=25 мкм	□2/10 мл	□2/10 мл	

## Стандартизация системы

Во избежание расхождения результатов при определении концентрации частиц в одном и том же препарате с использованием систем различных производителей, спроектированных, испытанных и калиброванных по разным стандартам или процедурам, в USP25 и JP14 делается упор на стандартизацию системы. Это объясняется большими расхождениями результатов измерений, которые имели место более 12 лет назад при использовании счетчиков частиц с источником белого света, которые отличались низкой разрешающей способностью и чувствительностью. В современных системах применяются лазерные диоды, которые позволяют легко добиться соответствия фармакопейным требованиям. В таблице 4 приведены требования к измерительным системам: разрешение датчика должно быть менее 10% (при измерении суспензии микросфер из полистиролового латекса (PSL) размером 10 мкм), объемная точность – менее 5%, а точность определения объема – не менее 5%. Первым элементом стандартизации системы по USP и JP является тест на правильность подсчета, который может проводиться регулярно или при подозрении на ошибку. Процедура измерения и интерпретация результатов теста на правильность подсчета описаны в таблице 5. USP продает PCRS-стандарт (прослеживаемый до NIST), представляющий собой суспен-

зию латексных микросфер (PSL) диаметром 15 мкм в воде. Концентрация частиц указывается на этикетке флакона и составляет от 3000 до 5000 частиц на миллилитр. JP рекомендует продаваемую JSR CRS-суспензию частиц диаметром 10 мкм с концентрацией 1000 частиц на миллилитр +10%. Если датчик не проходит тест на правильность подсчета, то он подлежит проверке, ремонту и повторной калибровке. При проведении теста на правильность подсчета один из каналов устанавливается на такой размер частиц, чтобы все сигналы были заведомо выше и с высокой вероятностью регистрировались по этому каналу (по USP на 10 мкм при использовании 15-мкм PSL, а по JP на 5 мкм при использовании 10-мкм PSL).

Квалификация системы включает также другие проверки, такие как тест на соотношение и на разрешение. Тест на соотношение предусмотрен только USP. При этом используются два канала (>10 мкм и >15 мкм), причем второй канал устанавливается на истинный размер PSL-частиц (который отличается от номинального диаметра в 15 мкм). По первому каналу учитываются все частицы, а по второму – около половины. При нарушении калибровки система не проходит тест на соотношение. Предлагаемый USP набор для этого теста состоит из четырех флаконов по 25 мл, в двух из которых находится очищенная вода («фон»), а в двух других – су-

спензия PSL-частиц в очищенной воде («образец»). Результаты измерения фона вычитают из результатов измерения образца. Это позволяет нивелировать эффект старения образца при росте водорослей и т.п., которое развивается одинаково во всех флаконах. Гарантированный срок хранения PCRS-образцов – 6 месяцев, но в прохладных условиях они сохраняются и дольше.

Разрешение датчика – это относительное расширение размерного спектра монодисперсных частиц, которые теоретически должны иметь одинаковый диаметр, в результате неравномерного освещения ячейки и помех. На самом деле PSL-частицы не являются полностью монодисперсными, т.е. их диаметр находится в рамках определенного диапазона, и отклонение от средней величины описывается коэффициентом вариации (CV). Для хороших частиц CV составляет около 1%. Датчики частиц измеряют эти монодисперсные PSL-частицы с CV от 2 до 10%. Разрешение датчика равно квадратному корню из разницы CV результатов измерения и самих частиц. И по USP, и по JP для определения разрешения используются PSL диаметром 10 мкм.

Для калибровки счетчиков частиц используют микросферы из полистиролового латекса. Калибровку проводят как минимум для тех размеров частиц, которые используются при проведении анализов, теста на правильность подсчета и проверки разрешения. Для качественной калибровки рекомендуется использовать частицы 6-10 разных размеров. Концентрация суспензии должна быть существенно ниже предела концентрации для датчика, который составляет 10000 частиц на миллилитр. По требованиям USP концентрация должна составлять от 1000 до 5000 частиц на литр, а по JP – только 1000 частиц на мл. Периодичность калибровки – 6 месяцев по USP и 12 месяцев по JP. PCRS/CRS-тест должен проводиться не реже чем после каждой калибровки, а желательнее чаще. Таковы фармакопейные требования. С точки зрения производителей приборов, достаточно ежегодной калибровки.

**Таблица 4.**

Требования к измерительным системам

	USP25	JP14	EP3
Принцип измерения	Ослабление света	Ослабление света	Затенение
Максимальная концентрация	При 10% потере совпадения	Не регламентируется	Не регламентируется
Разрешение датчика	≤10% при 10 мкм	≤10% при 10 мкм	
Точность дозирования	Менее 5% (весовое определение); любой объем	Менее 5% (весовое определение); объем 10 мл	
Точность скорости потока	Указывается производителем		

**Таблица 5.**

Фармакопейные требования к тесту на правильность подсчета

Фармакопея	Размер PSL-микросфер (мкм) в суспензии	Размер (мкм)	Counts	Counts sample (s)	Evaluation blank (B)	Ожидаемый результат	В случае несоответствия
USP25	15	≥10	CS10	CB10	CS10- CB10	См. этикетку на флаконе	Провести техобслуживание
		≥15	CS15	CB10	CS15- CB15	Требуется только для определения соотношения	
					Соотношение = CS10/C S15	См. этикетку на флаконе	
JP14	10	≥5	CB5		CS5		

## Соблюдение требований при использовании системы KL04

Система KL04 соответствует фармакопейным требованиям к системам подсчета частиц. Система состоит из датчика, шприцевого пробоотборника и компьютера, смонтированных в одном корпусе. Система позволяет задать программы измерения (процедуру измерения и предельные величины) для любых образцов и фармакопей и вызывать их за считанные секунды, обеспечивая быстрый переход от одного препарата к другому.

Система сама проводит проверку рабочих характеристик, в ходе которой измеряются разрешение датчика, уровень помех, правильность определения размера и правильность подсчета. Правильность дозирования, которая также заложена в фармакопее, измеряется отдельно во время валидации системы, весовым методом. Для проверки правильности объема нужен шприцевой пробоотборник и электронные весы для измерения объема образца. Проверка рабочих характеристик связана с параметрами измерения и калибровочной кривой, а пользователь самостоятельно задает периодичность этой проверки; по истечении заданного срока система сообщает пользователю о необходимости проведения теста. Проверка рабочих характеристик занимает около 15 минут, а калибровка с использованием частиц 10 разных размеров – около 2-3 часов.

При проведении программы калибровки измеряется средняя высота импульса сигнала для заданного числа размеров частиц, для чего используется метод «дифференциального половинного подсчета» в соответствии с фармакопеями (USP и JP), и после интерполирования калибровочной кривой задаются пороговые величины для каналов.

Измерение при помощи KL04 может проводиться по 20 каналам в диапазоне от 1 до 100 мкм при условии, что для этого диапазона есть калибровочные данные (экстраполирование не допускается), с указанием предельной концентрации частиц для каждого канала

измерения. Программы измерения (проведение анализа, проверка рабочих характеристик, калибровка) автоматизированы и могут легко осуществляться самим пользователем при наличии PSL-стандартов размеров для калибровки и суспензий для PCRS/CRS-теста на правильность подсчета.

## 21 Свод федеральных постановлений США (21CFR), часть 1

Система KL04 разработана также в соответствии с новым руководством FDA – 21CFR, часть 1 «Электронные записи и электронные подписи», – которое требует, чтобы электронные записи (ЭЗ) и соответствующие электронные подписи (ЭП) были достоверны, надежны и в целом эквивалентны записям на бумаге и ручным подписям. Это требование распространяется на все создаваемые, изменяемые, ведущиеся, архивируемые, восстанавливаемые и передаваемые электронные записи. В смысле этой директивы KL04 является замкнутой системой, доступ к которой контролируется сотрудниками, отвечающими за содержание хранящихся ЭЗ. Путем валидации они должны продемонстрировать, что система точна, надежна, устойчиво работает и в состоянии распознать недействительные или измененные ЭЗ. Последнее достигается использованием «отпечатков пальцев» при каждом действии, в результате чего система при помощи криптографических методов генерирует 16-значный код, электронно связанный с соответствующей ЭП. Таким образом, система является источником точных, полных и поддающихся проверке копий всех ЭЗ на магнитных или бумажных носителях. Доступ к системе имеют только уполномоченные пользователи. Ответственный за управление работой операторов представитель администрации может создавать и уничтожать имена пользователей и пароли или полностью блокировать доступ определенных пользователей к системе.

Время и дата всех действий (измерений, проверки рабочих характеристик,

калибровки, ввода или изменения параметров измерения) регистрируется. Все измененные ЭЗ отличаются от исходных номером версии, поэтому все более ранние версии доступны для проверки. Такой контроль изменений обеспечивает полную прослеживаемость при аудите.

ЭЗ содержит полное имя (имя и фамилию) вошедшего в систему пользователя, дату и время электронной подписи, а также расшифровку действия (измерение, проверка рабочих характеристик, калибровка, установка параметров измерения и т.п.). Электронная подпись (ЭП) содержит два идентификатора, полное имя и пароль. Она электронно связывается с соответствующей ЭЗ. Эта связь не может быть отредактирована, стерта, скопирована или передана пользователем.

Сразу после действия ЭЗ записываются на жесткий диск центрального процессора; их следует ежедневно копировать на магнитную ленту. В случае инспекции эта магнитная лента, являющаяся местом постоянного хранения оригинальных данных, восстанавливается, при помощи системы предъявляется проверяющему и сравнивается с хранящимися в других местах распечатками и копиями. Система может быть включена в локальную сеть через Internet. Введя свое имя и пароль, пользователь может войти в систему и просмотреть или скопировать находящиеся на жестком диске данные. Исходная база данных остается в KL04. Система может быть подключена к любому локальному или сетевому принтеру. Формат распечаток создается системой, распечатки подписываются оператором и менеджером. Распечатки содержат всю информацию, необходимую для идентификации электронных записей.

## Заключение

На рынке впервые появился счетчик частиц, отвечающий фармакопейным требованиям к таким системам, а также требованиям 1 части 21 Свода федеральных постановлений США (21CFR). Пользователи могут быть уверены в правильности и оригинальности своих данных.



Технология чистоты становится понятной, если Вы читаете наш журнал – источник информации по основным направлениям в обеспечении технологической чистоты и контроля микрозагрязнений.

Годовая подписка через редакцию (4 номера) составляет 1 тыс. руб. (в т.ч. НДС).

По всем вопросам Вы можете обращаться в редакцию.