

**РЕЗУЛЬТАТИ 13 РАУНДА ПРОГРАМИ ПРОФЕСІЙНОГО
ТЕСТУВАННЯ ЛАБОРАТОРІЙ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**РЕАКЦІЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ НА ІОН НАТРІЮ ТА
ФОСФАТ-ІОН ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ
ДЕКСАМЕТАЗОНУ НАТРІЮ ФОСФАТУ**

**ДМІТРИЄВА МАРИНА, К. ФАРМ. НАУК,
ЗАВ. СЕКТОРА З РОЗРОБКИ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ ППТ
ТЕЛ. +38 (057) 7190602
DMITRIEVA@PHUKR.KHARKOV.UA
WWW.SPHEU.ORG**

28 березня 2017, м. Київ

МЕТА ТЕСТУВАННЯ

- забезпечення отримання достовірних результатів при ідентифікації дексаметазону натрію фосфату по іону натрію та фосфат-іону у лабораторіях контролю якості ЛЗ фармацевтичної галузі;
- надання учасникам необхідної інформації для виявлення проблем і удосконалення їх роботи при ідентифікації субстанції за якісними реакціями на іони та функціональні групи

ЗАДАЧИ ТЕСТУВАННЯ

- ідентифікувати іон натрію та фосфат-іон у тестових зразках (ТЗ) у відповідності до вимог загальної статі 2.3.1. «Реакції ідентифікації на іони і функціональні групи» ДФУ/Ph.Eur.;
- надати результати шляхом заповнення форми протоколу.

МЕТОДИКА ВИПРОБУВАННЯ

- Тестування було проведено за методикою показника Ідентифікація F монографії ДФУ/Ph.Eur. «Дексаметазон натрію фосфат».
- Методика показника передбачає проведення аналізу у відповідності до вимог загальної статті ДФУ / Ph. Eur. 2.3.1 «Реакції ідентифікації на іони і функціональні групи».
- Додатково у тестовому завданні було наведено уточнену редакцію методу а) ідентифікації іону натрію, відповідно до редакційних змін внесених у Доповнення 1 до ДФУ 2-го видання (ДФУ 2.1):
 - «а) 0.1 г випробовуваної субстанції розчиняють у 2 мл *води R*. До одержаного розчину або до 2 мл розчину, зазначеного в монографії, додають 2 мл розчину 150 г/л *калію карбонату R* і нагрівають до кипіння; осад не утворюється. До розчину додають 4 мл *калію піроантимонату розчину R* і нагрівають до кипіння, потім охолоджують у крижаній воді і, якщо необхідно, потирають внутрішні стінки пробірки; утворюється **щільний** осад білого кольору».

ТЕСТОВІ ЗРАЗКИ

- В якості
 - ▣ ТЗ 1 атестована субстанція дексаметазону,
 - ▣ ТЗ 2 – дексаметазону натрію фосфат

У результаті атестації встановлено:

- 1. ТЗ 1 не відповідає вимогам фармакопейної монографії «Дексаметазон натрію фосфат» за показником Ідентифікація F:
 - ▣ реакція ідентифікації на іон натрію негативна;
 - ▣ реакція ідентифікації на фосфат-іон негативна.
- 2. ТЗ 2 відповідає вимогам фармакопейної монографії «Дексаметазон натрію фосфат» за показником Ідентифікація F:
 - ▣ реакція ідентифікації на іон натрію позитивна;
 - ▣ реакція ідентифікації на фосфат-іон позитивна.

ТЕСТОВІ ЗРАЗКИ

В процесі атестації встановлено високу вірогідність отримання хибнопозитивних результатів при ідентифікації іону натрію у ТЗ 1, а саме, при проведенні реакції (а) на іон натрію при додаванні *калію піроантимонату розчину Р*, нагрівання до кипіння і охолодження у крижаній воді у пробірці з ТЗ 1 може утворюватися незначна кількість нещільного осаду білого кольору, що можна прийняти за позитивну реакцію на натрій, однак осад, отриманий при ідентифікації іонів натрію у пробірці з ТЗ 2 більш щільний і утворюється у трохи більшій кількості.

КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ УЧАСНИКІВ

- Оцінювання учасників проводили за результатами ідентифікації фосфат-іону, а тестування за ідентифікацією іону натрію розглядали як міжлабораторний експеримент з метою оцінити відтворюваність методики та її результатів, а також якість виконання процедури у лабораторіях фармгалузі України.

Визначено такі критерії оцінювання результатів тестування:

- **Учасники, що позитивно ідентифікували фосфат-іон у ТЗ 2 та отримали негативні результати ідентифікації фосфат-іону у ТЗ 1, отримали задовільні результати тестування.**
- **Учасники, що позитивно ідентифікували фосфат-іон у ТЗ 1, або отримали негативні результати ідентифікації фосфат-іону у ТЗ 2 отримали незадовільні результати тестування.**

КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ УЧАСНИКІВ

Оцінювали якість результатів, отриманих учасниками, тобто дотримання фармакопейних вимог, а саме вимог загальної статті ДФУ / Ph. Eur. 2.3.1 «Реакції ідентифікації на іони і функціональні групи», а також вимог належної лабораторної практики.

РЕЗУЛЬТАТИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ІОНУ НАТРІЮ ТА ФОСФАТ-ІОНУ У ТЕСТОВИХ ЗРАЗКАХ

Код лабораторії	ТЗ 1		ТЗ 2		Результат тестування
	Результат ідентифікації іонів натрію	Результат ідентифікації фосфат-іонів	Результат ідентифікації іонів натрію	Результат ідентифікації фосфат-іонів	
2, 11,20,21,22,23, 24,26,30, 37, 38	негативно	негативно	позитивно	позитивно	задовільний
1, 5, 8, 12, 14, 15, 29, 31, 32, 35 36, 39, 40,	позитивно	негативно	позитивно	позитивно	задовільний
28, 33	негативно	негативно	негативно	позитивно	задовільний
34	**	негативно	**	позитивно	задовільний
4	позитивно	ПОЗИТИВНО	позитивно	позитивно	незадовільний
6	негативно	ПОЗИТИВНО	негативно	позитивно	незадовільний
10	негативно	ПОЗИТИВНО	негативно	позитивно	незадовільний

Задовільні результати тестування отримали 27 учасників (90 %)

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Результати тестування 11 учасників з 30 повністю збігаються з результатами, отриманими при атестації (негативні результати реакції ідентифікації на іон натрію і фосфат-іон для ТЗ 1 та позитивні результати реакції ідентифікації на іон натрію і фосфат-іон для ТЗ 2).

Учасники під кодами 4, 6, 10 отримали незадовільні результати тестування, позитивно ідентифікував фосфат-іон у ТЗ 1.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

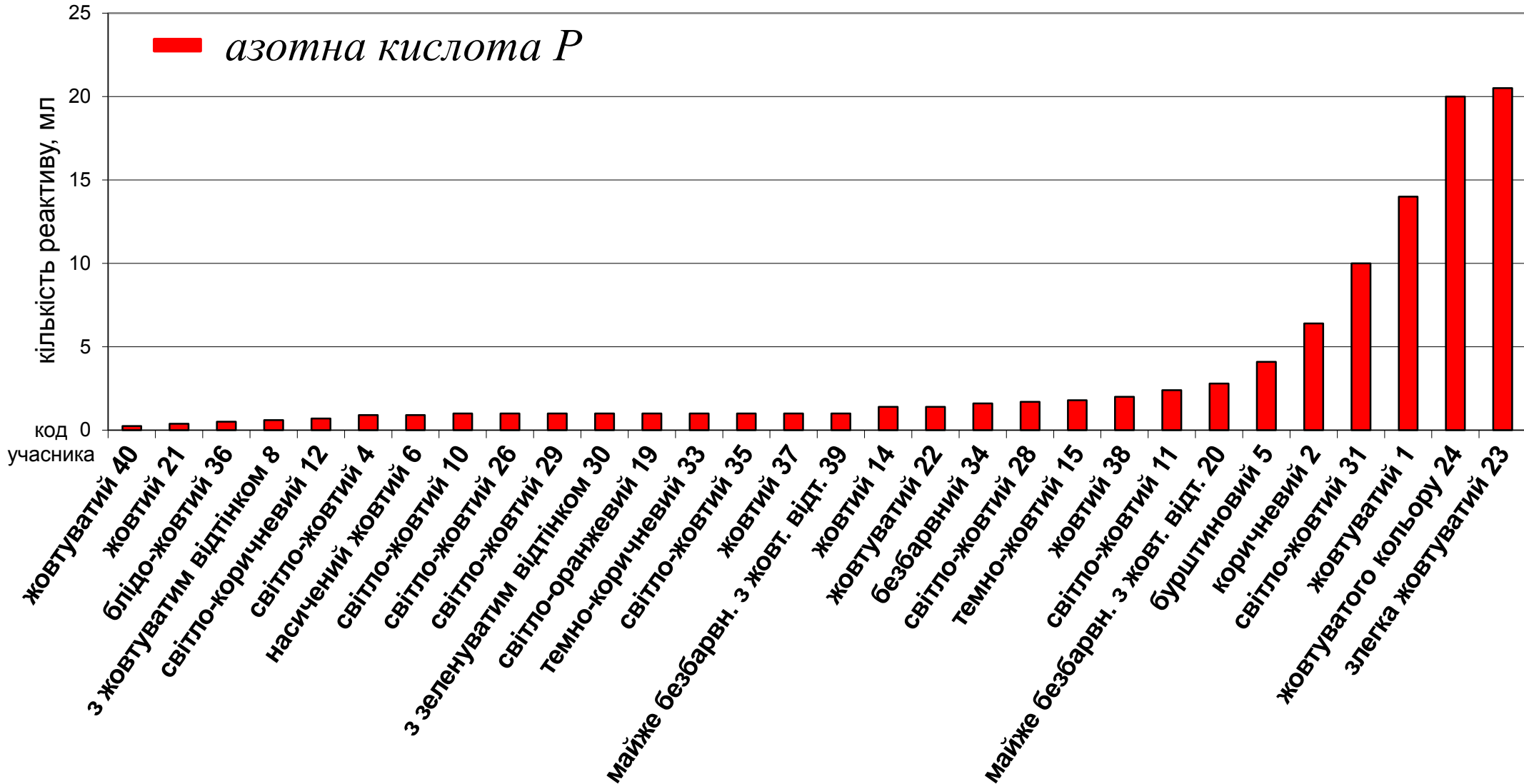
Пробопідготовка

Від якості проведення операції пробопідготовки значним чином залежать результати випробувань ідентифікації.

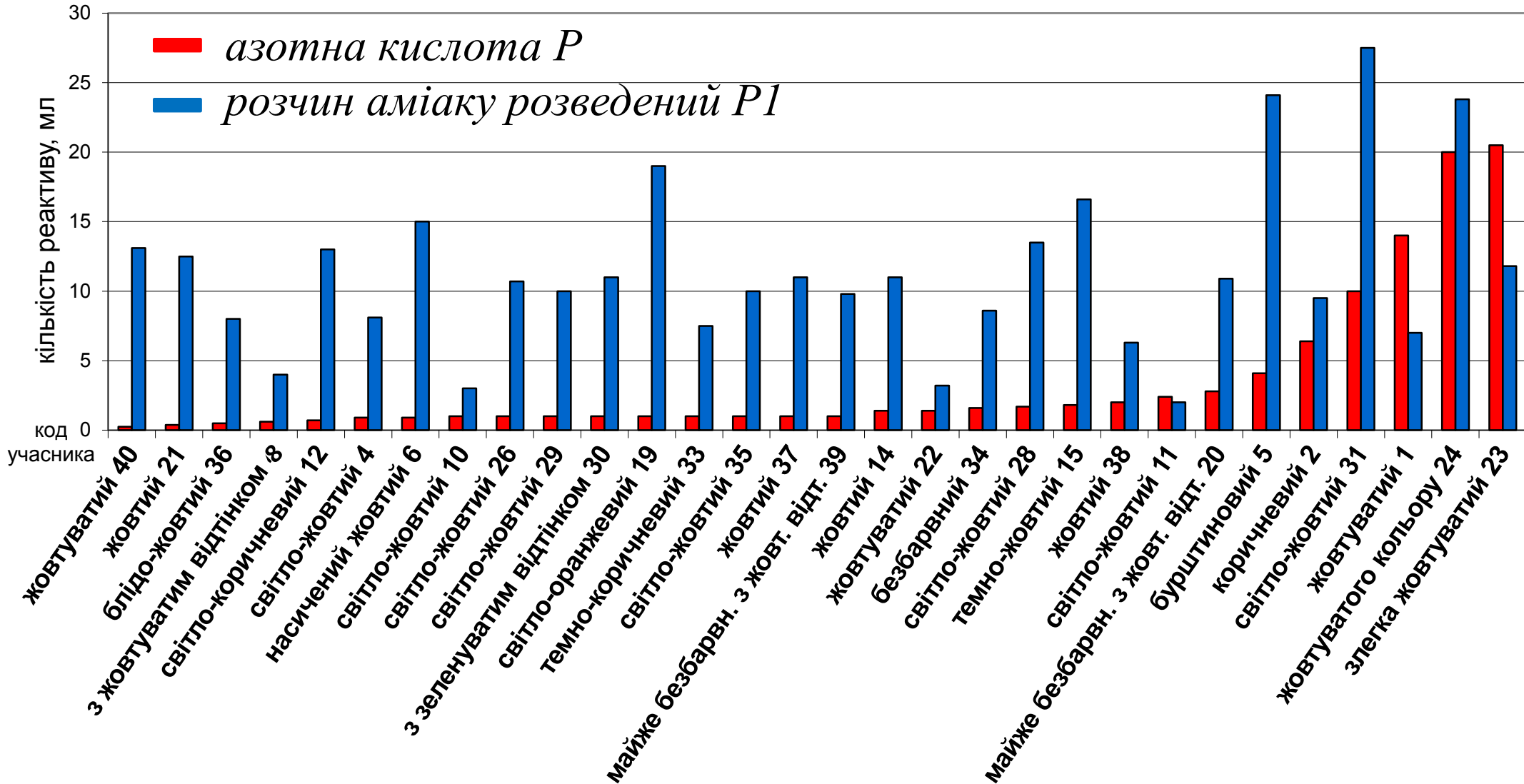
При аналізі даних учасників щодо пробопідготовки виявлено значні відмінності у об'ємах реагентів, що додаються, та у кольорі одержаних розчинів для подальших випробувань.

Це свідчить, як про недостатню стандартизацію методики пробопідготовки, так і про невідповідності у проведенні пробопідготовки учасниками тестування.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК



ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК



ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Пробопідготовка

Ще одним не стандартизованим параметром процедури пробопідготовки, що може впливати на властивості одержаного розчину, є **спосіб нагрівання** розчину.

Більшість лабораторій використовували **електричну плитку**, що здатна забезпечити необхідну температуру пробопідготовки та є безпечною у використанні в умовах лабораторії, ще низка учасників використовували **піщану баню**, що також забезпечує необхідну температуру та рівномірність нагріву. Але деякі учасники зазначили використання **газового та спиртового пальника**, які є джерелом відкритого полум'я та небезпечні у використанні в лабораторіях, а учасник під кодом 5 використовував **киплячу водяну баню**, що не може забезпечити необхідної температури нагріву для процесу окиснення речовин.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на фосфат-іон

ФОСФАТИ (ОРТОФОСФАТИ)

б) До 1 мл розчину, зазначеного в монографії, додають 2 мл *молібденованадієвого реактиву Р* і перемішують; з'являється жовте забарвлення.

Реакція, відкрита G. Mission в 1908 році, знайшла широке застосування у кількісному визначенні фосфору та фосфатів.

Природа речовини, що утворюється не повністю з'ясована і у різних посиланнях надається як кислота, комплексна сполука або сіль.

Одне з посилань дає наступну її формулу: $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot \text{NH}_4\text{VO}_3 \cdot 16\text{MoO}_3$

Органічні іони можуть утворювати комплекс з молібдатом.

При усуненні цих потенційних перешкод хибнопозитивний результат реакції ідентифікації практично унеможлиблюється.

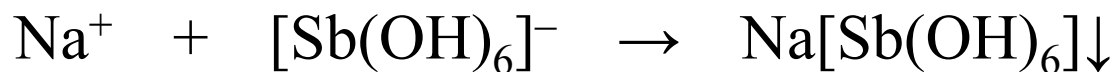
ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на іон натрію

НАТРІЙ

а) 0.1 г випробовуваної субстанції розчиняють у 2 мл води *P*. До одержаного розчину або до 2 мл розчину, зазначеного в монографії, додають 2 мл розчину 150 г/л калію карбонату *P* і нагрівають до кипіння; осад не утворюється. До розчину додають 4 мл калію піроантимонату розчину *P* і нагрівають до кипіння, потім охолоджують у крижаній воді і, якщо необхідно, потирають внутрішні стінки пробірки скляною паличкою; утворюється щільний осад білого кольору.

Щільний білий осад антімонату натрію



Ця сіль може утворювати досить стабільні пересичені розчини, тому випробуваний розчин має бути охолоджений і осадження ініційовано шляхом тертя скляною паличкою.

З цієї ж причини до розчину піроантімонату калію *P* додають натрію гідроксид при приготуванні реактиву, щоб було практично досягнуто насичення.

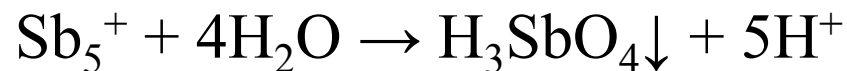
Ці заходи необхідні для досягнення необхідної чутливості.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на іон натрію

Мета додавання розчину *калію карбонату P* в першій стадії аналізу має два аспекти.

1. Збільшення значення рН випробовуваного розчину, таким чином запобігаючи осадженню антімонату у вигляді сурьм'яної кислоти, що може статися в нейтральному або слабко кислому розчині.



2. Виявлення інших катіонів, які можуть дати хибнопозитивну реакцію з розчином *піроантимонату калію P* (наприклад, кальцію), осаджуючи їх у вигляді карбонатів.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на іон натрію

Результати учасників при проведенні реакції ідентифікації іону натрію підтвердили високу вірогідність отримання

- хибнопозитивних результатів (14 учасників, ТЗ 1)
- хибнонегативних результатів (4 учасника, ТЗ 2).

Це пов'язано, як з недостатньою стандартизацією методики пробопідготовки, так і з дуже малою кількістю іону натрію, що використовується для реакції ідентифікації.

Кількість іону натрію, що використовується для реакції ідентифікації а) на натрій (загальна стаття 2.3.1) згідно з монографією на «Дексаметазон натрію фосфат» (< 0.001 г-іон), що у 30–100 разів менше за кількість іону натрію, що використовується згідно з низкою інших монографій.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на іон натрію

**Кількість іону натрію, що використовується у реакції ідентифікації (а)
загальної статті 2.3.1. згідно монографій**

Назва монографії	Кількість іону натрію, г-іон	Відношення кількості іону натрію
Дексаметазон натрію фосфат	< 0.001	-
Натрію карбонат безводний	0.1	~ 100
Натрію карбонат декагідрат	0.039	~ 40
Натрію фторид	0.028	~ 30
Натрію хлорид	0.039	~ 40
Натрію цитрат	0.027	~ 30

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Реакція ідентифікації на іон натрію

Час спостереження

Код	Час спостереж. ТЗ 1	Час спостереж. ТЗ 2	Код	Час спостереж. ТЗ 1	Час спостереж. ТЗ 2
1	5 хв.	5 хв.	24	5 хв.	5 хв.
2	1 год.	30 хв.	26	10 хв.	10 хв.
4	5 хв.	5 хв.	28	30 хв.	30 хв.
5	1 хв.	1 хв.	29	2-3 хв.	2-3 хв.
6	-	-	30	1 год.	5 хв.
8	6 хв.	5 хв.	31	24 год.	24 год.
10	відразу, за 6 год і за 24 год.	відразу, за 6 год і за 24 год.	32	3 год.	3 год.
11	30 хв. (щільний осад не спостерігався)	щільний осад випав одразу	33	5-10 хв.	5-10 хв.
12	майже відразу при охолодженні	майже відразу при охолодженні	34	від 30 хв. до 24 год.	від 30 хв. до 24 год.
14	15 хв.	15 хв.	35	10 хв.	10 хв.
15	15-35 хв.	15-35 хв.	36	30 хв.	30 хв.
20	30 хв.	30 хв.	37	3 год.	3 год.
21	10 хв.	7 хв.	38	2 год.	2 год.
22	осад не випав	3 хв.	40	40 хв.	45 хв.
23	10 хв.	10 хв.	39	8-10 хв.	8-10 хв.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Метрологічна повірка і верифікація ваг

Усі учасники тестування надали дані про метрологічну повірку ваг. Однак учасник під кодом 4 не вказав кваліфікацію ваг, а лабораторії 5, 11, 33 проводили кваліфікацію ваг більше ніж за рік від дати проведення аналізу.

Таким чином, результати лабораторій під кодом 4, 5, 11 і 33 не відповідають вимогам прийнятої лабораторної практики.

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

Заповнення форми протоколу

Учасники під кодами 30, 38 вказали наважки ТЗ для приготування випробовуваних розчинів у грамах, а не мг.

Учасникам під кодами 8, 30 та 32, які вказали колір вихідних випробовуваних розчинів як «прозорий з відтінком» або «прозорий світлооранжевий» слід прийняти до уваги, що «прозорий» не є характеристикою кольору.

Також, «бурштиновий» не є фармакопейною характеристикою кольору (учасник 5).

ОЦІНКА ЯКОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОТРИМАНИХ УЧАСНИКАМИ ТЕСТУВАННЯ ТА АНАЛІЗ ПОМИЛОК

СТАТИСТИЧНА ОЦІНКА СТАНУ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛЗ ЗА ПОКАЗНИКОМ
«РЕАКЦІЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ НА ІОНИ І ФУНКЦІОНАЛЬНІ ГРУПИ»

Раунд	Рік	Метод/методика	Учасників	Незад.	Критерій	Висновок
13	2017	Якісні реакції ідентифікації на іон натрію та фосфат-іон (2.3.1)	30	3	5.1	ОК

ВИСНОВКИ

1. У тестуванні за тестовим завданням «Реакції ідентифікації на іон натрію та фосфат-іон для ідентифікації дексаметазону натрію фосфату» взяло участь 30 лабораторій – 23 лабораторії фармацевтичних підприємств України та 7 лабораторій інших організацій, які здійснюють контроль якості лікарських засобів в Україні.
2. 27 лабораторій (90 % учасників) отримали задовільні результати тестування при ідентифікації фосфат-іонів у ТЗ.
3. Результати 4 лабораторій (9 % учасників) отримані не у повній відповідності до фармакопейних вимог і вимог прийнятої лабораторної практики. Такі результати можуть бути оскаржені.
4. Статистична оцінка свідчить про належну якість виконання аналізу за показником «Реакції ідентифікації на іони і функціональні групи» в лабораторіях фармгалузі.



Дякую за увагу!