**РСТОЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ЩАЯ ФАРМАКПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Определение показателя ОФС**

**«Гемолитически действующие**

**вещества» в лекарственных препаратах**

**для парентерального применения**

**в полимерной упаковке Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на определение показателя «Гемолитически действующие вещества» в растворах для инфузий в полимерной упаковке. Как правило, испытание, проводят в рамках контроля технологического процесса производства.

Испытание позволяет оценить наличие гемолитически действующих веществ, которые могли быть экстрагируемы в лекарственный препарат для парентерального применения из полимерной упаковки.

**Методика определения**

Методика основана на определении гемолитического действия испытуемого раствора по 100%-ному гемолизу спектрофотометрическим методом.

В три центрифужные пробирки помещают по 0,5 мл 10 % взвеси эритроцитов. Затем в первую пробирку прибавляют 5 мл испытуемого раствора (опытная проба), во вторую – 5 мл раствора аналогичного лекарственного препарата из стеклянной упаковки (контрольная проба), в третью – 5 мл воды (проба со 100 %-ным гемолизом). Пробы аккуратно перемешивают и термостатируют в течение 1 ч при температуре (37±2)° С, затем центрифугируют при 2000 об/мин в течение 20 мин.

Измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости опытной пробы, контрольной пробы и пробы со 100% гемолизом на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Если оптическая плотность контрольной пробы составляет 0,03 и выше, то результаты испытания признаются недостоверными и не учитывают.

Оптическая плотность пробы со 100 %-ным гемолизом должна быть не менее 0,8 и не более 1,0.

Исследование проводят на трех образцах взвеси эритроцитов, полученных от трех доноров.

Контрольную пробу и пробу со 100%-ным гемолизом готовят для каждого образца взвеси эритроцитов. Все манипуляции по отношению к контрольной пробе и пробе со 100%-ным гемолизом проводят параллельно с опытными пробами, как описано выше.

Содержание гемолитически действующих веществ (Х) в процентах вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *A1* | – | оптическая плотность опытной пробы (испытуемого раствора); |
|  | *Aк* | – | оптическая плотность контрольной пробы; |
|  | *А100* | – | оптическая плотность воды со взвесью эритроцитов – 100%-ный гемолиз; |
|  | *К* | – | поправочный коэффициент, учитывающий дополнительное разведение водой при условии, что *А100 >1,0.* |

Испытуемый раствор считают свободным от гемолитически действующих веществ, если результаты исследования составляют во всех трех опытных пробах не более 2,0%.

Если содержание гемолитически действующих веществ хотя бы в одной опытной пробе составляет более 2,0%, испытание необходимо повторить. При получении такого же результата испытуемый раствор считают гемолитически активным и дальнейшие испытания не проводят.

Приготовление 10% взвеси эритроцитов.

Для приготовления взвеси эритроцитов может быть использована эритроцитная масса или цитратная кровь, заготовленная на 3,9 % растворе натрия цитрата в соотношении 1:9. Срок хранения цитратной крови (эритртоцитной массы) 72ч при температуре от 4 до 6 С.

5 мл крови (эритроцитной массы) центрифугируют 10 мин при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 8 мл стерильного 0,9% раствора натрия хлорида. Содержимое пробирки взбалтывают и центрифугируют 10 мин при 2000 об/мин, надосадочную жидкость сливают.

Операцию отмывания эритроцитов повторяют два раза. После отмывания надосадочная жидкость должна быть прозрачной, бесцветной и не иметь следов гемолиза. Если надосадочная жидкость не отвечает указанным требованиям, эритроциты не могут быть использованы для приготовления взвеси.

Для получения 10% взвеси эритроцитов осадок клеток смешивают с 0,9% раствором натрия хлорида в соотношении 1:9. Полученную взвесь эритроцитов допускается хранить не более 24 час при температуре от 4 до 6°С.