

УДК 615:07

Е.Т. Володарский¹, Л.А. Кошева²¹Национальный технический университет Украины "КПИ", Киев, Украина²Национальный авиационный университет, Киев, Украина

ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНИВАНИЯ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Показана возможность оценивания неопределенности коэффициентов разведения растворов, используемых при биологических испытаниях, вносящих вклад в неопределенность конечного результата испытаний.

Ключевые слова: биологические испытания лекарственных средств, коэффициент разведения, схема разведения, качество лабораторных исследований, неопределенность измерений.

Введение

Согласно стандартам и положениям Фармакопеи Украины [1], устанавливающим нормы качества лекарственного сырья – медицинских субстанций, вспомогательных веществ, диагностических и лекарственных средств и изготовленных из них препаратов, для проверки их качества необходимо проведение биологических испытаний. Биологические испытания медицинских препаратов осуществляются с помощью физических и физико-химических методов, в которых используются стандартные процедуры, в частности приготовление растворов, основанное на многократных разведениях в известных пропорциях исходного раствора различными растворителями в соответствии с принятой схемой. При этом вид схемы получения заданного объема препарата влияет на неопределенность коэффициента разведения и, следовательно, на конечный результат испытания.

Постановка проблемы. Эффективность и аутентичность (идентичность) медицинских препаратов определяется по количеству микроорганизмов или их колоний, находящихся в испытательной среде в конце проведения испытаний. Так как реальное количество микроорганизмов составляет сотни тысяч единиц, то для их подсчета производят разведение исходной суспензии, приготовленной в соответствии с нормативами, указанными изготовителями, с использованием компонентов, которые придаются вместе с партией препаратов. Такое разведение является многоступенчатым, для его осуществления используются автоматические дозаторы и мерные цилиндры.

Так как результатом исследования является количество частиц, которое определяется путем подсчета, то традиционно погрешность такого результата не определяется. Это утверждение в некоторой мере было справедливым, т.к. при подсчете, как эмпирической процедуре, главным является обеспечение возможности различать в отдельности каждый объект.

Появление концепции неопределенности позволило несколько иначе взглянуть на адекватность получаемого результата. Действительно, при оценивании препарата используют пересчитанное количе-

ство частиц на последних ступенях разведения. Однако неточность при отборе объемов исходного состава и растворителя приводит к неопределенности коэффициента разведения и, в конечном итоге, к неопределенности установления количества микроорганизмов (частиц) в исходном препарате, испытания которого проводятся.

Основная часть

Рассмотрим схему разведения [1], представленную на рис. 1. Из цилиндра А, который не обязательно должен быть мерным, отбирают автоматическим дозатором указанный объем V_0 суспензии, приготовленной в соответствии с нормативными документами, из компонентов, представленных поставщиком препарата. В мерный цилиндр В наливается растворитель указанного объема V_p .

Коэффициент разведения [2] определяется по формуле:

$$k_p = V_0 / (V_0 + V_p), \quad (1)$$

где V_0 – отбираемый объем исходного состава, который вносится в растворитель; V_p – объем растворителя в мерной колбе.

На данной ступени разведения источниками неопределенности будут:

1. Для автоматического дозатора:
 - смещение отбираемого объема $\pm \Delta_0$, соответствующее классу точности дозатора;
 - дискретность отсчета дозатора, зависящая от единицы младшего разряда $\Delta_{\text{кд}}$;
 - рассеивание значений отбора проб $\pm \Delta_0$.
 2. Для мерного цилиндра:
 - неточность изготовления цилиндра, характеризуемая величиной $\pm \Delta_{\text{м}}$;
 - случайное рассеивание значений при отборе растворителя заданного объема $\pm \Delta_{\text{м}}$;
 - единица младшего деления шкалы, нанесенной на поверхность цилиндра $\Delta_{\text{км}}$.
- Аналогичная ситуация имеет место при разведении в мерном цилиндре.

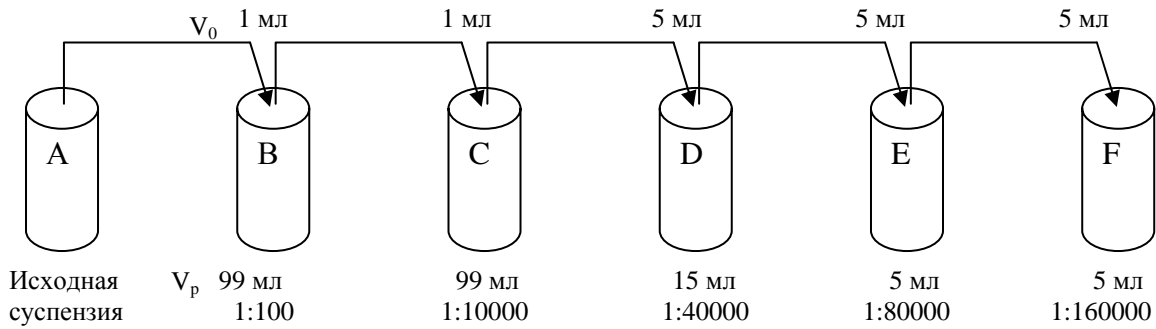


Рис. 1. Схема разведения

Вначале будем предполагать, что погрешность квантования мала. При этом условия модельное уравнение для оценки коэффициента разведения будет иметь вид:

$$\hat{k}_{p1} = k_p + \Delta k = \frac{V_0 + \Delta_o + \overset{\circ}{\Delta}_o}{V_0 + \Delta_o + \overset{\circ}{\Delta}_o + V_p + \Delta_M + \overset{\circ}{\Delta}_M} \quad (2)$$

Для выделения из уравнения (2) составляющей, которая приводит к неопределенности получаемого коэффициента разведения, прибавим и вычтем из уравнения (2) уравнение (1):

$$\Delta k_1 = \frac{\Delta_o V_p - \Delta_M V_0}{(V_0 + V_p)^2} + \frac{\overset{\circ}{\Delta}_o V_p - \overset{\circ}{\Delta}_M V_0}{(V_0 + V_p)^2} \quad (3)$$

При условии, что при правильно выбранном измерительном оборудовании

$$\frac{\overset{\circ}{\Delta}_o + \overset{\circ}{\Delta}_o + \overset{\circ}{\Delta}_M + \overset{\circ}{\Delta}_M}{(V_0 + V_p)^2} \ll 1,$$

коэффициенты чувствительности для составляющих:

$$c(\Delta_o) = c\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right) = \frac{V_p}{(V_0 + V_p)^2}; \quad (4)$$

$$c(\Delta_M) = c\left(\overset{\circ}{\Delta}_M\right) = -\frac{V_o}{(V_0 + V_p)^2} \quad (5)$$

и суммарную стандартную неопределенность [3] разведения заданной кратности можно определить на основании уравнения:

$$u_c^2(k_p) = c^2(\Delta_o)u^2(\Delta_o) + c^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right)u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right) + c^2(\Delta_M)u^2(\Delta_M) + c^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_M\right)u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_M\right).$$

Из-за наличия линейной связи между числителем и знаменателем исходной зависимости (1) в числителе выражения (4) появился множитель \$V_p\$ аналогично множителю \$V_o\$ в выражении (5), и таким образом, коэффициенты влияния по одному из источников неопределенности будут прямо пропорциональны отбираемому объему второго компонента в текущей ступени разведения.

Обратимся к двум последним ступеням разведения (см.рис.) – емкости E и F. В случае, когда вносимые объемы в емкости мало отличаются или одинаковы, то процедура отбора осуществляется одним и тем же дозатором. Модельное уравнение для оценок коэффициента разведения на этих этапах запишется следующим образом:

$$\hat{k}_{p2} = \frac{V_0 + \Delta_o + \overset{\circ}{\Delta}_{o1}}{V_0 + \Delta_o + \overset{\circ}{\Delta}_{o1} + V_p + \Delta_o + \overset{\circ}{\Delta}_{o2}} \quad (6)$$

где \$\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\$, \$\overset{\circ}{\Delta}_{o2}\$ – реализации возможного рассеивания значений отбираемого одним и тем же дозатором объема \$V_o\$ и \$V_p\$.

Тогда

$$\Delta k_2 = \frac{\Delta_o (V_p - V_o)}{(V_0 + V_p)^2} + \frac{\overset{\circ}{\Delta}_{o1} V_p - \overset{\circ}{\Delta}_{o2} V_o}{(V_0 + V_p)^2} \quad (7)$$

Первое слагаемое в выражении (7) учитывает влияние постоянного смещения, вносимого автоматическим дозатором, а второе вызвано влиянием случайных величин.

Коэффициент влияния постоянного смещения \$\Delta_o\$ дозатора будет равен:

$$c(\Delta_o) = \frac{V_p - V_o}{(V_0 + V_p)^2}, \quad (8)$$

а из-за влияния случайных величин

$$c\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\right) = \frac{V_p}{(V_0 + V_p)^2} \text{ и } c\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o2}\right) = -\frac{V_o}{(V_0 + V_p)^2} \quad (9)$$

Приняв во внимание, что

$$u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\right) = u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o2}\right) = u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right),$$

суммарная стандартная неопределенность коэффициента разведения в этом случае будет:

$$u_c^2(k_{p2}) = c^2(\Delta_o)u^2(\Delta_o) + \left[c^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\right) + c^2(\Delta_{o2}) \right] u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right) \quad (10)$$

Или с учетом выражения (9)

$$u_c^2(k_{p2}) = c^2(\Delta_o)u^2(\Delta_o) + \frac{1}{(V_0 + V_p)^2} u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right). \quad (11)$$

Как видно из выражения (8) влияние систематического смещения, вносимого автоматическим дозатором, будет зависеть от соотношения между V_0 и V_p , т.е. от коэффициента разведения. Так, при $k_p = 1:2$, $c(\Delta_o) = 0$, а

$$c\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\right) = c\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o2}\right) = \frac{1}{4V_0},$$

тогда при $k_{p2} = 2$

$$u_c^2(k_{p2}) = \frac{1}{4V_0^2} u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right).$$

И, наконец, рассмотрим промежуточный случай, когда V_0 и V_p сопоставимы и, более того, объем растворителя V_p не превышает 20% нормированного объема мерной колбы, что приводит к существенному влиянию представления аналитической величины в виде дискретного значения $\overset{\circ}{\Delta}_p$. Такой ситуации соответствует разведение в емкости Д.

Будем исходить из того, что отбор предыдущего разведения и растворителя производится одним и тем же дозатором. Для обеспечения требуемой дозы растворитель вносится в емкость n раз. Модельное уравнение будет иметь вид:

$$\hat{k}_{p3} = \frac{V_0 + \overset{\circ}{\Delta}_o + \overset{\circ}{\Delta}_{o1}}{V_0 + \overset{\circ}{\Delta}_o + \overset{\circ}{\Delta}_{o1} + V_0 n + \sum_{i=2}^{n+1} \overset{\circ}{\Delta}_o + \sum_{i=2}^{n+1} \overset{\circ}{\Delta}_{oi}}, \quad (12)$$

где $\overset{\circ}{\Delta}_{oi}$ – реализация возможного рассеивания значений отбираемого дозатором i -й части необходимого объема V_p .

Выделив из выражения (12) составляющую, которая приводит к неопределенности коэффициента разведения k_{p3} , получим:

$$\Delta k_3 = \frac{\overset{\circ}{\Delta}_o (V_p - nV_0)}{(V_0 + V_p)^2} + \frac{V_p \overset{\circ}{\Delta}_{o1} - V_0 \sum_{i=2}^{n+1} \overset{\circ}{\Delta}_{oi}}{(V_0 + V_p)^2}. \quad (13)$$

Сопоставив выражения (13) и (7) можно прийти к выводу, что здесь, как и для второго случая, постоянное смещение, вносимое автоматическим дозатором, не будет вносить неопределенность в коэффициент разведения.

Что же касается влияния случайной составляющей отбора, то здесь имеется существенное отличие, т.к. оно проявляется не при двух операциях отбора, а при $(n + 1)$ операций.

Учитывая, что

$$u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o1}\right) = u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{o2}\right) = \dots = u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_{on+2}\right) = u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right),$$

суммарная стандартная неопределенность коэффициента разведения определится как

$$u_c^2(k_{p3}) = \frac{u^2\left(\overset{\circ}{\Delta}_o\right)}{(V_0 + V_p)^4} + (V_p^2 + nV_0^2). \quad (14)$$

Таким образом, случайное рассеяние вносимого объема растворителя, обусловленное рассеянием при n -кратном отборе, может вносить существенный вклад в неопределенность коэффициента разведения. Исходя из этого, необходимо оценить дополнительный вклад в неопределенность дискретного представления аналоговой величины – объема растворителя, который определяется ценой деления мерного цилиндра, и учесть его в виде дополнительного слагаемого в выражении (7). Затем, произведя сопоставительный анализ выражений (14) и (7) выбрать предпочтительную схему разведения.

Заключение

Произведенный анализ и полученные выражения для оценки неопределенности коэффициента разведения позволяют с учетом характеристик точности измерительного оборудования обоснованно выбирать схему разведения, обеспечивающую с наименьшей неопределенностью реализацию заданного значения.

Список литературы

1. Державна Фармакопея України. – Х.: РИПЕГ, 2008. – 605 с.
2. Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК «Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях» / Под ред. Л.А. Конопелько. – СПб., 2002. – 141 с.
3. ДСТУ-Н РМГ 43:2006. Метрологія. Застосування «Руководства по выражению неопределенности измерений».

Поступила в редколлегию 29.04.2010

Рецензент: д-р техн. наук, проф. И.П. Захаров, Харьковский национальный университет радиоэлектроники, Харьков.

ОСОБЛИВОСТІ ОЦІНЮВАННЯ НЕВИЗНАЧЕНОСТІ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ВИПРОБУВАНЬ

Є.Т. Володарський, Л.О. Кошева

Показана можливість оцінювання невизначеності коефіцієнтів розведення розчинів, що використовуються при біологічних випробуваннях, які роблять внесок у невизначеність кінцевого результату випробувань

Ключові слова: біологічні випробування лікарських засобів, коефіцієнт розведення, схема розведення, якість лабораторних досліджень, невизначеність вимірювань.

**PECULIARITIES OF ESTIMATION UNCERTAINTY
OF THE RESULTS OF BIOLOGICAL TESTS**

E.T. Volodarskiy, L.A Koshevaya

The possibility of estimating the uncertainty of coefficients dilution solutions, used by the biological assay for contributing to the uncertainty of the final tests results.

Keywords: *biological testing of medicinal agents, rearing factor, rearing scheme, quality of laboratory examinations, measurement uncertainty.*