

## ВЕРИФИКАЦИЯ ЦЕФТРИАКСОНА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО КОНЦЕНТРАЦИИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА У БОЛЬНЫХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

© Ларичев А.Б., Смирнова А.В., Слободская Н.А., Крючков В.Б., Васильев А.А., Изюмов Н.М.

Ярославский государственный медицинский университет (ЯГМУ)

Россия, 150000, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

**Цель:** разработать методику верификации цефтриаксона и определения его концентрации в сыворотке крови посредством капиллярного электрофореза.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали цефтриаксона натриевую соль (ЗАО «Фармацевтическая фирма «Лекко»»), модельные смеси биологических жидкостей (цельная кровь, сыворотка и плазма крови) с различной концентрацией цефтриаксона; клинические биологические образцы крови, взятые в ходе операции на молочной железе на фоне периоперационной антибиотикопрофилактики. Концентрацию цефтриаксона определяли с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-105М» (ЗАО «Люмекс», г. Санкт-Петербург, Россия).

**Результаты.** Разработана экспрессная методика определения цефтриаксона в сыворотке крови (объем пробы – 0,1 мл), которая предполагает использование осадителя белковых веществ – сульфата аммония кристаллического, экстракцию органической системы хлороформ–изобутанол в соотношении 3:1, реэкстракцию вещества в рабочий электролит, разбавленный водой, и последующий электрофорез на приборе «Капель-105М». Валидация методики свидетельствует о ее линейности, правильности, прецизионности и специфичности; нижний предел количественного определения составляет 0,1 мкг/0,1 мл биологической среды. Работоспособность методики подтверждена в условиях клинического испытания путем определения концентрации цефтриаксона в сыворотке крови через 30 минут после внутривенного введения 1 г препарата с целью периоперационной антибиотикопрофилактики.

**Заключение.** Методика количественного определения цефтриаксона в сыворотке крови, выполненная с помощью системы капиллярного электрофореза («Капель-105М»), отвечает установленным валидационным критериям. При этом идентификация антибиотика осуществляется в селективных условиях и требует минимального количества объекта, тем самым уменьшается количество соэкстрактивных веществ в пробах, что в сочетании с приемом стеклинга при электрофорезе обеспечивает высокую чувствительность методики. Она может быть рекомендована для проведения анализа в условиях клинико-диагностических лабораторий.

**Ключевые слова:** цефтриаксон; сыворотка крови; капиллярный электрофорез; методика верификации цефтриаксона; периоперационная антибиотикопрофилактика.

**Ларичев Андрей Борисович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей хирургии, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0002-6745-6446. E-mail: [larich-ab@mail.ru](mailto:larich-ab@mail.ru) (автор, ответственный за переписку)

**Смирнова Анна Владимировна** – канд. фарм. наук, зав. курсом фармацевтической и токсикологической химии, доцент кафедры химии с курсом фармацевтической и токсикологической химии, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0003-0752-3632. E-mail: [winterpoliatlon@yandex.ru](mailto:winterpoliatlon@yandex.ru)

**Слободская Наталья Алексеевна** – аспирант кафедры химии с курсом фармацевтической и токсикологической химии, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0001-8959-6610. E-mail: [natascha.96@mail.ru](mailto:natascha.96@mail.ru)

**Крючков Василий Борисович** – канд. фарм. наук, ст. лаборант кафедры химии с курсом фармацевтической и токсикологической химии, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0001-5720-4846. E-mail: [kriuchkovvasily@yandex.ru](mailto:kriuchkovvasily@yandex.ru)

**Васильев Андрей Андреевич** – аспирант кафедры общей хирургии, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0001-8888-9972. E-mail: [anvas.80@mail.ru](mailto:anvas.80@mail.ru)

**Изюмов Никита Михайлович** – студент, ЯГМУ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0003-2608-6650. E-mail: [inickita7@yandex.ru](mailto:inickita7@yandex.ru)

В настоящее время в хирургической практике предупреждение раневых инфекционно-воспалительных осложнений является определяющим в организации лечебной тактики. В черед многочисленных рекомендаций по этому поводу представляется актуальным использование антибактериальных средств [1-4]. Их успешность зависит, главным образом, от эффективной концентрации антибиотика в крови и тканях операционного поля на протяжении всего вмешательства. Именно это определяет выбор наиболее полезного препарата, дозы и кратности его введения, а также длительности антибактериальной профилактики [5-9].

Для определения малых количеств веществ в исследуемых объектах целесообразно использовать методы, обладающие высокой эффективностью, экспрессностью, экономичностью, малым расходом изучаемого материала, программированным обеспечением хода исследования и расчета полученных результатов. Немаловажным является возможность совместить качественный и количественный анализ при исследовании одной пробы. Таким требованиям отвечает метод капиллярного электрофореза [10-16].

Цель исследования – разработать методику, позволяющую верифицировать цефтриаксон, и

определять его концентрацию в сыворотке крови посредством капиллярного электрофореза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения исследований использовали следующие объекты: цефтриаксона натриевая соль (ЗАО «Фармацевтическая фирма «Лекко»»), отвечающая требованиям нормативно-технической документации [17]; модельные смеси биологических жидкостей (цельная кровь, сыворотка крови, плазма крови) с различной концентрацией цефтриаксона; клинические биологические образцы крови и сыворотки крови, взятые при проведении оперативных вмешательств. Для изучения влияния осадителей белковых веществ на степень экстракции цефтриаксона из различных объектов крови использовали кровь здоровых добровольцев, не принимавших лекарственные препараты в течение одного месяца до отбора проб, и стабилизированную цитратным антикоагулянтом.

На первом этапе исследования в 0,9 мл каждого из биологических объектов (цельная кровь, плазма крови, сыворотка крови) вносили 0,1 мл раствора цефтриаксона, содержащего 200 мкг вещества. Приготовленные модельные смеси выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут, отбирали 0,1 мл образца. Депротеинизацию проводили с помощью методик, предполагающих использование стандартных осадителей белковых веществ: аммония сульфата кристаллического, водного раствора трихлоруксусной кислоты (рН 2,0), а также посредством прямого экстрагирования цефтриаксона органической системой – хлороформ–изобутанол в соотношении 3:1 без добавления осадителя [18].

Дальнейшее исследование проводили в соответствии с алгоритмом реализации трех методик в зависимости от используемого осадителя. При прямом экстрагировании цефтриаксона (методика 1) к 0,1 мл модельной смеси по каплям добавляли концентрированную хлороводородную кислоту до рН 1,8 (контроль по универсальной индикаторной бумаге). Через 15 минут проводили экстрагирование осадителем (1 мл × 4; 10 мин). Эмульсию разрушали центрифугированием (6000 об/мин, 10 мин). Органическую фазу отделяли через бумажный складчатый фильтр, смоченный органической системой. К полученному экстракту добавляли 1 мл растворителя пробы – буферный раствор Бриттона–Робинсона (рН 12,0), разбавленный в 10 раз водой очищенной, и проводили реэкстрагирование (1 мл × 1; 10 мин). Эмульсию разрушали центрифугированием (6000 об/мин, 10 мин). Ре-

экстракты отбирали, центрифугировали в пробирках типа «эппендорф» в мини-центрифуге «MiniSpin plus» (10000 об/мин, 5 мин) и проводили электрофоретическое исследование с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-105М».

При использовании осадителя аммония сульфата кристаллического (методика 2) к 0,1 мл модельной смеси добавляли 0,1 мл воды очищенной и 0,1 г осадителя, осторожно перемешивали и оставляли на 15 минут. Смесь центрифугировали (6000 об/мин, 10 мин). Надосадочную жидкость отделяли (без фильтра) декантированием. Затем добавляли 10% раствор хлороводородной кислоты до рН 1,8 (контроль по универсальной индикаторной бумаге). Дальнейшее экстрагирование, реэкстрагирование и анализ методом капиллярного электрофореза проводили в соответствии с алгоритмом действий, представленным в описании методики 1.

При использовании осадителя водного раствора трихлоруксусной кислоты с рН 2,0 (методика 3) из 1 мл крови (плазмы, сыворотки), содержащей 200 мкг цефтриаксона, отбирали 0,1 мл модельной смеси, добавляли 0,4 мл осадителя и оставляли на 15 мин. Смесь центрифугировали (6000 об/мин, 10 мин). Затем надосадочную жидкость отделяли декантированием и добавляли 10% раствор хлороводородной кислоты до рН 1,8 (контроль по универсальной индикаторной бумаге). Дальнейшее экстрагирование, реэкстрагирование и анализ методом капиллярного электрофореза проводили в соответствии с алгоритмом, представленным в описании методики 1.

Определение концентрации цефтриаксона осуществляли с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-105М» (ЗАО «Люмекс», г. Санкт-Петербург, Россия), включающей кварцевый капилляр с внутренним диаметром 75 мкм, общей длиной 60 см, встроенный УФ-спектрофотометрический детектор с длиной волны от 190 до 380 нм. Запись и обработку данных проводили с помощью программного обеспечения «Эльфран для Windows» [10, 12].

Электрофоретическое исследование цефтриаксона осуществляли при следующих условиях: рабочий электролит – буферный раствор Бриттона–Робинсона, рН 12,0; ввод пробы – давлением (30 мБар × 15 сек); положительный электрод со стороны введения рабочего электролита (напряжение +20 кВ); детектирование в ультрафиолетовой области спектра, 265 нм [18].

Промывку капилляра проводили по полной и короткой схемам. Полная схема (между первым и четвертым анализами) включала последовательную промывку 0,5М раствором хлороводородной кислоты в течение 10 мин, водой

очищенной – 10 мин, 0,5М раствором натрия гидроксида, водой очищенной – 10 мин, рабочим электролитом – 10 мин; проведение холостого электрофореза – 15 мин (положительный электрод со стороны введения рабочего электролита, напряжение +20 кВ). По короткой схеме (между вторым и третьим анализами) осуществляли промывку рабочим электролитом в течение 10 мин с последующим проведением холостого электрофореза в тех же условиях, как и по полной схеме [18].

Валидацию разработанной электрофоретической методики осуществляли в соответствии с нормативной документацией: общей фармакопейной статьей в USP, ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» Государственной Фармакопеи IV издания, документами ИСН – Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарств для человека в странах ЕС и США по основным параметрам: правильность (accuracy), прецизионность (precision), специфичность (specificity), предел количественного определения (quantitation limit), линейность (linearity), диапазон применения (аналитическая область – range) [19-21].

Для валидации методики готовили модельные смеси с содержанием 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 мкг вещества в 1 мл сыворотки крови. Приготовление модельных смесей, экстракцию, реэкстракцию и последующее электрофоретическое исследование проводили в соответствии с алгоритмом действий согласно описанию соответствующих методик. При этом учитывали результаты идентификации цефтриаксона на электрофореграммах, ориентируясь на время миграции ( $t_m$ ).

При оценке линейности методики на электрофореграммах, полученных при анализе образцов сыворотки крови (модельная смесь: рабочий электролит – буферный раствор Бриттона-Робинсона, pH 12,0; «Капель-105М»; с содержанием от 0,1 до 20,0 мкг/0,1 мл цефтриаксона), рассчитывали площадь пика – величину фотометрического сигнала (mAU\*С).

Для оценки правильности и прецизионности исследование проводили на трех уровнях концентраций: 0,1; 5,0; 20,0 мкг/0,1 мл. На электрофореграмме определяли площади пиков и по уравнению калибровочного графика рассчитывали концентрацию цефтриаксона в течение 1-го и 2-го дней. Для полученных значений концентрации рассчитывали величины стандартного отклонения (SD), относительного стандартного отклонения (RSD, %), открываемости (R, %) и относительной погрешности ( $\epsilon$ , %).

Для установления специфичности предложенной методики проводили анализ электро-

фореграмм, полученных на трех уровнях концентрации антибиотика: 0,1; 5,0; 20,0 мкг/0,1 мл.

Разработанную методику апробировали на биологических образцах (сыворотка крови) больных, оперированных по поводу патологии молочной железы. Им с целью предупреждения развития раневой инфекции проводили периперационную антибиотикопрофилактику. Для этого за 30 минут до операции внутривенно вводили 1 г цефтриаксона. Спустя 30 и 60 минут проводили его идентификацию посредством качественного параметра – времени миграции ( $t_m$ ). Для достоверности и надежности идентификации цефтриаксона в биологических образцах в пробу добавляли 1 мкг стандартного раствора цефтриаксона.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы MS Excel и оценивали среднюю выборки ( $\bar{x}$ ); доверительный интервал ( $\Delta\bar{x}$ ) по критерию Стьюдента Р (4; 95%); относительную погрешность ( $\epsilon$ ), относительную величину систематической ошибки ( $\delta$ ). Проверку однородности полученных выборок проводили по Q (5; 95%) критерию [22].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование искомых соединений в биологической жидкости (крови) – это всегда сложный и трудоемкий процесс, связанный в первую очередь с влиянием белковых и других компонентов эндогенного характера на процесс их выделения искомых соединений из биосубстрата. В числе ведущих факторов, которые влияют на степень экстракции аналитов, указывают осадители белковых веществ. В связи с отсутствием подобных сведений в отношении цефтриаксона нами изучено влияние некоторых из них на экстракцию этого антибиотика из объектов крови: цельная, плазма и сыворотка.

По нашим данным, при оценке цельной крови максимальное количество цефтриаксона ( $2,60 \pm 1,60$  мкг/0,1 мл) удалось экстрагировать с помощью осадителя белковых веществ аммония сульфата кристаллического. При этом степень экстракции составила 13%. При прямом экстрагировании цефтриаксона с помощью органической системы величина оцениваемых показателей была меньше ( $p > 0,05$ ). Раствор трихлоруксусной кислоты (pH 2,0) оказал наименьшее влияние на экстрагирование цефтриаксона. При этом в 0,1 мл крови исследуемого антибиотика выделено в 4 раза меньше –  $0,57 \pm 0,32$  мкг;  $p < 0,05$  (табл. 1).

Таблица 1

Table 1

Влияние осадителей белковых веществ на экстракцию цефтриаксона из биологической среды  
( $M \pm m$ ,  $n = 14$ )

Influence of precipitants of protein substances upon the extraction of ceftriaxone from the biological environment ( $M \pm m$ ,  $n = 14$ )

| Оцениваемые параметры<br>Estimated parameters                                                                                                 |           | Способ экстрагирования белковых веществ<br>Method of extraction of proteins |                                                                      |                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                               |           | прямой<br>способ<br>direct way                                              | с помощью осадителя<br>by using a precipitator                       |                                                                                      |
|                                                                                                                                               |           |                                                                             | аммония сульфата<br>кристаллического<br>ammonium sulfate crystalline | раствора трихлоруксусной<br>кислоты, рН 2,0<br>trichloroacetic acid solution, pH 2.0 |
| Цельная кровь<br>Whole blood                                                                                                                  |           |                                                                             |                                                                      |                                                                                      |
| количество цефтриаксона в 1 мл,<br>мкг<br>amount of ceftriaxone in 1 ml, µg                                                                   |           | 200.0                                                                       | 200.0                                                                | 200.0                                                                                |
| взято на анализ, мл<br>taken for analysis, ml                                                                                                 |           | 0.1                                                                         | 0.1                                                                  | 0.1                                                                                  |
| определено цефтриаксона в мкг/<br>0,1 мл, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$<br>determined ceftriaxone in µg / 0.1 ml, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ |           | 2.04±0.14                                                                   | 2.60±0.60                                                            | 0.57±0.32*                                                                           |
| цефтриаксон в пересчете<br>на 1 мл<br>ceftriaxone in terms of 1 ml                                                                            | мкг<br>µg | 20.36                                                                       | 26.00                                                                | 2.85                                                                                 |
|                                                                                                                                               | %         | 10.18                                                                       | 13.00                                                                | 5.70                                                                                 |
| Плазма крови<br>Blood plasma                                                                                                                  |           |                                                                             |                                                                      |                                                                                      |
| количество цефтриаксона в 1 мл,<br>мкг<br>amount of ceftriaxone in 1 ml, µg                                                                   |           | 200.0                                                                       | 200.0                                                                | 200.0                                                                                |
| взято на анализ, мл<br>taken for analysis, ml                                                                                                 |           | 0.1                                                                         | 0.1                                                                  | 0.1                                                                                  |
| определено цефтриаксона<br>в мкг/0,1 мл, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$<br>determined ceftriaxone in µg/0.1 ml, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$    |           | 4.09±0.31                                                                   | 6.35±0.54                                                            | 0.11±0.08*                                                                           |
| цефтриаксон в пересчете<br>на 1 мл<br>ceftriaxone in terms of 1 ml                                                                            | мкг<br>µg | 40.85                                                                       | 63.50                                                                | 1.05                                                                                 |
|                                                                                                                                               | %         | 20.43                                                                       | 31.76                                                                | 0.53                                                                                 |
| Сыворотка крови<br>Blood serum                                                                                                                |           |                                                                             |                                                                      |                                                                                      |
| количество цефтриаксона<br>в 1 мл, мкг<br>amount of ceftriaxone in 1 ml, µg                                                                   |           | 200.0                                                                       | 200.0                                                                | 200.0                                                                                |
| взято на анализ, мл<br>taken for analysis, ml                                                                                                 |           | 0.1                                                                         | 0.1                                                                  | 0.1                                                                                  |
| определено цефтриаксона<br>в мкг/0,1 мл, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$<br>determined ceftriaxone in µg/0.1 ml, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$    |           | 11.63±0.63                                                                  | 11.13±0.25                                                           | –                                                                                    |
| цефтриаксон в пересчете<br>на 1 мл<br>ceftriaxone in terms of 1 ml                                                                            | мкг<br>µg | 100.20                                                                      | 111.3                                                                | –                                                                                    |
|                                                                                                                                               | %         | 50.11                                                                       | 55.65                                                                | –                                                                                    |

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; в остальных случаях  $p > 0,05$ .

Note: \* –  $p < 0.05$ ; in other cases  $p > 0.05$ .

При исследовании плазмы крови максимальные экстрагирующие свойства наблюдали на фоне использования в качестве осадителя все того же аммония сульфата кристаллического. При этом степень экстракции возросла до 31,76%. Эффективность прямого экстрагирования цефтриаксона с помощью органической системы была довольно велика –  $4,09 \pm 0,31$  мкг/0,1 мл, но не отличалась от таковой у аммония сульфата кристаллического ( $p > 0,05$ ). Наихудшие результаты получены при использовании с этой целью раствора трихлоруксусной кислоты (рН 2,0), при которой степень экстракции составила всего лишь 0,53% (табл. 1).

Результаты экстрагирования цефтриаксона из сыворотки крови с помощью органической системы и сульфата аммония кристаллического имели сходные параметры. В данном случае степень экстракции исследуемого антибиотика достигала максимальной величины – 55,65%, при использовании осадителя сульфата аммония кристаллического (табл. 1).

В связи с тем, что наиболее эффективным осадителем белковых веществ оказался аммония сульфата кристаллического, при валидации методики количественного определения цефтриаксона в сыворотке крови приготовление мо-

дельных смесей, экстракцию, реэкстракцию и последующее электрофоретическое исследование проводили в соответствии с алгоритмом действий по методике 2. Учитывали результаты идентификации цефтриаксона на электрофореграммах, ориентируясь на время миграции ( $t_m$ ).

Оценивая линейность методики, на электрофореграммах установлено, что при наличии 0,1 мкг цефтриаксона в 0,1 мл исследуемого раствора средняя площадь пика – величина фотометрического сигнала ( $mAU \cdot C$ ), составляла 2,07 расчетных единиц. По мере увеличения количества антибиотика в исследуемой среде площадь пика закономерным образом возрастала. Максимальная средняя величина фотометрического сигнала ( $mAU \cdot C_m$ ) – 298,63 расчетных единиц, регистрировалась при 20,0 мкг цефтриаксона в 0,1 мл раствора (табл. 2).

Полученные результаты использовали для построения калибровочного графика и расчета его уравнения (рис. 1). Они свидетельствуют о том, что в диапазоне концентраций цефтриаксона от 0,1 мкг/0,1 мл до 20 мкг/0,1 мл наблюдается линейная зависимость площади пика (величины фотометрического сигнала) от концентрации антибиотика.

Таблица 2

Table 2

Зависимость площади пика от концентрации цефтриаксона в сыворотке крови

Peak area dependence on the concentration of ceftriaxone in the blood serum

| Содержание цефтриаксона в модельной смеси, мкг/0,1 мл<br>The content of ceftriaxone in the model mixture, $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ | Площадь пика<br>Peak area |                 |                 |                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                                                                                                                        | $mAU \cdot C_1$           | $mAU \cdot C_2$ | $mAU \cdot C_3$ | $mAU \cdot C_m$ |
| 0.1                                                                                                                                    | 1.97                      | 2.11            | 2.12            | 2.07            |
| 0.5                                                                                                                                    | 8.05                      | 8.11            | 8.55            | 8.24            |
| 1.0                                                                                                                                    | 15.14                     | 15.43           | 15.82           | 15.46           |
| 5.0                                                                                                                                    | 76.19                     | 75.76           | 72.67           | 74.87           |
| 10.0                                                                                                                                   | 153.9                     | 148.5           | 149.6           | 150.67          |
| 15.0                                                                                                                                   | 222.80                    | 210.50          | 226.50          | 219.93          |
| 20.0                                                                                                                                   | 298.00                    | 298.5           | 299.4           | 298.63          |

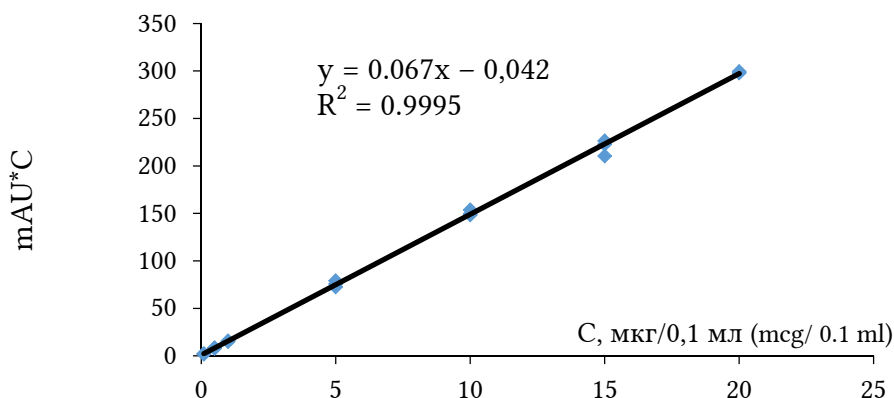


Рис. 1. Калибровочный график количественного определения цефтриаксона в сыворотке крови методом капиллярного электрофореза («Капель–105М»).

Fig. 1. Calibration chart quantitative determination of ceftriaxone in blood serum capillary electrophoresis method («Kapel–105M»).

Оценивая отклонение концентрации цефтриаксона, рассчитанное по уравнению калибровочного графика, установлено, что наибольшее значение этого показателя наблюдается по сравнению с минимальным (0,1 мкг/ 0,1 мл) фактическим содержанием антибиотика в растворе – 7,43%. При сопоставлении расчетных данных с более высокой фактической величиной цефтриаксона, содержащегося в серии модельных смесей, выявлено меньшее отклонение исследуемых параметров – от 0,31% до 4,81% (табл. 3).

Исходя из полученных данных, очевидным является то, что рассчитанные значения относительной погрешности отклонения ( $\bar{\epsilon}$ , %) не превышали величину этого показателя, установленную требованиями FDA, EMA (не более 20% для нижнего предела и не более 15% для остальных точек) [21, 22]. Указанная информация объективно свидетельствует о линейности методики, которая соответствует критериям приемле-

мости, тем самым подтверждая ее пригодность для определения цефтриаксона в сыворотке крови.

Оценивая правильность и прецизионность разрабатываемой методики, установлено, что в течение первого дня исследования при минимальном содержании цефтриаксона в модельной смеси – 0,1 мкг/0,1 мл сыворотки наблюдалось наименьшее в серии исследований стандартное отклонение (SD) на фоне наибольшей относительной величины данного параметра (RSD) – 15,31%. При этом относительная погрешность отклонения расчетной концентрации цефтриаксона в калибровочных растворах от фактических его значений соответствовала максимальному уровню – 19,03%. В течение второго дня исследования величина относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительная погрешность ( $\epsilon$ , %) двукратно уменьшились (табл. 4).

Таблица 3

Table 3

Отклонения концентрации калибровочных растворов цефтриаксона от фактических его значений (сыворотка, 0,1 мл)

Concentration deviations of ceftriaxone calibration solutions from its actual values (serum, 0.1 ml)

| Концентрация цефтриаксона, в мкг/0,1 мл<br>The concentration of ceftriaxone, in $\mu\text{g}$ / 0.1 ml |                                                                                                            | Относительная погрешность отклонения $\bar{\epsilon}$ (в %)<br>Relative error deviations $\bar{\epsilon}$ (in %) |                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| фактическая<br>factual                                                                                 | рассчитанная по уравнению калибровочного графика<br>calculated according to the equation calibration curve | в исследовании<br>in the study                                                                                   | норма (% не >)<br>norm (% not >) |
| 0.1                                                                                                    | 0.097                                                                                                      | 7.43                                                                                                             | 20                               |
| 0.5                                                                                                    | 0.51                                                                                                       | 3.7                                                                                                              | 15                               |
| 1.0                                                                                                    | 1.02                                                                                                       | 1.22                                                                                                             | 15                               |
| 5.0                                                                                                    | 4.97                                                                                                       | 3.65                                                                                                             | 15                               |
| 10.0                                                                                                   | 10.05                                                                                                      | 2.17                                                                                                             | 15                               |
| 15.0                                                                                                   | 14.8                                                                                                       | 4.81                                                                                                             | 15                               |
| 20.0                                                                                                   | 20.0                                                                                                       | 0.31                                                                                                             | 15                               |

Таблица 4

Table 4

Оценка правильности и прецизионности определения цефтриаксона в сыворотке крови (буферный раствор Бриттона-Робинсона, pH 12,0; «Капель-105М»)

Evaluation of correctness and precision determination of ceftriaxone in blood serum (Buffer solution of Britton-Robinson, pH 12.0; Kapel-105M)

| Прецизионность<br>Precision | Содержание цефтриаксона в 0,1 мл сыворотки (мкг)<br>The content of ceftriaxone in 0.1 ml of serum ( $\mu\text{g}$ ) | $\bar{X} \pm \Delta X$<br>(n = 6) | SD<br>(n = 6) | RSD, %<br>(n = 6) | $\bar{\epsilon}$ , %<br>(n = 6) |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------------|---------------------------------|
| Intra-day                   | 20.0                                                                                                                | 20.16 $\pm$ 0.62                  | 0.496         | 2.46              | 7.10                            |
|                             | 5.0                                                                                                                 | 5.55 $\pm$ 0.23                   | 0.184         | 3.32              | 6.99                            |
|                             | 0.1                                                                                                                 | 0.11 $\pm$ 0.02                   | 0.016         | 15.31             | 19.03                           |
| Inter-day                   | 20.0                                                                                                                | 20.70 $\pm$ 0.64                  | 0.613         | 2.49              | 3.10                            |
|                             | 5.0                                                                                                                 | 5.22 $\pm$ 0.28                   | 0.255         | 4.33              | 5.38                            |
|                             | 0.1                                                                                                                 | 0.09 $\pm$ 0.01                   | 0.011         | 8.31              | 10.21                           |

При максимальном содержании цефтриаксона в модельной смеси (20,0 мкг/0,1 мл сыворотки) в первый день исследования имела место наибольшая величина стандартного отклонения (SD) при минимальном показателе относительной его величины (RSD) – 2,46%. При этом относительная погрешность отклонения расчетной концентрации изучаемого антибиотика в калибровочных растворах по сравнению с фактическим его значением была довольно низкой. В течение второго дня исследования стандартное отклонение возрастало до 0,61, а относительная погрешность ( $\epsilon$ , %), наоборот, сокращалась в два раза. И в том и в другом случае независимо от содержания цефтриаксона в модельной смеси относительная погрешность сохранялась в рамках требований FDA и EMA (табл. 4).

Специфичность предлагаемой методики верификации цефтриаксона в сыворотке крови изучена посредством анализа электрофореграмм, полученных при трех вариантах концентрации антибиотика: 0,1; 5,0; 20,0 мкг/0,1 мл. По нашим данным, при оценке образцов, содержащих цефтриаксон, наблюдались пики, которые трактовались нами в качестве индикатора времени миграции изучаемого препарата. Указанное предположение подтверждено контрольным исследованием «интактной» сыворотки (без добавления антибиотика). При этом на электрофореграмме аналогичные по времени пики отсутствовали (рис. 2). Данное обстоятельство позволяет констатировать: выявляемый на электрофореграммах пик соответствует времени миграции цефтриаксона, что объективно подтверждает специфичность методики. Совокупная информация свидетельствует о том, что проведенное исследование в заданном диапазоне концентрации цефтриаксона в модельных смесях подтвердило правильность, прецизионность, специфичность и линейность разработанной методики. Из этого следует, что диапазон ее применения (аналитическая область), в пределах которого методика соответствует международным техническим требованиям по основным перечисленным параметрам, составляет 0,1–20,0 мкг/0,1 мл.

По результатам проведенных исследований на основе анализа электрофореграмм установлено, что минимальная концентрация цефтриаксона в образце, для которой возможно его количественное определение со значениями относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности ( $\epsilon$ , %) не более 20% в диапазоне линейной зависимости с соотношением сигнал/шум не менее 10/1, составляет 0,1 мкг/0,1 мл. Данное обстоятельство объективно подтверждается посредством электрофореграммы, характеризующей нижний предел ко-

личественного определения разрабатываемой методики (рис. 3).

Работоспособность предлагаемой методики в условиях клинического испытания оценивали путем определения концентрации цефтриаксона в сыворотке крови через 30 минут после внутривенного введения 1 г препарата. При этом на электрофореграмме верифицировали пиковый подъем кривой, время появления которого соответствовало  $t_m = 12,92$  мин. После добавления в исследуемую среду 1 мкг стандартного раствора цефтриаксона на электрофореграмме наблюдали значительное увеличение пика, который совпадал с подъемом кривой исследуемого антибактериального средства (рис. 4). Используя уравнение калибровочного графика, установлено, что концентрация цефтриаксона в сыворотке крови составляла  $0,84 \pm 0,28$  мкг/мл.

Повторное исследование, проведенное по той же схеме через 60 минут после введения цефтриаксона, показало, что на электрофореграмме фиксировалось пиковое изменение кривой, соответствующее  $t_m = 11,49$  мин. По добавлении в исследуемую среду 1 мкг цефтриаксона стандарта наблюдали значимое возрастание пика электрофореграфической кривой, и он совпадал с пиковым подъемом, который соответствовал исследуемому антибактериальному средству. Проведенная в эти сроки количественная оценка содержания цефтриаксона подтвердила его наличие в сыворотке крови на уровне  $0,49 \pm 0,18$  мкг/мл. Данное обстоятельство позволяет зафиксировать стабильную концентрацию антибиотика на протяжении всего периода оперативного вмешательства, что минимизирует риск развития раневой инфекции.

Таким образом, предложенная методика количественного определения цефтриаксона в сыворотке крови, выполненная с помощью отечественной системы капиллярного электрофореза («Капель-105М»), отвечает установленным валидационным критериям по таким параметрам, как линейность, правильность, прецизионность, специфичность. Представленные результаты показывают, что идентификация цефтриаксона осуществляется в селективных условиях. При этом требуется минимальное количество объекта, позволяющее уменьшить количество экстрактивных веществ в пробах, что в сочетании с приемом стекинга при электрофорезе обеспечивает высокую чувствительность методики. Она может быть рекомендована для проведения анализа в условиях клинко-диагностических лабораторий.

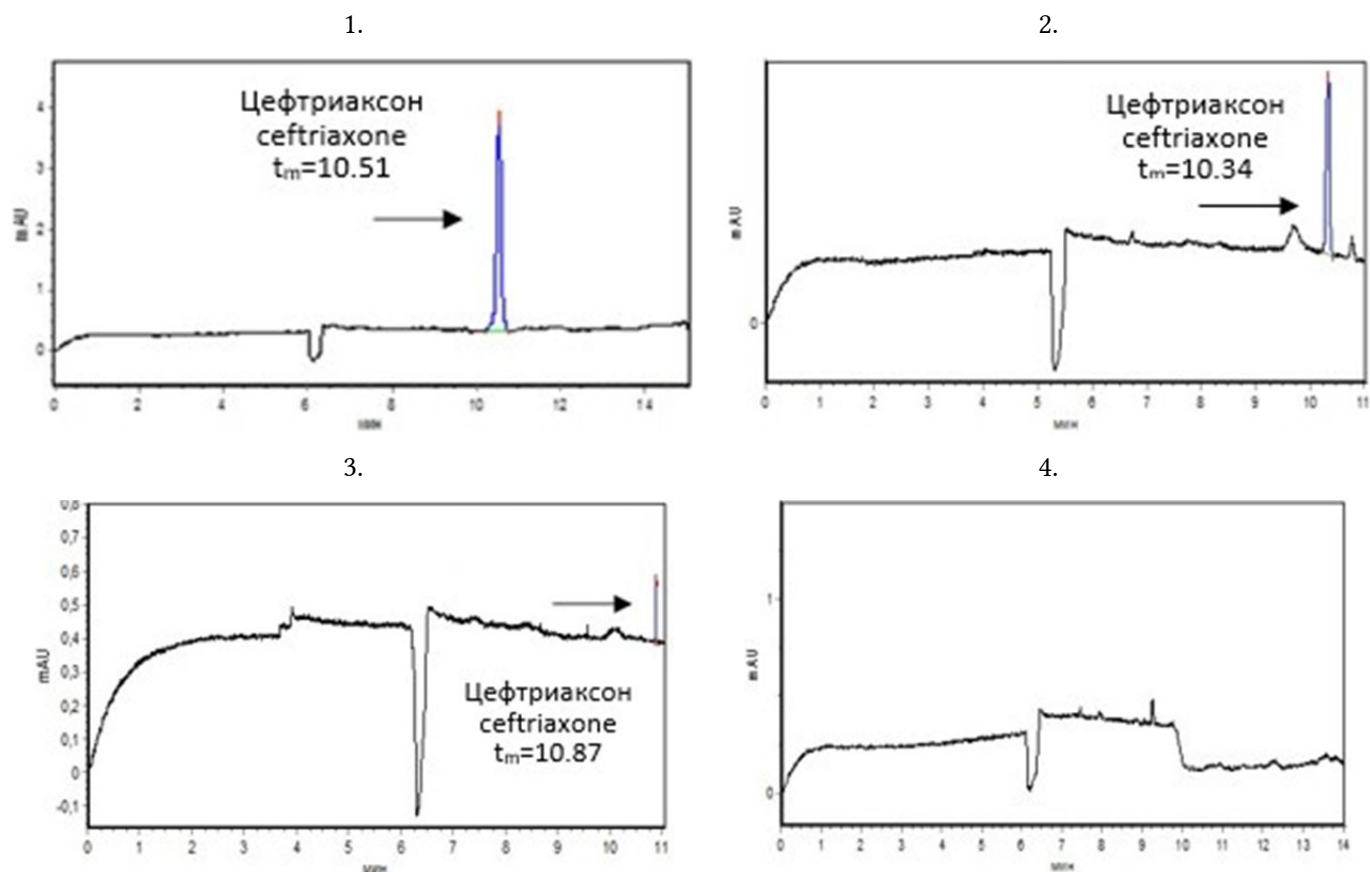


Рис. 2. Электрофореграммы сыворотки крови («Капель–105М») при концентрации цефтриаксона: 20,0 мкг/0,1 мл (1); 5,0 мкг/0,1 мл (2); 0,1 мкг/0,1 мл (3); без антибиотика (4).

Fig. 2. Electrophoregrams of blood serum («Kapel – 105M») in ceftriaxone concentration: 20.0 µg/0.1 ml (1); 5.0 µg/0.1 ml (2); 0.1 µg/0.1 ml (3); without antibiotic (4)

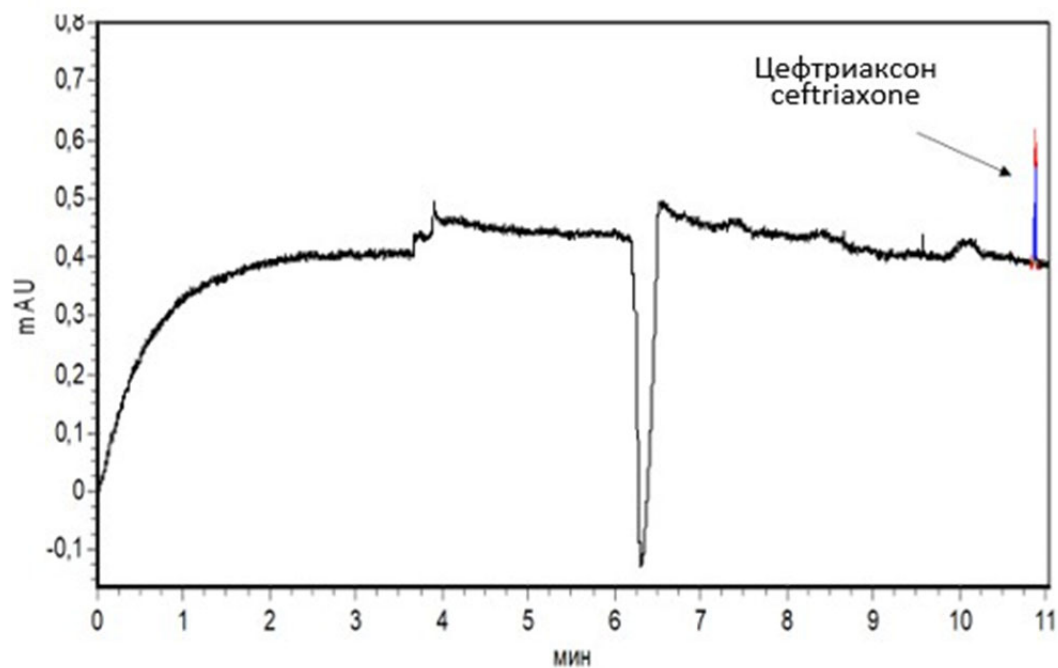


Рис. 3. Электрофореграмма цефтриаксона в сыворотке крови на уровне нижнего предела количественного определения (0,1 мкг/мл; «Капель–105М»).

Fig. 3. Electrophoregram of ceftriaxone in blood serum at the level of the lower limit of quantification (0.1 µg/ml; «Kapel – 105M»).

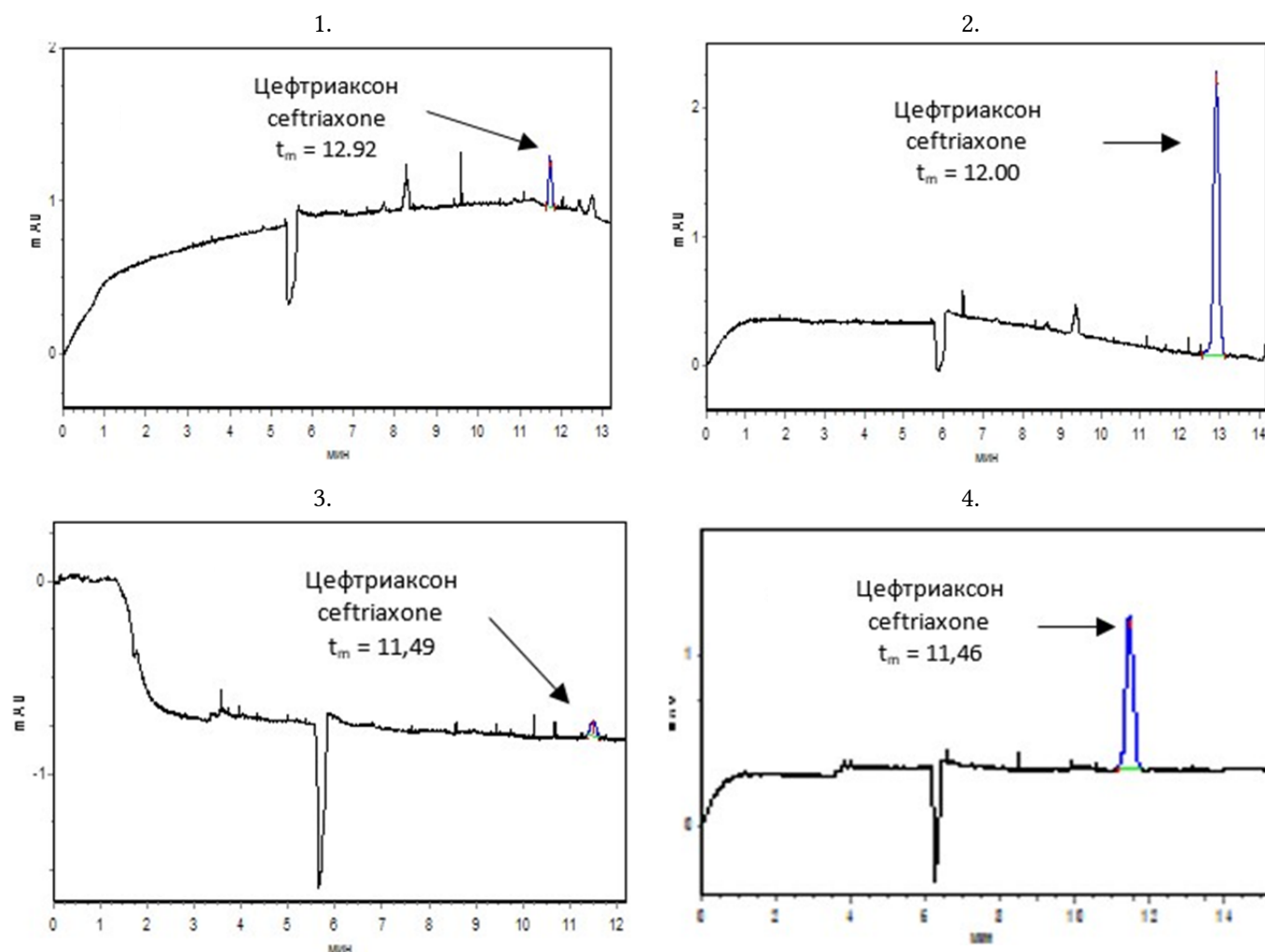


Рис. 4. Электрофореграммы сыворотки крови («Капель-105М»): через 30 мин после внутривенного введения 1 г цефтриаксона (1), после введения в пробу 1 мкг цефтриаксона–стандарта (2), через 60 мин после внутривенного введения 1 г цефтриаксона (3), после введения в пробу 1 мкг цефтриаксона–стандарта (4).

Fig. 4. Electrophoregrams of blood serum ("Kapel-105M"): 30 min after intravenous administration of 1 g of ceftriaxone (1), after the introduction of 1 mcg of ceftriaxone – standard into the sample (2), after 60 min after intravenous administration of 1 g of ceftriaxone (3), after the introduction of 1 mcg of ceftriaxone – standard into the sample (4).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

#### СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Выполненное исследование соответствовало этическим стандартам и одобрено локальным этическим комитетом при Ярославском государственном медицинском университете (протокол № 26 от 11.10.2018 г.).

#### ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Ларичев А.Б. – разработка концепции и дизайна, редактирование, окончательное утверждение для

публикации рукописи; Смирнова А.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, переработка рукописи; Слободская Н.А. – подготовка текста; Крючков В.Б., Васильев А.А. Изюмов Н.М. – сбор материала, анализ и интерпретация полученных данных.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гаин Ю.М., Алексеев В.А., Стельмах В.А., под ред. *Антибактериальная терапия и профилактика хирургических инфекций: Справочно-информационное руководство для врачей*. Москва: Редакционно-издательский центр Генерального штаба Вооруженных сил Российской Федерации, 2002. 894 с. [Gain Yu.M., Alekseyev V.A., Stel'makh V.A., editors. *Antibacterial therapy and prevention of surgical infections: A reference and informational guide for doctors*. Moscow: Editorial and Publishing Center

- of the General Staff of the Armed Forces of the Russian Federation, 2002. 894 p. (in Russ.).
2. Ефименко Н.А., Гучев И.А., Сидоренко С.В. *Инфекции в хирургии. Фармакотерапия и профилактика*: Монография. Смоленск, 2004. 296 с. [Efimenko N.A., Guchev I.A., Sidorenko S.V. *Infections in surgery. Pharmacotherapy and prevention*: Monograph. Smolensk, 2004. 296 p. (in Russ.).]
3. Bratzler D.W., Dellinger E.P., Olsen K.M., Perl T.M., Auwaerter P.G., Bolon M.K., Fish D.N., Napolitano L.M. et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health Syst Pharm.* 2013;70(3):195–283. DOI: 10.2146/ajhp120568.
4. Clark J.J.C., Abildgaard J.T., Backes J., Hawkins R.J. Preventing infection in shoulder surgery. *J Shoulder Elbow Surg.* 2018;27(7):1333–1341. DOI: 10.1016/j.jse.2017.12.028.
5. Ларичев А.Б., Лисовский А.В., Кодина Т.В. Исследование концентрации цефоперазона (цефобита) в крови и тканях экспериментальных животных и в крови хирургических больных. *Вестник лимфологии.* 2009;(1):40–43 [Larichev A.B., Lisovskiy A.V., Kodina T.V. Investigation of the concentration of cefoperazone (cefobide a) in the blood and tissues of experimental animals and in the blood of surgical patients. *Vestnik limfologii.* 2009;(1):40–43 (in Russ.).] EDN: KTXDRR.
6. Ларичев А.Б., Бабаджанян А.Р., Фомин А.Н. Крючков В.Б., Ефремов К.Н., Смирнова А.В. Клинико-фармакокинетические параллели периоперационной антибиотикопрофилактики в абдоминальной хирургии. *Российский медицинский журнал.* 2018;24(2):73–77 [Larichev A.B., Babadzhanian A.R., Fomin A.N. Kryuchkov V.B., Efremov K.N., Smirnova A.V. The clinical pharmacokinetic parallels of peri-operational antibiotics prevention in abdominal surgery. *Russian Medical Journal.* 2018;24(2):73–77 (in Russ.).] DOI: 10.18821/0869-2106-2018-24-2-73-77. EDN: XWBUPR.
7. Longo U.G., Candela V., Facchinetti G., Marchetti A., Dsoke S., Mazzella C., Risi Ambrogioni L., De Marinis M.G. et al. Antibiotic prophylaxis in primary and revision shoulder replacement: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1):292. DOI: 10.1186/s12891-020-03332-z.
8. Salim S., Kumar M.N., Tripathi C.D., Arya S.V., Verma V., Ahmed K.B., Meshram G.G. Pharmacological evaluation of prophylactic anti-microbial use in laparoscopic cholecystectomy; an open labelled study evaluating the concentrations of single dose intravenous ceftriaxone at serum and tissue level. *Eur J Clin Pharmacol.* 2021;77(7):1011–1016. DOI: 10.1007/s00228-021-03093-1
9. Salim S., Majoka R., Tripathi C.D., Verma V., Bagga D., Karim B.A., Meshram G.G. Variability in the serum and tissue concentrations of pre-incisional ceftriaxone for surgery in paediatric population and outcome of surgical-site infections; An open labelled, prospective, non-randomized, analytical study. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery.* 2022;3. DOI: 10.1016/J.CRP HAR.2022.100082.
10. Комарова Н.В., Каменцева Я.С. *Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ»*. Санкт-Петербург: Веда, 2006. 212 с. [Komarova N.V., Kamentseva Ya.S. *Practical guide to the use of capillary electrophoresis systems «KAPEL»*. St. Petersburg: Veda, 2006. 212 p. (in Russ.).]
11. Хомов Ю.А., Фомин А.Н. Капиллярный электрофорез как высокоэффективный аналитический метод (обзор литературы). *Современные проблемы науки и образования.* 2012;(5):349 [Khomov Yu.A., Fomin A.N. Capillary electrophoresis as a highly effective analytical method (literature review). *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya.* 2012;(5):349 (in Russ.).] EDN: PKWWUP. URL: <http://www.scienceeducation.ru/ru/article/view?id=6775>.
12. Хомов Ю.А., Фомин А.Н. *Электрофорез в анализе лекарственных азотсодержащих соединений основного характера*. Пермь: ГБОУ ВПО ПГФА Росздрава; 2012. 124 с. [Khomov Yu.A., Fomin A.N. *Electrophoresis in the analysis of medicinal nitrogen-containing compounds of a basic nature*. Perm: GOU VPO PGFA Roszdava; 2012. 124 p. (in Russ.).]
13. Фомин А.Н., Крючков В.Б., Ларичев А.Б., Смирнова А.В. *Верификация цефоперазона в биологических объектах методом электрофореза*. Ярославль, 2019. 53 с. [Fomin A.N., Kryuchkov V.B., Larichev A.B., Smirnova A.V. *Verification of cefoperazone in biological objects by electrophoresis*. Yaroslavl, 2019. 53 p. (in Russ.).]
14. Shah M., Patel N., Tripathi N., Vyas V.K. Capillary electrophoresis methods for impurity profiling of drugs: A review of the past decade. *J Pharm Anal.* 2022;12(1):15–28. DOI: 10.1016/j.jpba.2021.06.009.
15. Zhu Q., Scriba G.K.E. Analysis of small molecule drugs, excipients and counter ions in pharmaceuticals by capillary electromigration methods – recent developments. *J Pharm Biomed Anal.* 2018;147: 425–438. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.06.063.
16. Štěpánová S., Kašička V. Determination of impurities and counterions of pharmaceuticals by capillary electromigration methods. *J Sep Sci.* 2014;37(15): 2039–2055. DOI: 10.1002/jssc.201400266.
17. ФСП 42 – 0382514304 Цефтриаксон, порошок для приготовления раствора для внутримышечного и внутривенного введения 0,5 г и 1,0 г. Государственный реестр лекарственных средств [FSP 4 2–0382514304 Ceftriaxone, powder for preparation of solution for intramuscular and intravenous administration of 0.5 g and 1.0 g. State Register of Medicines (in Russ.).]
18. Фомин А.Н., Ларичев А.Б., Крючков В.Б., Слободская Н.А., Смирнова А.В., Васильев А.А., Кадозжоян Л.В., Виноградов А.П. и др. *Способ определения концентрации цефтриаксона в тканях операционного поля*. Российская Федерация, Патент РФ № 2759533. 15 ноября 2021 г. [Fomin A.N., Larichev A.B., Kryuchkov V.B., Slobodskaya N.A., Smirnova A.V., Vasil'yev A.A., Kadozhoyan L.V., Vinogradov A.P. et al. *A method for determining the concentration of ceftriaxone in the tissues of the surgi-*

- cal field*. Russian Federation patent RU 2759533. Nov 15, 2021 (in Russ.)).
19. Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетнева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. *Методические рекомендации по валидации аналитических методик, используемых в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе биологического материала*. Москва: ЭсПэХа; 2014. 76 с. [Barsegyan S.S., Salomatin E.M., Pletneva T.V., Maksimova T.V., Dolinkin A.O. *Methodological recommendations for the validation of analytical techniques used in forensic chemical and chemical-toxicological analysis of biological material*. Moscow: EsPeKha; 2014. 76 p. (in Russ.)].
  20. ОФС.1.1.0012.15 *Валидация аналитических методик*. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издание. Том 1. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека [General Pharmacopoeia article 1.1.0012.15 *Validation of analytical techniques*. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. Volume 1. Moscow: Federal Electronic Medical Library (in Russ.)]. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/275/>.
  21. *Фармакопея США: USP29. Национальный формуляр: NF 24*. Том 2. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009:2646–2655 [US Pharmacopoeia: USP 29. *National Form: NF 24*. Volume 2. Moscow: GEOTAR-Media, 2009:2646–2655 (in Russ.)].
  22. ОФС.1.1.0013.15 *Статистическая обработка результатов химического эксперимента*. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издание. Том 1. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека [General Pharmacopoeia article 1.1.0013.15 *Statistical processing of chemical analysis results*. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. Volume 1. Moscow: Federal Electronic Medical Library (in Russ.)]. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/289/>.

Поступила в редакцию 21.06.2022

Подписана в печать 20.10.2022

---

**Для цитирования:** Ларичев А.Б., Смирнова А.В., Слободская Н.А., Крючков В.Б., Васильев А.А., Изюмов Н.М. Верификация цефтриаксона и определение его концентрации в сыворотке крови методом капиллярного электрофореза у больных хирургического профиля. *Человек и его здоровье*. 2022;25(3):60–71. DOI: 10.21626/vestnik/2022-3/07. EDN: XKDAFW

---

## VERIFICATION OF CEFTRIAXONE AND DETERMINATION OF ITS CONCENTRATION IN BLOOD SERUM BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN SURGICAL PATIENTS

© Larichev A.B., Smirnova A.V., Slobodskaya N.A., Kryuchkov V.B., Vasiliev A.A., Izyumov N.M.

Yaroslavl State Medical University (YSMU)

5, Revolutionary St, Yaroslavl, Yaroslavl region, Yaroslavl region, 150000, Russian Federation

**Objective:** to develop a method for verifying ceftriaxone and determining its concentration in blood serum by means of capillary electrophoresis.

**Materials and methods.** The study used ceftriaxone sodium salt (CJSC Pharmaceutical Company "Lekko"), model mixtures of biological fluids (whole blood, serum and blood plasma) with different concentrations of ceftriaxone; clinical biological blood samples taken during breast surgery against the background of perioperative antibiotic prophylaxis. The concentration of ceftriaxone was determined by using a Capel-105M capillary electrophoresis system (CJSC Lumex, St. Petersburg, Russia).

**Results.** An express method has been developed for the determination of ceftriaxone in blood serum (sample volume - 0.1 ml), which involves the use of a precipitant of protein substances - crystalline ammonium sulfate, extraction of the organic system chloroform - isobutanol in a ratio of 3: 1, re-extraction of the substance into a working electrolyte diluted with water, and subsequent electrophoresis on the device "Capel-105M". Method validation indicates its linearity, correctness, precision and specificity; the lower limit of quantitation is 0.1 µg/0.1 ml biological medium. The effectiveness of the technique was confirmed in a clinical trial by determining the concentration of ceftriaxone in the blood serum 30 minutes after intravenous administration of 1 g of the drug for the purpose of perioperative antibiotic prophylaxis.

**Conclusion.** The method for the quantitative determination of ceftriaxone in blood serum, performed by using a capillary electrophoresis system ("Capel-105M"), meets the established validation criteria. At the same time, the identification of the antibiotic is carried out under selective conditions and requires a minimum amount of the object, thereby reducing the amount of co-extractive substances in the samples, which, in combination with the method of stacking during electrophoresis, provides a high sensitivity of the technique. It can be recommended for analysis in clinical diagnostic laboratories.

**Keywords:** ceftriaxone; blood serum; capillary electrophoresis; ceftriaxone verification technique; perioperative antibiotic prophylaxis.

**Larichev Andrey B.** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of General Surgery, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-6745-6446. E-mail: [larich-ab@mail.ru](mailto:larich-ab@mail.ru) (correspondence author)

**Smirnova Anna V.** – Cand. Sci. (Pharm.), Head of the Course of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Associate Professor at the Department of Chemistry with a Course of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0752-3632. E-mail: [winterpoliatlon@yandex.ru](mailto:winterpoliatlon@yandex.ru)

**Slobodskaya Natalya A.** – post-graduate student at the Department of Chemistry with a course of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8959-6610. E-mail: [natascha.96@mail.ru](mailto:natascha.96@mail.ru)

**Kryuchkov Vasily B.** – Cand. Sci. (Pharm.), Senior Laboratory Assistant of the Department of Chemistry with a Course in Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5720-4846. E-mail: [kriuchkovvasily@yandex.ru](mailto:kriuchkovvasily@yandex.ru)

**Vasiliev Andrey A.** – post-graduate student of the Department of General Surgery, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8888-9972. E-mail: [anvas.80@mail.ru](mailto:anvas.80@mail.ru)

**Izyumov Nikita M.** – student, YSMU, Yaroslavl, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-2608-6650. E-mail: [inickita7@yandex.ru](mailto:inickita7@yandex.ru)

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

### CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The performed study complied with ethical standards and was approved by the local ethics committee at the Yaroslavl State Medical University (protocol N 26 of 11/10/2018).

### AUTHORS CONTRIBUTION

Larichev A.B. – development of the concept and design, editing, final approval for publication of the manuscript; Smirnova A.V. – verification of critical intellectual content, revision of the manuscript; Slobodskaya N.A. – preparation of the text; Kryuchkov V.B., Vasiliev A.A., – +

Izyumov N.M. – collection of material, analysis and interpretation of the data obtained.

Received 21.06.2022

Accepted 20.10.2022

**For citation:** Larichev A.B., Smirnova A.V., Slobodskaya N.A., Kryuchkov V.B., Vasiliev A.A., Izyumov N.M. Verification of ceftriaxone and determination of its concentration in blood serum by capillary electrophoresis in surgical patients. *Humans and their health*. 2022;25(3):60–71. DOI: 10.21626/vestnik/2022-3/07. EDN: XKDAFW