

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет медико-фармацевтичних технологій
кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ
ІН'ЄКЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи ПБтм23(1,10з)-01
спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Промислова біотехнологія
Інна КАРАВАНСЬКА

Керівник: завідувачка кафедри біотехнології, д.фарм.н.,
професорка Наталя ХОХЛЕНКОВА

Рецензент: Начальник департаменту мікробіологічних
досліджень ТОВ «Науковий центр розробок і впрова-
джень», м. Харків, к.фарм.н. Олена ДУНАЙ

Харків – 2025 рік

АНОТАЦІЯ

У кваліфікаційній роботі проведено аналіз сучасних вимог до мікробіологічного контролю при виробництві ін'єкційних лікарських засобів відповідно до настанов GMP, Державної Фармакопеї України, Європейської Фармакопеї та стандартів ISO. Розглянуто основні джерела мікробіологічної контамінації, методи забезпечення стерильності, проведення валідації процесу стерилізуючої фільтрації. Обґрунтовано вибір фільтрувального матеріалу для стерилізації розчину «Простатиле».

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків. Загальний обсяг — 58 сторінок, містить 5 таблиць, 34 джерел літератури.

Ключові слова: мікробіологічний контроль, ін'єкційні лікарські засоби, стерильність, стерилізуюча фільтрація.

ANNOTATION

The qualification work presents an analysis of current requirements for microbiological control in the production of injectable medicinal products in accordance with GMP guidelines, the State Pharmacopoeia of Ukraine, the European Pharmacopoeia, and ISO standards. The study examines the main sources of microbiological contamination, methods of ensuring sterility, and validation of the sterile filtration process. The selection of a suitable filter material for sterilizing the “Prostatilen” solution is substantiated.

The qualification work consists of an introduction, three chapters, and conclusions. The total length is 58 pages and includes 5 tables and 34 literature sources.

Key words: microbiological control, injectable medicinal products, sterility, sterile filtration..

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1 Загальні принципи виробництва ін'єкційних лікарських засобів.....	7
1.2 Джерела мікробіологічної контамінації.....	10
1.4 Нормативна база мікробіологічного контролю.....	15
1.5 Методи мікробіологічного контролю.....	17
Висновки до розділу 1.....	26
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	27
2.1 Біорегуляторні пептиди в терапії.....	27
2.2 Фармакологічна активність Простатилену.....	30
2.3 Методи дослідження.....	32
Висновки до розділу 2.....	32
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	34
3.1 Особливості технологічного процесу отримання субстанції Простатилен.....	34
3.2 Обґрунтування фільтру для стерилізуючої фільтрації розчину Простатилен.....	44
Висновки до розділу 3.....	53
ВИСНОВКИ.....	54
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	55
ДОДАТКИ.....	59

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

СОП - стандартна операційна процедур

GMP – належна виробнича практика

ДФУ –Державна фармакопея України

ВСТУП

Актуальність теми.

Ін'єкційні лікарські засоби, що призначені для парентерального введення, вимагають найвищого рівня якості, насамперед — абсолютної стерильності та апірогенності. Забруднення таких препаратів мікроорганізмами або пірогенами несе безпосередню загрозу життю пацієнтів. За даними ВООЗ, до 1% ін'єкційних лікарських засобів, що виробляються у країнах із недостатнім контролем, можуть бути контаміновані. Тому мікробіологічний контроль — це критичний елемент у системі забезпечення якості при виробництві розчинів для ін'єкцій.

Особливе значення мікробіологічний контроль має у виробництві сучасних біотехнологічних препаратів — зокрема пептидних, які відрізняються високою біологічною активністю та чутливістю до умов стерилізації. Одним із таких препаратів є розчин для ін'єкцій «Простатилен» виробництва ПАТ «Лекхім-Харків», на прикладі якого в даній роботі розглядаються особливості забезпечення мікробіологічної безпеки.

Мета дослідження. Узагальнити сучасні підходи до мікробіологічного контролю при виробництві ін'єкційних лікарських засобів згідно з вимогами GMP, фармакопей та стандартів ISO; проаналізувати джерела мікробної контамінації, методи контролю стерильності, а також обґрунтувати вибір фільтра для стерилізуючої фільтрації на прикладі розчину для ін'єкцій «Простатилен».

Завдання дослідження:

1. проаналізувати вимоги до організації виробництва стерильних ін'єкційних лікарських форм;
2. визначити основні джерела мікробіологічної контамінації під час виробництва ін'єкційних розчинів;
3. дослідити сучасні методи мікробіологічного контролю;
4. вивчити особливості технології отримання субстанції «Простатилен»;

5. обґрунтувати вибір фільтра для стерилізуючої фільтрації розчину для ін'єкцій «Простатилен».

Об'єкт дослідження — система мікробіологічного контролю у виробництві ін'єкційних лікарських засобів.

Предмет дослідження — мікробіологічні ризики та методи їх контролю під час виготовлення ін'єкційних розчинів, зокрема на прикладі препарату «Простатилен».

Методи дослідження: аналітичний, бібліографічний, мікробіологічний.

Практичне значення. Отримані результати можуть бути використані при оптимізації мікробіологічного контролю у виробництві ін'єкційних форм, розробці СОП для фармацевтичних підприємств, а також при підготовці фахівців у сфері фармацевтичної біотехнології.

Апробація результатів дослідження і публікації.

Караванська І. Є. Мікробіологічний контроль при виробництві лікарських засобів/ Караванська І. Є., Хохленкова Н. В. // Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: мат. V міжнар. наук.-практ. конф. (28 березня 2025 р., м. Харків). –Х. : НФаУ, 2025. – С. 422-423.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи

Робота складається зі вступу, трьох розділів: літературний огляд, об'єкти та методи досліджень, мікробіологічні дослідження, висновку. Загальний обсяг роботи 58 сторінок, кількість таблиць 5, джерел літератури 34.

РОЗДІЛ І

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальні принципи виробництва ін'єкційних лікарських засобів

Ін'єкційні лікарські засоби (ЛЗ) призначені для парентерального введення, що обумовлює найвищі вимоги до їхньої якості, зокрема стерильності та апірогенності. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, контамінація ін'єкційних препаратів може призвести до тяжких ускладнень, таких як сепсис або ендотоксичний шок. Виробництво ін'єкційних ЛЗ здійснюється в асептичних умовах, щоб мінімізувати ризик мікробіологічної контамінації.

У ДФУ 2.0 викладено загальну статтю під назвою «Лікарські засоби для парентерального застосування» («Parenteralia»), яка встановлює наступні вимоги [2-4]:

1. Для виготовлення парентеральних препаратів слід використовувати лише ті допоміжні речовини, які не знижують терапевтичну ефективність основного компонента та у застосованих кількостях не спричиняють токсичної дії або вираженого місцевого подразнення.

2. У разі додавання антимікробних консервантів до складу ін'єкційних лікарських форм необхідно надати компетентному органу докази, що підтверджують їх ефективність. Відповідні вимоги описано у статті «Ефективність мікробних консервантів».

3. Виробництво лікарських засобів для парентерального введення має здійснюватися із дотриманням умов, що гарантують стерильність, а також виключають ризик контамінації або розвитку мікроорганізмів. Це регламентується у статті «Методи виробництва стерильних лікарських засобів».

4. Вода, яка застосовується на етапах виробництва таких препаратів, повинна відповідати вимогам до води для ін'єкцій у великому об'ємі (див. монографію «Вода для ін'єкцій»).

Основні принципи виробництва стерильних ЛЗ включають наступні вимоги.

Стерильність

Стерильність визначається як повна відсутність життєздатних мікроорганізмів у препараті. Державна фармакопея України (ДФУ) та Європейська фармакопея (Ph. Eur.) зазначають, що стерильність досягається двома основними методами: термінальною стерилізацією (наприклад, автоклавуванням при 121°C) або асептичним виробництвом із стерильною фільтрацією [2-4, 13].

Термінальна стерилізація є кращою, оскільки забезпечує вищий рівень безпеки, але вона непридатна для термолабільних речовин, таких як білки чи пептиди, що часто входять до складу ін'єкційних розчинів. У таких випадках застосовується стерильна фільтрація через мембрани з розміром пор 0,22 мкм, яка видаляє бактерії та гриби, але не віруси чи ендотоксини.

Апірогенність

Апірогенність означає відсутність пірогенних речовин, зокрема ендотоксинів грамнегативних бактерій, які можуть викликати лихоманку або септичний шок. LAL-тест (Limulus Amebocyte Lysate), заснований на реакції з екстрактом клітин мечехвоста, є стандартом для визначення ендотоксинів із чутливістю до 0,05 МО/мл. Альтернативою є тест на кролях, який перевіряє підвищення температури після введення препарату, але він менш чутливий і рідше використовується.

Асептичні умови

Асептичне виробництво проводиться в чистих зонах класів А (критичні операції, наприклад, наповнення ампул) та В (підготовчі зони) за стандартом ISO 14644-1. Ці зони мають контрольовану кількість частинок (не більше 3520 частинок $\geq 0,5$ мкм/м³ для класу А) і мікроорганізмів (не більше 1 КУО/м³ для класу А). Для забезпечення асептики використовуються ламінарні шафи, стерильний одяг персоналу та автоматизовані системи моніторингу (АСОВІ), які контролюють температуру, вологість і тиск.

Валідація процесів

Відповідно до настанови GMP, усі етапи виробництва стерильних ЛЗ пі-

длягають валідації, щоб гарантувати відтворюваність і відповідність стандартам [9, 10]. Валідація включає перевірку стерилізації устаткування (парова, хімічна), фільтраційних систем і асептичних процедур. Наприклад, для стерильної фільтрації валідація підтверджує, що мембрани не пропускають мікроорганізми, такі як *Brevundimonas diminuta* (стандартний тест-організм).

Контроль якості

Мікробіологічний контроль охоплює тестування сировини, напівпродуктів, готового продукту та виробничого середовища. Контроль якості включає тести на стерильність, пірогенність, мікробіологічну чистоту сировини та моніторинг чистих зон. Сучасні виробництва використовують автоматизовані системи для збору даних у реальному часі, що підвищує точність і знижує ризик людських помилок [6, 10, 11]

До ключових переваг лікарських засобів для ін'єкційного застосування належать:

- оперативний початок дії та висока системна доступність активного компонента;
- точне дозування;
- можливість варіювання швидкості та тривалості вивільнення речовини;
- захист діючої речовини від агресивного середовища шлунково-кишкового тракту, печінкового метаболізму, ферментів, їжі чи інших медикаментів;
- сприяння транспортуванню через епітеліальні бар'єри;
- усунення труднощів, пов'язаних із ковтанням, або інших індивідуальних особливостей прийому;
- придатність до масштабного виробництва стерильних фармацевтичних форм.

Регламентація вимог до ін'єкційних засобів наведена у відповідних стат-

тах ДФУ 2.0. Крім того, процес виробництва стерильних та асептично виготовлених форм контролюється вимогами настанови «Належна виробнича практика» (СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016).

Під час створення розчинів для парентерального введення слід провести низку досліджень. До них належать: отримання розчину діючої речовини у необхідній концентрації та оцінка його властивостей; вибір допоміжних компонентів для забезпечення стабільності; визначення оптимальних режимів фільтрації та стерилізації; вивчення взаємодії з матеріалом первинного пакування у процесі зберігання; виявлення потенційних причин нестабільності лікарської форми та пошук шляхів її усунення.

Мікробіологічна стабільність стерильних лікарських засобів

Мікробіологічна стабільність стерильних ЛЗ визначається як здатність препарату зберігати стерильність і апірогенність протягом усього терміну придатності за умов зберігання. Для розчинів для ін'єкцій, які зазвичай не містять консервантів через парентеральне введення, стабільність залежить від кількох факторів [6, 11, 14].

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОЗЧИНІВ

У розчинах для ін'єкцій дисперсійним середовищем, зазвичай, є вода, що створює сприятливі умови для росту мікроорганізмів у разі контамінації. Фактори, що впливають на стабільність:

рН. Нейтральний рН (5,0–7,0) є оптимальним для більшості мікроорганізмів, тоді як кислий чи лужний рН може пригнічувати їх ріст [17].

Осмотичний тиск. Ізотонічні розчини (0,9% NaCl) менш стійкі до контамінації, ніж гіпертонічні.

Склад. Діючі речовини (наприклад, антибіотики) або допоміжні компоненти (гліцин, манітол) можуть мати антимікробну дію або, навпаки, слугувати поживним середовищем.

Упаковка. Первинна упаковка (ампули, флакони) відіграє ключову роль у збереженні стерильності. Скляні ампули забезпечують герметичність, але

можуть мати мікротріщини, що підвищує ризик контамінації. Полімерні флакони легші, але менш стійкі до проникнення вологи чи газів [8, 10, 11].

Умови зберігання. Температура зберігання (2–8°C для більшості ін'єкційних ЛЗ) знижує ймовірність росту мікроорганізмів у разі випадкової контамінації. Заморожування (-20°C) використовується для деяких біотехнологічних препаратів, але може впливати на стабільність діючих речовин. Вологість і світло також впливають на стабільність упаковки, що може призвести до порушення герметичності.

Ризики контамінації після виробництва

Контамінація може відбуватися під час транспортування, зберігання або використання (наприклад, при відкритті ампул). Багатодозові флакони, хоча рідко використовуються для ін'єкцій, мають вищий ризик контамінації порівняно з однодозовими. Навіть у стерильних умовах мікроорганізми, такі як *Staphylococcus epidermidis*, можуть потрапляти в препарат через контакт із шкірою персоналу.

1.2. Джерела мікробіологічної контамінації

Мікробіологічна контамінація на різних етапах виробництва стерильних лікарських засобів, зокрема ін'єкційних форм, є критичним фактором, який впливає на якість, безпечність і ефективність готової продукції. Враховуючи, що ін'єкційні препарати потрапляють безпосередньо у внутрішнє середовище організму, навіть незначна присутність мікроорганізмів чи їх токсинів (зокрема ендотоксинів) може викликати важкі ускладнення, включаючи септичні стани, гарячку, шок, або навіть смерть пацієнта. Саме тому фармацевтичне виробництво стерильних форм суворо контролюється згідно з вимогами GMP, Фармакопеї та міжнародних стандартів якості. [9-11, 12, 22]

Контамінація може виникати на будь-якому етапі виробництва – від підготовки сировини до фасування готового продукту. Умовно всі джерела контамінації можна поділити на ендогенні (внутрішні — пов'язані з продуктом, сировиною) і екзогенні (зовнішні — пов'язані з середовищем, обладнанням, персоналом тощо).

Сировина

Одним із перших і найважливіших джерел контамінації є вихідна сировина, особливо біологічного походження. Екстракти, субстанції з органів тварин або рослинної сировини мають підвищений ризик мікробного забруднення. Активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ) та допоміжні речовини (наприклад, цукри, солі) можуть бути контаміновані спороутворюючими бактеріями, такими як *Bacillus subtilis*, якщо не пройшли належного контролю [31].

Можливе первинне забруднення може бути зумовлене:

- недотриманням умов забору, транспортування і зберігання сировини;
- наявністю в тканинах патогенних або умовно-патогенних мікроорганізмів;
- недосконалістю процесу екстракції та очищення.

Вода для ін'єкцій

Вода — один із найпоширеніших і водночас небезпечних джерел контамінації. Незважаючи на те, що вона проходить багаторівневу очистку (зворотній осмос, дистиляція), будь-яке порушення в роботі системи, накопичення біоплівки у трубопроводах або резервуарах може призвести до масового забруднення води, яка потім використовується для приготування розчинів.

Крім того, вода є джерелом пірогенів (ендотоксинів грамнегативних бактерій), які не знищуються фільтрацією і можуть бути видалені лише спеціальними методами (наприклад, дистиляцією при температурі понад 100 °C).

Вода для ін'єкцій, якщо не відповідає стандартам ДФУ, може містити грамнегативні бактерії, такі як *Burkholderia cepacia* або *Pseudomonas aeruginosa*.

Устаткування

Обладнання, яке використовується для приготування, змішування, фільтрації, фасування та герметизації, має безпосередній контакт з продуктом. Погано очищені або нестерильні поверхні, порушення режимів мийки та дезін-

фекції, несправність вузлів, тріщини в трубопроводах можуть стати місцем накопичення мікроорганізмів.

Недостатня стерилізація устаткування (реакторів, трубопроводів, наповнювальних систем) є частою причиною контамінації. Спороутворюючі бактерії, такі як *Bacillus cereus*, можуть виживати після неналежної парової стерилізації. Біоплівки, що утворюються на поверхнях устаткування, є джерелом стійких мікроорганізмів, таких як *Pseudomonas spp.* Валідація стерилізації (наприклад, використання біологічних індикаторів *Geobacillus stearothermophilus*) є обов'язковою за GMP [9, 11, 21].

Системи мийки на місці (CIP – Clean in Place) та стерилізації на місці (SIP – Sterilization in Place) є обов'язковими для усунення ризиків, але ефективність цих систем потребує регулярного валідаційного контролю.

Персонал

Людський фактор становить до 25–30% випадків контамінації у чистих зонах. Шкіра, дихальні шляхи та одяг персоналу є джерелами мікроорганізмів, зокрема *Staphylococcus aureus* і *Micrococcus luteus*. Неправильне використання стерильного одягу, порушення асептичних процедур або недостатнє навчання підвищують ризик. Регулярний моніторинг персоналу (наприклад, тестування рукавичок на мікроорганізми) є стандартом GMP [39].

Основні механізми контамінації з боку персоналу:

- аерозольне забруднення при розмові, кашлі, чханні;
- механічне перенесення мікроорганізмів руками (навіть у рукавичках);
- порушення правил одягання та поведінки у чистих приміщеннях;
- тривале перебування персоналу в зоні А або В;
- пошкодження або неправильне носіння захисного одягу.

Для зменшення ризиків передбачено: регулярне навчання персоналу, медичні огляди, обмеження кількості осіб у зоні, моніторинг мікрофлори з поверхонь тіла (рук), суворе дотримання стандартних операційних процедур (СОП).

Повітря чистих зон

У виробництві ін'єкційних форм використовуються класифіковані приміщення класу чистоти А, В, С, D відповідно до GMP. Найвищі вимоги (клас А) висуваються до зон, де відбувається наповнення, закриття та стерилізуюча фільтрація [7, 10, 11].

У повітрі приміщень можуть міститися мікроорганізми, прикріплені до частинок пилу, водяної пари або мікрокрапель. Особливо високий ризик спостерігається у зонах з неефективною вентиляцією, несправними фільтрами або за наявності великої кількості персоналу.

Забруднення повітря здебільшого походить від:

- руху персоналу (піднімання частинок із підлоги);
- турбулентності під час відкривання дверей;
- порушення ламінарного потоку;
- старих або неочищених повітряних фільтрів.

Порушення повітряного режиму, недостатня фільтрація (HEPA-фільтри), занадто велике мікробне навантаження з суміжних зон, відкриття дверей, потік людей — все це призводить до мікробіологічного забруднення повітря.

Повітря в чистих зонах може містити аеробні бактерії (*Bacillus spp.*), гриби (*Aspergillus spp.*) або спори, якщо не дотримано стандартів ISO 14644-1 [7]. Для підтримки чистоти повітря використовують системи фільтрації з HEPA-фільтрами (High-Efficiency Particulate Air), які затримують $\geq 99,97\%$ частинок $\geq 0,3$ мкм. Системи вентиляції з HEPA-фільтрами знижують ризик, але потребують регулярної заміни та валідації. Повітря в зонах А та В має бути строго контрольоване за кількістю частинок і колонієутворювальних одиниць (КУО). Згідно з GMP, у зоні А допустима повна відсутність КУО у повітрі.

Моніторинг повітря проводиться за допомогою седиментаційних пластин або активного відбору проб.

Перехресна контамінація

Перехресна контамінація виникає при змішуванні потоків сировини, на-

півпродуктів чи готової продукції. Наприклад, використання одного устаткування для різних препаратів без належного очищення може призвести до контамінації. Сегрегація потоків і очищення за СОП (стандартними операційними процедурами) є обов'язковими.

Зовнішні фактори

Контамінація може відбуватися після виробництва, наприклад, під час транспортування чи використання. Пошкодження упаковки (мікротріщини в ампулах) або неправильне зберігання (перевищення температури) підвищують ризик. У медичних закладах контамінація може виникати при відкритті ампул або введенні препарату.

Пакувальні матеріали

Контамінація може також виникнути через нестерильні або недостатньо очищені ампули, флакони, пробки, ковпачки. Їх мийка, сушіння та стерилізація повинні проводитись у відповідності до протоколів. У випадках, коли стерильність забезпечується шляхом фільтрації розчину, критичною є стерильність самого контейнера [6, 8].

Таким чином, джерела мікробіологічної контамінації у виробництві ін'єкційних лікарських засобів є численними та різноманітними. Навіть один неконтрольований фактор може стати причиною виходу неякісного продукту, що несе пряму загрозу здоров'ю пацієнтів. Тому вкрай важливо організувати систему всебічного мікробіологічного контролю, яка охоплює всі потенційні джерела забруднення, з обов'язковим проведенням моніторингу, валідації процесів, навчання персоналу та документального супроводу.

1.3. Нормативна база мікробіологічного контролю

Мікробіологічний контроль стерильних ЛЗ регулюється міжнародними та національними стандартами, які встановлюють вимоги до методів, процедур і валідації.

Державна фармакопея України (ДФУ)

ДФУ є основним нормативним документом в Україні, що визначає ме-

тоди мікробіологічного контролю [2-4]. Цей документ, розроблений відповідно до міжнародних стандартів, таких як Європейська Фармакопея (Ph. Eur.), визначає методики, критерії та умови для оцінки стерильності та мікробіологічної чистоти лікарських засобів та впровадження процедур контролю якості.

Державна Фармакопея України містить низку розділів, які безпосередньо стосуються мікробіологічного контролю. Серед них ключовими є:

ДФУ 5.1.1. «Методи виробництва стерильних лікарських засобів» — присвячений методам стерилізації лікарських засобів.

ДФУ 2.6.1 «Стерильність» — деталізує метод мембранної фільтрації як основний підхід до контролю стерильності. Цей метод застосовується для тестування лекційних засобів (засобів у контейнерах, таких як ампули), передбачаючи використання мембранних фільтрів із розміром пор не більше 0,45 мкм.

Ці розділи встановлюють чіткі процедури, включаючи підготовку зразків, умови інкубації та критерії оцінки результатів, що забезпечують уніфікацію підходів у межах фармацевтичної галузі.

Належна виробнича практика (GMP) [10, 11]

Настанова GMP (EudraLex Volume 4) вимагає:

- Валідації асептичних процесів і стерилізації.
- Моніторингу чистих зон (повітря, поверхні, персонал).
- Документації всіх етапів контролю (SOP, протоколи).
- Навчання персоналу та регулярних аудитів.

Міжнародні стандарти

ISO 14644-1: Визначає межі для чистих приміщень (частинки, мікроорганізми).

ISO 13408: Регулює асептичне виробництво, включаючи валідацію фільтрації та наповнення.

Специфічні вимоги до ін'єкційних розчинів

Ін'єкційні розчини, особливо без консервантів, потребують посиленого контролю через їхню вразливість до контамінації. GMP рекомендує додаткові

тести на механічні домішки (візуальний контроль) і стабільність (рН, прозорість). Для біотехнологічних ЛЗ стандарти ICH Q9 (управління ризиками якості) допомагають ідентифікувати критичні точки контролю.

Таким чином, нормативна база (ДФУ, GMP, Ph. Eur., ISO) забезпечує чіткі стандарти мікробіологічного контролю, але сучасні методи потребують валідації для ширшого застосування.

1.4. Методи мікробіологічного контролю

Мікробіологічний контроль є ключовим елементом системи забезпечення якості при виробництві стерильних лікарських засобів. Його основна мета — гарантувати мікробіологічну безпеку готової продукції, а саме — стерильність, відсутність пірогенів та відповідність показникам мікробіологічної чистоти. Контроль здійснюється за допомогою класичних (традиційних) методик, а також сучасних, автоматизованих чи експрес-методів, що значно підвищують чутливість і швидкість отримання результатів [16, 20, 22].

Традиційні методи мікробіологічного контролю

Тест на стерильність [2].

Цей метод є обов'язковим для всіх лікарських засобів, які мають бути стерильними згідно вимог ДФУ. Для водних розчинів, таких як ін'єкційні форми, найбільш прийнятною є мембранна фільтрація — метод, при якому препарат проходить через мікрофільтр (з порами 0,45 або 0,22 мкм), що утримує можливі мікроорганізми. Потім фільтр переносять у живильні середовища (тіогліколеве та соєво-казеїнове) і інкубують до 14 діб. Мембранна фільтрація особливо ефективна при тестуванні препаратів, які містять антимікробні речовини, бо дозволяє видалити інгібітори росту перед культивуванням.

Для препаратів у невеликих об'ємах або з високою в'язкістю використовується метод прямої інокуляції, коли зразок вводять безпосередньо у поживні середовища. Для підтвердження валідності цих методів використовують стандартні тест-штами мікроорганізмів, зокрема *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus brasiliensis*.

Бактеріальні ендотоксини

Випробування на бактеріальні ендотоксини з використанням лізату амебоцитів мечохвоста (*Limulus polyphemus* або *Tachypleus tridentatus*) призначене для виявлення або кількісного визначення ендотоксинів, джерелом яких є грампнегативні бактерії [6]. Існують три основні методологічні підходи проведення цього випробування:

- Гель-тромб метод — заснований на утворенні гелю, що вказує на наявність ендотоксину;
- Турбідиметричний метод — заснований на появі каламутності після розщеплення ендогенного субстрату
- Хромогенний метод — заснований на появі забарвлення після розщеплення синтетичного пептидхромогенного комплексу.

LAL-тест значно переважає класичний кролячий пірогенний тест за чутливістю, швидкістю виконання і гуманністю.

Тест на мікробіологічну чистоту .

ДФУ містить декілька статей, присвячених мікробіологічній чистоті лікарських засобів: 2.6.12 Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів, 2.6.13 Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів [3].

Цей тест дозволяє оцінити загальне мікробне обсіменіння (кількість аеробних мікроорганізмів та дріжджів/плісневих грибів), а також виявити специфічні патогенні мікроорганізми (наприклад, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*) у сировині, допоміжних речовинах і готовій продукції [3, 23, 28].

Основними методами є:

метод висівання на чашках Петрі, метод мембранної фільтрації та метод найбільш вірогідного числа (MPN), який, як правило, має меншу точність під час визначення числа мікроорганізмів, але для деяких груп лікарських засобів із дуже низьким мікробним забрудненням він може бути найбільш прийнятним методом..

Результати порівнюють із гранично допустимими значеннями, зазначеними в ДФУ.

Моніторинг чистих зон.

Для забезпечення мікробіологічної чистоти повітря та поверхонь у виробничих приміщеннях класу А, В, С та D проводять регулярний контроль за допомогою [6,7]:

- седиментаційних пластин, які залишають відкритими впродовж певного часу в критичних точках;
- приладів активного відбору повітря, що засмоктують контрольований об'єм і осаджують мікроорганізми на середовищі;
- контактних чашок для оцінки рівня контамінації поверхонь (обладнання, рук персоналу, одягу);
- тестів на змиви, що дозволяють оцінити рівень мікробного забруднення нерівних чи важкодоступних поверхонь.

Регулярний мікробіологічний моніторинг — важлива частина системи контролю ризиків контамінації та забезпечення відповідності умов GMP.

Альтернативні мікробіологічні методи

Традиційні мікробіологічні методи випробувань добре служать промисловим мікробіологам протягом останніх 100 років. Наприклад, перший фармакопейний тест на стерильність з'явився у Британській фармакопеї у 1932 році. Незважаючи на їхні обмеження, фармакопейні мікробіологічні аналізи досі є регуляторною вимогою для багатьох випусків фармацевтичної продукції [15].

У 80-х та 90-х роках однією з основних проблем традиційних мікробіологічних методів був час до отримання результатів. Потрібні були більш швидкі результати, оскільки аналіз біонавантаження займав щонайменше 5–7 днів, тест на стерильність — 14 днів, аналіз на мікоплазму — 28 днів, а тест на виявлення мікобактерій — 56 днів.

Тоді у 90-х та 2000-х роках з'явився термін «Альтернативні методи», оскільки стало дедалі очевидніше, що традиційні методи пов'язані не лише з тривалим часом до отримання результатів, але й з точністю, прецизійністю,

специфічністю, межами виявлення та кількісного визначення, надійністю тощо. У вжиток увійшов вираз «Альтернативні та Швидкі Мікробіологічні Методи» (ARMM), який включає як нові, так і автоматизовані традиційні (а отже, також «альтернативні») методи. Також використовується вираз «Сучасні Мікробіологічні Методи».

У 90-х роках переважно використовувалися імпедансометрія, епіфлуоресценція та біоломінесценція. Потім у 2000-х роках почали оцінювати та впроваджувати тести на основі нуклеїнових кислот, засновані на ПЛР, а потім qPCR. Фармакопеї можуть здаватися такими, що відстають у впровадженні цих альтернативних методів і досі базуються виключно на традиційних методах, але це не зовсім так. Протягом понад 20 років фармакопеї еволюціонують, пропонуючи керівництва та нещодавні фармакопейні методи, засновані на науці та адаптовані до конкретних потреб [15, 16].

У травні 2003 року, понад 20 років тому, Європейський директорат з якості лікарських засобів (EDQM) організував у Копенгагені, Данія, міжнародний симпозіум на тему «Методи мікробіологічного контролю в Європейській фармакопеї: сьогодення та майбутнє». Під час цього симпозіуму відбулася сесія, присвячена альтернативним або новим мікробіологічним методам. Були представлені доповіді щодо валідації та реєстрації швидких мікробіологічних методів (доктор П. Ньюбі з GSK та доктор Р. Даббах з USP), тестування води за допомогою твердофазної цитометрії (доктор С. Гійомар з Aventis), виявлення мікоплазми за допомогою ПЛР (доктор Л. Малле з Aventis Pasteur та доктор Т. Хаммерле з Baxter), а також ідентифікації мікроорганізмів за допомогою методів 16S рРНК (доктор Т. Сасакі з Національного інституту інфекційних хвороб Японії).

Після цього симпозіуму 2003 року Європейська фармакопея визнала необхідність визнання як з боку європейських регуляторних органів, так і з боку самої Європейської фармакопеї, та створила спеціальну підгрупу для роботи над альтернативними мікробіологічними методами. Це призвело до публікації розділу 5.1.6 у 2006 році та створення спеціальної Робочої групи з мікоплазми

(WP MYC). Тим часом USP вже працювала над керівництвом з валідації альтернативних методів з фармакопейним підходом — розділом <1223>, також опублікованим у USP 29 у 2006 році.

У загальних зауваженнях різних фармакопей є спеціальні розділи про альтернативні аналітичні процедури. За згодою компетентного органу альтернативні процедури можуть використовуватися для цілей контролю, за умови, що вони дозволяють однозначно визначити, чи буде досягнута відповідність стандартам монографій, якщо використовувати офіційні процедури. У разі сумніву або суперечки аналітичні процедури Ph. Eur. є єдино авторитетними.

Альтернативні та швидкі мікробіологічні методи та Європейська фармакопея

Важливим розділом є розділ 5.1.6. «Альтернативні методи контролю мікробіологічної якості» (остання версія застосовується з липня 2017 року). У 2016 році, у додатку 9.2 до Європейської фармакопеї, цей розділ був повністю переглянутий з урахуванням технологічних розробок в альтернативних мікробіологічних методах. Вступ та розділи, що стосуються трьох основних типів мікробіологічних тестів, були переформульовані та розширені. Крім того, була додана інформація про використання альтернативних методів для аналітичної технології процесу (РАТ). Метою цього розділу є сприяння впровадженню та використанню альтернативних мікробіологічних методів там, де це може призвести до економічно ефективного мікробіологічного контролю та покращення забезпечення якості фармацевтичної продукції [15, 20].

Ці альтернативні методи також можуть знайти застосування в моніторингу навколишнього середовища. Описано принципи виявлення, підрахунку, ізоляції та ідентифікації методів, які успішно використовувалися в контролі якості (QC) фармацевтичної продукції, а також надано керівництво щодо валідації альтернативних мікробіологічних методів.

Нарешті, представлено три приклади протоколів валідації альтернативних мікробіологічних методів відповідно до розділу 5.1.6, включаючи тест на

стерильність на основі АТФ, тест на біонавантаження на основі цитометрії твердих фаз та тест на ідентифікацію мікроорганізмів на основі секвенування 16S рРНК.

Паралельно буде також оновлено керівний розділ 5.1.9 «КЕРІВНИЦТВО ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ ТЕСТУ НА СТЕРИЛЬНІСТЬ» і буде включено вказівки щодо можливості використання офіційного методу 2.6.1 Стерильність або альтернативного методу відповідно до принципів, викладених у розділі 5.1.6 «Альтернативні методи контролю мікробіологічної якості».

Для тестування стерильності препаратів на основі клітин розділ 2.6.27 «МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ КЛІТИН» був вперше опублікований у червні 2006 року, а потім оновлений у 2016 та 2021 роках. Цей розділ пропонує, щоб автоматизовані методи на основі росту включали більше гнучкості для температур інкубації та надає приклади налаштувань температури, де об'єм тесту дозволяє дві умови інкубації. Крім того, він включає оновлений список мікроорганізмів, які використовуються для валідації методів. Також додано інформацію про чутливість, яку слід досягти під час валідації. Розділ враховує характеристики та обмеження цих препаратів на основі клітин, зокрема їх термін придатності, який не завжди дозволяє завершити звичайні мікробіологічні дослідження до введення пацієнту. Також обговорюється кількість, доступна для тестування, та пов'язані з відбором проб питання (з запропонованим 1% від загальної кількості продукту для тестування) [15].

У вступі до розділів 2.6.12 «ТЕСТ НА ПІДРАХУНОК МІКРООРГАНІЗМІВ» та 2.6.13 «ТЕСТ НА ВИЯВЛЕННЯ ВИЗНАЧЕНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ» згадується, що альтернативні мікробіологічні процедури, включаючи автоматизовані методи, можуть бути використані за умови, що їх еквівалентність методу Для тестування на стерильність клітинних препаратів глава 2.6.27 "Мікробіологічне дослідження клітинних препаратів" Європейської Фармакопеї була вперше опублікована в червні 2006 року та оновлена у 2016 і 2021 роках.

Ця глава передбачає, що автоматизовані методи, засновані на зростанні мікроорганізмів, можуть включати більшу гнучкість щодо температур інкубації та надає приклади температурних режимів, де об'єм зразка дозволяє використовувати дві умови інкубації. Крім того, вона містить оновлений список мікроорганізмів, що використовуються для валідації методів. Також додано інформацію про чутливість, яку слід досягти під час валідації. Глава враховує характеристики та обмеження цих клітинних препаратів, зокрема їх термін придатності, який може не дозволити завершити традиційні мікробіологічні дослідження до введення пацієнту. Також обговорюються доступні об'єми для тестування та питання, пов'язані з відбором проб (з запропонованим тестуванням 1% від загального об'єму продукту).

У вступі до глав 2.6.12 "Тест на підрахунок мікроорганізмів" та 2.6.13 "Тест на визначені мікроорганізми" зазначено, що альтернативні мікробіологічні процедури, включаючи автоматизовані методи, можуть бути використані за умови, що їх еквівалентність методам Фармакопеї була доведена [15].

У главі 2.6.7 "Мікоплазми", починаючи з січня 2008 року, описані два класичні методи (тобто метод мікробіологічної культури та метод культури індикаторних клітин), а також техніки ампліфікації нуклеїнових кислот (NAT), які можуть бути використані як альтернатива після відповідної валідації. Глава описує керівництво для такої валідації NAT, межу виявлення (LOD), яку слід досягти, та протокол порівняння. Наприкінці 2018 року була створена робоча група WP MYS для оновлення цієї глави. Після перегляду отриманих коментарів та обговорень з відповідними групами експертів/робочими групами, ця глава була змінена та буде повторно опублікована для публічного обговорення в Pharmacopora 36.1 (січень 2024 року). Для отримання додаткової інформації див. презентацію доктора Туї Буржуа, EDQM, на передконференційному семінарі Pharmalab 2023, 20 листопада 2023 року, під назвою "Міжнародний день користувача тестування Mycoplasma qPCR".

Загальна глава 2.6.21 "Техніки ампліфікації нуклеїнових кислот" була опублікована в липні 2014 року. У цій загальній главі метод ПЛР описується

як референтна техніка. Альтернативні методи можуть бути використані, якщо вони відповідають описаним вимогам якості. Цей розділ встановлює вимоги до підготовки зразків, *in vitro* ампліфікації послідовностей ДНК та виявлення специфічних продуктів ПЛР. За допомогою ПЛР можна виявити визначені послідовності ДНК. Послідовності РНК також можуть бути виявлені після зворотної транскрипції РНК до комплементарної ДНК (кДНК) та подальшої ампліфікації. Окремий розділ присвячений забезпеченню якості, і обговорюються два приклади валідації NAT у плазмових пулах (один для HCV та інший для вірусу B19).

На тему ендотоксинів, новий розділ 2.6.32 «Тест на бактеріальні ендотоксини з використанням рекомбінантного фактора С» був опублікований у липні 2020 року та набув чинності з січня 2021 року. Європейська дирекція з якості лікарських засобів та охорони здоров'я (EDQM) стала першою фармакопеею, яка включила до своїх стандартів використання рекомбінантного фактора С (rFC) для тестування ендотоксинів. Цей метод був доданий до програми робочої групи з тестування бактеріальних ендотоксинів (BET) на 131-й сесії Комісії Європейської фармакопеї у червні 2008 року. У 2016 році керівництво розділу 5.1.10 «Керівництво щодо BET» відкрило шлях для використання rFC і зазначило: «використання альтернативних реагентів, таких як рекомбінантний фактор С (rFC), як заміна амебоцитарного лізату, усуває необхідність використання реагентів, отриманих з живих тварин».

Розділ 2.6.32 описує тест BET, який використовує rFC, заснований на генній послідовності підковоподібного краба, та метод флуориметричного визначення кінцевої точки. Цей розділ більше не є окремим і, починаючи з *Pharmeuropa* 34.3 (липень 2022 року), EDQM опублікувала оновлені версії монографій «Вода для ін'єкцій» (0169) та «Очищена вода» (0008), двох фундаментальних монографій Європейської фармакопеї. Обидва тексти були переглянуті, щоб дозволити використання rFC для тестування бактеріальних ендотоксинів, як описано в загальному розділі 2.6.32. Ці перегляди були прийняті, переглянуті монографії опубліковані в додатку 11.4, а дата впровадження — 1

квітня 2024 року. Для користувачів це оновлення означає, що вони можуть безпосередньо обирати тест, описаний у 2.6.32, при тестуванні фармацевтичних вод, тобто без необхідності паралельного порівняння з тестами, описаними в загальному розділі 2.6.14 «Бактеріальні ендотоксини».

Порівняння методів

Традиційні методи є надійними, але тривалими (14 днів для стерильності), що уповільнює випуск серій. Сучасні методи (АТФ, ПЛР) швидші, але потребують дорогого обладнання та валідації за GMP. Наприклад, ПЛР не виявляє нежиттєздатні клітини, що може впливати на інтерпретацію результатів. Комбіновані підходи (мембранна фільтрація + ПЛР) є перспективними для ін'єкційних ЛЗ.

Усі методи контролю підлягають валідації за GMP, щоб підтвердити їх чутливість, специфічність і відтворюваність. Для швидких методів валідація включає порівняння з традиційними (Ph. Eur. 5.1.6) і тестування на тест-штамах .

Загалом інтерес до альтернативних мікробіологічних методів контролю (АРММ) у фармацевтичній промисловості залишається високим. Це переважно зумовлено більш ніж 20-річним досвідом і зворотним зв'язком щодо деяких методів, а також появою низки АРММ, спеціально розроблених для використання у фармацевтичному секторі. Однак реєстрація та повне впровадження АРММ досі залишаються досить низькими, незважаючи на незначне зростання, спостережене з 2020 року.

Традиційні мікробіологічні методи, що використовуються для виявлення, підрахунку та ідентифікації мікроорганізмів, важко назвати сучасними. Ці методи були дуже успішними, залишаються досить дешевими та простими у виконанні. Проте вони також трудомісткі, потребують від 5 днів (для біобурдену) до 56 днів (для виявлення мікобактерій) на отримання результатів і вимагають експертної інтерпретації, що в окремих випадках може викликати питання щодо цілісності даних. Крім того, ці методи важко автоматизувати і вони ніколи не забезпечать дані в режимі реального часу для точного і оперативного

контролю процесу.

На відміну від них, методи АРММ можуть надавати швидкі результати, у деяких випадках — в реальному або близькому до реального часу, зокрема при використанні в лінійних або онлайн РАТ-застосуваннях. Такі застосування зазвичай легше автоматизувати, вони більш ефективні з точки зору витрат праці та демонструють відмінне дотримання принципів цілісності даних. Існує реальна потреба у впровадженні, валідації та використанні цих АРММ у фармацевтичній промисловості, адже вони можуть допомогти відповідати вимогам високотехнологічної та конкурентоспроможної індустрії ХХІ століття!

Протягом понад 20 років фармакопеї допомагають і підтримують фармацевтичн у промисловість, працюючи над розвитком альтернативних мікробіологічних методів, принаймні у вигляді рекомендацій, а іноді і як кращих фармакопейних альтернативних методів. Це сприяло впровадженню нових методів і направляло майбутніх користувачів щодо валідації та впровадження їхніх підходів до моменту їх прийняття компетентними органами охорони здоров'я.

Висновок до розділу 1

Забезпечення мікробіологічної чистоти стерильних ЛЗ, зокрема розчинів для ін'єкцій, базується на принципах стерильності, апірогенності, асептичних умов і валідації процесів. Мікробіологічна стабільність залежить від фізико-хімічних властивостей розчинів, упаковки, умов зберігання та технології виробництва. Основні джерела контамінації включають сировину, устаткування, персонал, повітря чистих зон і перехресну контамінацію, що вимагає багатоступеневого контролю. Нормативна база (ДФУ, GMP, Ph. Eur., ISO) забезпечує чіткі стандарти, але сучасні методи контролю, такі як ПЛР і АТФ-біолюмінесценція, потребують валідації для ширшого застосування. Комплексний підхід до мікробіологічного контролю є ключовим для забезпечення безпеки та якості ін'єкційних ЛЗ.

РОЗДІЛ II

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Біорегуляторні пептиди в терапії захворювань

Застосування з лікувальною метою отриманих із тканин тварин екстрактів сягає корінням у далеке минуле. Протягом багатьох століть і тисячоліть як лікарські засоби їх використовували представники всіх відомих цивілізацій. Так, у традиційній китайській медицині понад 1500 використовуваних зілля мають тваринне походження, значна їх кількість описана в давньоіндійських трактатах з аюрведичної медицини. Різні екстракти й витяжки біологічного походження використовували лікарі Давнього Єгипту та доколумбової Америки. У давніх слов'ян лікарські засоби на основі тканин тварин також займали важливе місце в арсеналі цілителів [1, 25].

У 1778 р. було створено фармацевтичний реєстр *Pharmacosopoea*, значна частина якого була присвячена опису лікарських засобів тваринного походження, що можна розглядати як їхнє визнання з боку офіційної медицини. Перші наукові дослідження ефективності екстрактів тканин тварин були проведені у ХІХ ст. і пов'язані з іменами французького фізіолога Ш. Броун-Секара та І.І. Мечникова, який досліджував біологічні властивості «сперміна». Цим терміном позначали субстрати, отримані з тканин сім'яників, яєчників, селезінки та інших органів.

На сьогодні з лікувальною метою використовують сотні лікарських препаратів тваринного походження, і важливе місце серед них займають біорегуляторні пептиди. Сучасна історія їхнього вивчення бере початок із 1970-х років, коли дослідники В.Х. Хавінсон і В.Г. Морозов розробили методику отримання з тканин тварин особливих біологічно активних речовин пептидної природи — цитомединів.

Згодом було встановлено, що подібні субстанції містяться практично в усіх органах і тканинах, функціонально належать до медіаторної ланки системи біорегуляції, а їхня біологічна активність визначається специфічними

олігомерними молекулами — низькомолекулярними пептидами, що складаються з амінокислот. Подальші дослідження продемонстрували регулюючий вплив цитомединів на різні фізіологічні функції, що стало підставою віднести їх до класу регуляторних пептидів [1, 25].

В основі вчення про регуляторні пептиди лежить концепція пептидної регуляції фізіологічних процесів. Згідно з цією концепцією, пептидна регуляція розглядається як найважливіший і найдавніший механізм координації життєдіяльності, що виник у процесі еволюції багатоклітинних організмів, у якому носіями й передавачами міжклітинної інформації є безпосередньо самі пептиди. Регуляторні пептиди відрізняються поліфункціональністю, причому для кожного типу молекул існує своя особлива унікальна програма, яка визначає як їхню безпосередню дію як активаторів чи інгібіторів фізіологічних процесів, так і здатність індукувати вихід інших речовин, що мають подібні властивості. Після синтезу в організмі ендогенних або надходження ззовні екзогенних регуляторних пептидів вивільняються нові порції біологічно активних речовин, які, у свою чергу, ініціюють вихід наступної групи пептидних регуляторів. Таким чином формується процес, що позначається терміном «пептидний каскад». Внаслідок цього пептидна біорегуляція має виняткову гнучкість і дозволяє за короткий час у потрібному місці утворювати необхідну кількість потрібних регуляторних субстанцій.

Застосування біорегуляторних пептидів у клінічній практиці має фундаментальне наукове обґрунтування. Найважливішою метою лікувального впливу є корекція функціональної активності клітин у потрібному напрямку. Функцію міжклітинних медіаторів виконують як секреторні білки — цитокіни, так і пептидні біорегулятори, що підтримують структурний і функціональний гомеостаз клітинних популяцій. Механізм біологічної активності біорегуляторних пептидів на молекулярному рівні можна уявити так: олігомерні пептиди проникають у ядро клітини через цитоплазму і ядерну мембрану. Комплементарна взаємодія цих пептидів із промоторними зонами генів є сигналом

для транскрипції, трансляції та синтезу білків на рибосомах. Ці процеси сприяють зміні функції різних органів і тканин, тим самим забезпечуючи необхідний терапевтичний ефект.

Застосування екзогенних пептидних біорегуляторів із лікувальною метою має низку унікальних особливостей. З одного боку, їхній лікувальний вплив не обмежується лише безпосередньо часом прийому препарату. Через наявність пептидного каскаду лікувальний ефект зберігається тривалий час після припинення надходження препарату в організм. Відносно короткий 5–10-денний курс лікування може призводити до запуску каскадної реакції тривалістю 2, 4, а за деякими даними, і до 6 місяців. Іншою особливістю клінічного застосування пептидних біорегуляторів є те, що їхній кінцевий ефект не посилюється при збільшенні кількості введеного в організм пептидного препарату, оскільки для кожного пептиду існує певна межа, після якої збільшення дози вже не викликає посилення клінічної дії. Цей ефект зумовлений каскадним принципом біорегуляції, при якому для запуску ланцюгової реакції достатньо певної, зазвичай незначної, кількості субстрату. З наявністю пептидного регуляторного каскаду також пов'язана відсутність дозозалежності ефектів регуляторних пептидів, коли призначений у мінімальній дозі препарат може сприяти досягненню суттєвих клінічних результатів [1, 25].

Спочатку пептидні препарати тваринного походження передбачалося використовувати лише для відновлення й нормалізації функції тих органів і тканин, із яких вони були отримані. Згодом було виявлено, що ці пептиди мають також значну системну дію на найважливіші фізіологічні процеси, впливаючи на клітинному й молекулярному рівнях. Саме з цієї причини тканинні пептидні екстракти згодом стали називати біорегуляторними пептидами. Цим підкреслювалася можливість їхньої участі в регуляції базових фізіологічних процесів людського організму — диференціації й проліферації клітин, розвитку й старіння організму, обміну й відтворення генетичної інформації.

2.2 Фармакологічна активність Простатилену

На сьогодні в клінічній практиці застосовують пептидні препарати з тиму, кори головного мозку та низки інших органів і тканин, однак найбільшого поширення набули лікарські препарати, створені на основі передміхурової залози. Простатичні пептиди були вперше отримані в середині 1980-х років із передміхурової залози биків. Як і в інших біорегуляторних пептидів, у них була відсутня видоспецифічність, але була виявлена виражена тканеспецифічність, тобто в даному випадку тропність до тканини простати. Тому, маючи значний системний ефект, простатичні пептиди виявили здатність впливати найбільшою мірою на свій орган-мішень — передміхурову залозу. Згодом шляхом ультрафільтрації простатичного пептидного комплексу була виділена лікувальна форма препарату — Простатилен [2, 19, 15].

Результати вже перших експериментальних досліджень виявили у Простатилену різноманіття біологічних властивостей, які згодом отримали клінічне підтвердження. Було виявлено протизапальну й імунотропну дію, здатність покращувати гемодинаміку й реологічні властивості крові, а також прямий міотропний ефект.

Вплив препарату простати на стан мікроциркуляції зумовлений кількома факторами. Простатилен чинить гіпокоагуляційну дію і знижує ступінь агрегації тромбоцитів. Простатилен перешкоджає адгезії тромбоцитів при пошкодженні ендотелію й призводить до зменшення агрегації тромбоцитів.

Простатичні пептиди також безпосередньо впливають на тромбоутворення. Встановлено, що частота тромбозу венул у експериментальних тварин і площа поперечного перерізу тромбів при впливі Простатилену суттєво нижчі, ніж у контрольній групі. Підвищення тромборезистентності венул, можливо, пов'язане з впливом регуляторних пептидів на біосинтез простагліну в судинній стінці. Крім того, у простатичних пептидів виявлено здатність посилювати фібринолітичну активність крові.

Таким чином, вплив пептидів простати на систему гемостазу зумовле-

ний впливом як на процеси згортання крові й фібринолізу, так і на тромбоцитарно-судинний механізм. Ці ефекти зумовлюють здатність Простатилену відновлювати реологічні властивості крові й покращувати мікроциркуляцію в уражених органах. Нормалізація гемодинаміки є найважливішим фактором успішного лікування запальних захворювань.

У Простатилену виявлено також прями́й протизапальний ефект. З одного боку, він зумовлений здатністю Простатилену посилювати синтез антигістамінних і антисеротонінових антитіл. Іншою можливою причиною протизапальної дії екстрактів простати є ймовірна наявність у них агентів, що пригнічують MCP-1-стимульовану клітинну міграцію. Враховуючи, що MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) є одним із основних хемокінів, які забезпечують міграцію моноцитів/макрофагів, NK-клітин і активованих Т-лімфоцитів у вогнище запалення, наявність цього механізму протизапальної дії простатичних пептидів може мати велике практичне значення [2, 19, 15].

Висока біологічна активність Простатилену проявляється у здатності модулювати метаболічні процеси. В експерименті показано, що введення Простатилену в дозі 0,02 мг в 1 мл фізіологічного розчину дрібним лабораторним тваринам через день протягом трьох тижнів призводило до зменшення рівня тригліцеридів, загального холестеролу й сечової кислоти в сироватці крові й збільшення вмісту серотоніну й катехоламінів у сім'яниках/

Важливе клінічне значення має імунотропний ефект Простатилену, що проявляється модуляційною й стимулюючою дією. Встановлено, що Простатилен сприяє збільшенню функціональної активності Т-лімфоцитів, NK-клітин і фагоцитів. Показано, що Простатилен *in vitro* підвищує базальний тонус і скоротливу активність детрузора, підвищує амплітуду його фазових скорочень. При цьому простатичні пептиди викликають зниження спонтанної скоротливої активності детрузора, що, можливо, пов'язано з впливом пептидів на пейсмеркерні гладком'язові клітини сечового міхура. Таким чином, Простатилен чинить регулюючий вплив на детрузор — посилює знижену скоротливу

активність і гальмує підвищену. Цей унікальний ефект Простатилену має суттєве клінічне значення [2, 19, 15].

Простатилен має низку важливих властивостей, притаманних також іншим пептидним біорегуляторам. Однією з них є виражений геропротекторний ефект. Проведені дослідження показали, що препарат стимулює ріст культур клітин передміхурової залози, отриманих від молодих і старих тварин, демонструючи високу тканеспецифічність і селективність молекулярного механізму дії на регенерацію.

У літературі наведено дані про можливість використання «Простатилену» в комплексній терапії чоловічого безпліддя, аденоми простати, а також для профілактики післяопераційних ускладнень у чоловіків похилого віку. Препарат має потенціал до подальших розробок — зокрема, у формі пролонгованих ін'єкційних систем або мікрокапсульованих форм, що покращують біодоступність пептидів.

Таким чином, «Простатилен» є високоефективним біотехнологічним препаратом з доведеною дією та безпечним профілем. Його виробництво потребує дотримання високих стандартів стерильності та контролю якості, особливо на стадії отримання субстанції та виготовлення ін'єкційного розчину, що й обумовлює актуальність дослідження питань мікробіологічного контролю в процесі виробництва даної лікарської форми.

Чутливість пептидів до температур і рН, а також біологічне походження сировини підвищують ризик мікробіологічної контамінації, що вимагає посиленого контролю на всіх етапах виробництва. Гліцин у складі запобігає деградації пептидів, але не має антимікробної дії, що підкреслює важливість асептичних умов.

2.3. Методи досліджень

Показники якості ін'єкційного розчину «Простатилен, що визначались за методиками ДФУ, наведені у табл. 2.1

Таблиця 2.1

Показник якості	Метод контролю	Посилання на ДФУ
Прозорість	Візуальний	ДФУ, 2.2.1
Кольоровість	Візуальний	ДФУ, 2.2.2
pH розчину	Потенціометричний	ДФУ, 2.2.3
Об'єм, що витягається	Об'ємний	ДФУ, 2.9.17
Стерильність	Мембранної фільтрації	ДФУ, 2.6.1
Механічні включення: - видимі частки - невидимі частки	Практично вільний від часток. Часток з розміром ≥ 10 мкм має бути не більше 6000 в ампулі; часток з розміром ≥ 25 мкм має бути не більше 600 в ампулі	ДФУ, 2.9.20 ДФУ, 2.9.19, <i>метод 1</i>

Методика визначення впливу фільтруючих матеріалів на показники якості розчину

У три колби з притертими пробками вносять зразки препарату «Проста-тилен, розчин для ін'єкцій» разом із досліджуваними фільтрувальними матеріалами в пропорції 1 мл випробуваного розчину на 1 см² поверхні фільтруючого матеріалу. У четверту колбу, яка виконує функцію контролю, додають лише препарат — без додавання фільтра.

Після цього всі ємності герметично закривають і витримують протягом трьох діб при температурі 15–25 °С. По завершенні експозиції зразки аналізують на прозорість, кольоровість, значення pH та вміст активної речовини згідно з методиками, зазначеними у МКЯ.

Фільтрувальний матеріал визнається придатним, якщо результати трьох паралельних визначень не відрізняються від показників контрольного зразка.

РОЗДІЛ III

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Особливості технологічного процесу отримання субстанції Простатилен

Ефективність і безпека клінічного застосування Простатилену безпосередньо пов'язані з особливостями його виробництва. Технологія створення Простатилену включає принцип послідовної фільтрації вихідної біологічної фракції з мікронним рейтингом 13 кДа для кінцевого фільтра. Це дозволяє відсікати пептиди з молекулярною масою вище цього значення. Відсутність високомолекулярних сполук у складі Простатилену сприяє гарній переносимості лікування. Це пов'язано як зі зниженням ризику розвитку алергічних реакцій при використанні пептидної фракції з низькою молекулярною масою, так і з забезпеченням пріонної безпеки. Відомо, що молекулярна маса нормальної форми пріонного білка становить 33–35 кДа, а патогенної форми — 27–30 кДа.

Незважаючи на те, що тканина передміхурової залози відноситься до «тканин з відсутнім ризиком пріонного зараження» (категорія IC), не можна повністю виключати ризик контамінації сировини, тому фільтрація є додатковим заходом забезпечення безпеки та запобігання розвитку пріонних захворювань.

Для отримання Простатилену використовується тканина передміхурової залози великої рогатої худоби, яка піддається екстракції з використанням спеціальної технології очищення. Основною метою технологічного процесу є збереження біологічної активності пептидів і видалення домішок, які можуть викликати побічні реакції. У процесі виробництва застосовуються методи ультрафільтрації, що дозволяють отримати низькомолекулярні пептидні фракції з високим ступенем очищення.

Опис технологічного процесу отримання субстанції Простатилен

ВР 1. Підготовка виробництва

Підготовку виробництва здійснюють відповідно до затверджених процедур.

Перед початком процесу виробництва та пакування проводять санітарну підготовку (очищення, миття та дезобробку) виробничих приміщень та обладнання.

Якість проведення санітарної підготовки підтверджується постійним моніторингом виробничого середовища згідно із затвердженими графіками:

- мікробіологічний контроль повітря;
- змиви з поверхонь приміщення;
- змиви з поверхні обладнання;
- змиви з рук/рукавичок персоналу;
- змиви з технологічного одягу;
- контроль кількості аерозольних частинок у повітрі.

Готовність приміщення до роботи підтверджується постійним моніторингом навколишнього середовища:

- температура і вологість;
- перепад тиску між приміщеннями.

Показання реєструються не менше 3-х разів на день. Статус приміщень та обладнання у процесі всіх робіт маркується бирками маркувальними. Про готовність приміщень і обладнання до роботи свідчить відмітка в протоколі санітарної підготовки «Підготовлено до роботи». Безпосередньо перед початком технологічного процесу встановлюється бирка «Виробництво» або «Упаковка». Протоколи санітарної підготовки та підготовки виробництва є частиною Досьє серії лікарського засобу.

При виникненні невідповідностей/відхилень проводяться роботи відповідно до затверджених процедур. Протоколи відхилень є частиною Досьє серії.

ВР 2. Підготовка сировини та матеріалів

Усе, що надходить у виробництво: сировина, матеріали, допоміжні матеріали для забезпечення виробництва підлягає обов'язковому вхідному контролю. Вхідний контроль на відповідність вимогам Специфікацій згідно з СОП 9-09-001 «Порядок вхідного контролю» здійснює ОКК. На підставі проведе-

них аналізів видається Аналітичний листок на кожну серію/партію. Аналітичний листок із записом «Дозволено до використання» є дозволом на використання сировини, матеріалів, допоміжних матеріалів для забезпечення виробництва у виробництві.

Сировину, матеріали та допоміжні матеріали для забезпечення виробництва отримують зі складу в цех згідно з СОП 6-03-001 «Отримання зі складу сировини. Повернення невикористаних залишків», СОП 6-03-002 «Отримання зі складу пакувальних матеріалів. Повернення невикористаних залишків», СОП 6-23-008 «Порядок зберігання і використання в процесі виробництва сировини, матеріалів, реактивів, деззасобів і проміжної продукції» та СОП 9-09-003 «Оборот допоміжних матеріалів для забезпечення виробництва».

Процес підготовки сировини і матеріалів (перевірка, очищення, звільнення від вторинної упаковки) проводиться в некласифікованих приміщеннях.

Передача у виробничі приміщення сировини і матеріалів первинної упаковки здійснюється через матеріальні шлюзи.

ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ «ПРОСТАТИЛЕН»

ВР 2.1. Дефростація залоз передміхурової залози

Приміщення - операція проводиться в некласифікованому приміщенні № 022.

Обладнання – ваги, збірники, холодильна шафа.

Заморожені залози зважують і залишають для розморожування в приміщенні за температури (17-23) °С або в холодильній шафі за (0-7) °С. Розморожені залози звільняють від сторонніх тканин, відважують необхідну на завантаження кількість залоз розморожених підготовлених і передають на операцію ВР 2.2 Подрібнення залоз передміхурової залози.

Залишок залоз розморожених підготовлених зважують, маркують і поміщають у морозильну камеру.

ВР 2.2. Подрібнення залоз передміхурової залози

Приміщення - операція проводиться в некласифікованому приміщенні № 021.

Обладнання - м'ясорубка, збірники

Залози розморожені підготовлені вручну завантажують в установку для подрібнення.

Проводять подрібнення. У міру подрібнення залози передають на операцію ВР 2.3. "Приготування розчину для екстракції. Екстракція, відділення макухи та центрифугування".

ВР 2.3. Приготування розчину для екстракції.

Екстракція, відділення макухи та центрифугування.

Приміщення - операції проводяться в некласифікованому приміщенні № 021.

Обладнання – реактор, ваги, нутч-фільтр, центрифуга, перистальтичний насос, збірники, мірники

Приготування розчину для екстракції проводять у реакторі. У сорочку реактора подають охолоджувальну воду. Завантажують у реактор попередньо відміряні кількості води очищеної та кислоти оцтової. Перемішують. Після чого охолоджують розчин і завантажують цинку хлорид. Перемішують до повного розчинення цинку хлориду. Завантажують подрібнені залози та перемішують. Контролюють рН, за необхідності проводять коригування кислотою оцтовою/розчином натрію гідроокисом 20 %. Проводять екстракцію передміхурової залози. Перемішування в процесі екстракції в автоматичному режимі. У процесі екстракції контролюють рН і температуру в реакторі.

Екстракційну суміш із реактора подають на нутч-фільтр і проводять відділення макухи.

Перевіряють повноту відділення макухи від екстракту, у разі перевищення проводять повторне відділення. Відфільтрований екстракт збирають у збірники та передають на операцію Центрифугування або в холодильну камеру.

Отриману макуху передають для повторної екстракції, для цього:

до сорочки реактора подають охолоджувальну воду, завантажують до реактора попередньо відміряні кількості води очищеної та кислоти оцтової.

Перемішують. Після чого охолоджують розчин і завантажують цинку хлорид. Перемішують до повного розчинення цинку хлориду. Завантажують макуху, отриману після однієї або декількох операцій екстракції, і перемішують. Контролюють рН, за необхідності проводять коригування кислотою оцтовою/розчином натрію гідроокисом 20 %. Проводять повторну екстракцію передміхурової залози. Перемішування в процесі екстракції відбувається в автоматичному режимі. У процесі екстракції контролюють рН і температуру в реакторі.

Екстракційну суміш із реактора подають на нутч-фільтр і проводять відділення макухи.

Перевіряють повноту відділення макухи від екстракту, у разі перевищення проводять повторне відділення. Відфільтрований екстракт збирають у ємності та передають на операцію Центрифугування або в холодильну камеру.

Відфільтровані екстракти подають на центрифугу. Центрифугують. Отриманий фугат збирають у ємності та передають на операцію ТП 2.4. «Ультрафільтрація розчину простатиліну» або в холодильну камеру.

ТП 2.4. Ультрафільтрація розчину простатиліну

Приміщення - операція проводиться в некласифікованому приміщенні № 010.

Обладнання - збірник з теплообмінником, установка ультрафільтрації, установки ультрафільтрації з розділовими модулями, перистальтичний насос, збірники.

Отриманий фугат з операції центрифугування поміщають у збірник з теплообмінником, з якого на рециркуляції подають на Установку ультрафільтрації або на Установку ультрафільтрації з розділовими модулями (пропускна здатність 50 кДа). Проводять процес ультрафільтрації. Ультрафільтрат збирають у градуйовані збірники. Контролюють білок в ультрафільтраті, у разі наявності білка процес ультрафільтрації повторюють на Установці ультрафільтрації з розділювальними модулями.

Збірники з ультрафільтратом передають у холодильну камеру, або на операцію ТП 2.5. Концентрування розчину простатиліну (для виробництва

простатилену порошку), або на операцію Отримання простатилену порошку

ТП 2.5. Концентрування розчину простатилену

Приміщення - операція проводиться в некласифікованому приміщенні № 010.

Обладнання - збірник з теплообмінником, установка зворотного осмосу, установка ультрафільтрації з розділовими модулями, перистальтичний насос, відградуйовані збірники.

Отриманий ультрафільтрат з операції ТП 2.4 «Ультрафільтрація розчину простатилену» поміщають до збірки з теплообмінником, з якої на рециркуляції подають на установку зворотного осмосу або на установку ультрафільтрації з розподільними модулями (пропускна спроможність 5 кДа).

Концентрування проводять до отримання екстракту з кількісним вмістом пептидів (15-20) мг/мл.

Після закінчення процесу сповіщають ОКК.

Отриманий Простатилен, концентрат переносять у відградуйовані збірники та передають на операцію ТП 2.6. «Фільтрація та сушіння розчину простатилену» або в холодильну камеру.

ТП 2.6. Фільтрація та сушіння розчину простатилену

Приміщення - операції проводяться в приміщенні № 107, клас чистоти: D (із зоною C).

Обладнання - розпилювальна сушарка, проміжні ємності, ваги, установка напірної фільтрації, перистальтичний насос, мірники, збірники, контейнери.

Отриманий Простатилен концентрат з операції ТП 2.5 поміщають у збірку, відважують на вагах розрахункову кількість гліцину і завантажують його до простатиленового концентрату. Перемішують до повного розчинення гліцину. Контролюють повноту розчинення та рН. За необхідності проводять коригування (кислотою оцтовою крижаною/ розчином натрію гідроокисом 20 %).

Перевіряють режим сушарки розпилювальної: температуру на вході, на

виході, час виходу на заданий режим. За допомогою перистальтичного насосу через установку напірної фільтрації подають воду очищену в мірник. За допомогою води очищеної виводять розпилювальну сушарку на робочий режим.

За допомогою перистальтичного насоса через установку напірної фільтрації подають Простатилен концентрат у мірник. Проводять сушіння Простатилену концентрату. Висушений Простатилен, порошок збирають у переносні контейнери. Контейнери герметично закривають. Зважують на вагах. Забезпечують биркою маркувальною і передають на операцію

УМО 2.7. Упаковка простатилену порошку в контейнери

Приміщення - пакування простатилену порошку в контейнери проводиться в приміщенні № 107, клас чистоти: D (із зоною C)

Маркування контейнерів і групове пакування проводиться в приміщенні № 011, клас чистоти: приміщення, що не класифікується.

Обладнання - стіл пакувальний, ваги.

Перед початком операції ОКК проводить відбір проб. Простатилен, порошок упаковують у контейнери пластмасові. На вагах у контейнерах зважують задану кількість порошку (по 150 г - 300 г залежно від насипної щільності). Контейнери закривають кришками і передають у приміщення № 011 для маркування та пакування в ящики.

Перед початком маркування та пакування звіряють графічне оформлення етикеток контейнера і групових етикеток.

Наклеюють на контейнер етикетку. В етикетку кожного контейнера вносять статус «Карантин». Контейнери поміщають у ящики, маркують етикеткою зі статусом «Карантин» і розміщують у зоні карантинного зберігання та сповіщають ОКК про готовність серії.

Після отримання з ОКК Аналітичного листка вносять в етикетки статус «Дозволено», ящики обклеюють стрічкою скотч і передають на склад для подальшого використання у виробництві готових лікарських форм..

Отримання Простатилену, водного екстракту із передміхурової залози статевозрілих бичків

ТП 2.5. Ультрафільтрація II

Приміщення - ультрафільтрацію II проводять у приміщенні класу чистоти: D (із зоною C).

Обладнання - перистальтичний насос, установки ультрафільтрації з розділовими модулями, мірники

В отриманому ультрафільтраті I вимірюють рН, у разі потреби проводять коригування натрію гідроокисом (до 5,6-6,6) і подають ультрафільтрат на Установку ультрафільтрації з розділовими модулями. Проводять процес ультрафільтрації. Ультрафільтрат II збирають у градуйовані збірники. Збірники з ультрафільтратом II передають на операцію ТП 2.6. «Стерилізуюча фільтрація» або в Холодильну камеру.

Таким чином, технологічний процес отримання субстанції є багатоетапним і передбачає попередню підготовку сировини, її подрібнення, екстракцію у водному середовищі при контрольованій температурі, видалення механічних домішок та білкових фракцій, що не мають фармакологічної активності, а також стадії концентрації, осадження, ліофілізації або сушіння. Важливим етапом є мембранна фільтрація або інші методи очищення (наприклад, діаліз або хроматографія), які дозволяють видалити небажані домішки та отримати стабільний склад пептидного комплексу.

Субстанція повинна відповідати встановленим вимогам якості, які регламентуються нормативною документацією, зокрема фармакопейними статтями, технічними умовами або аналітичними нормами підприємства-виробника. Основні показники якості включають (табл.2.1):

Зовнішній вигляд — порошок білого або світло-жовтого кольору, гігроскопічний, без сторонніх включень.

Ідентифікація — підтвердження білково-пептидної природи методом ІЧ-спектроскопії, хроматографії або хімічної реакції на пептидні зв'язки.

Чистота — обмеження вмісту важких металів, залишкових розчинників, мікробіологічних домішок.

Мікробіологічна чистота — обов’язкова відсутність патогенних мікроорганізмів, зокрема *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, а також низький загальний рівень аеробної та анаеробної контамінації.

Вологість — як показник стабільності субстанції, що впливає на її зберігання та біологічну активність.

Стерильність — у випадку використання субстанції для виготовлення ін’єкційних форм без подальшої стерилізації термічними методами.

Таблиця 3.1

Специфікація – ПРОСТАТИЛЕН, водний екстракт з передміхурової залози статевозрілих биків (НАПІВФАБРИКАТ)

Найменування показника	Вимоги НД	Методи контролю
Опис	Прозора безбарвна або зі слабким жовтуватим відтінком рідина, без видимих часток	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004, Візуально
Прозорість	Має бути прозорим	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004
Кольоровість	Не інтенсивніше Y4	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004, ДФУ (2.2.1)
pH	Від 5,0 до 6,6	За п. 6.1. СТП, ДФУ (2.2.3)
Стерильність	Має бути стерильним	За п. 6.1. СТП, ДФУ (2.6.1)
Бактеріальні ендотоксини	Граничний вміст ендотоксинів – менше 87,5 МО/мл	ДФУ (2.6.14)
Цинк	Не більше 0,7 %	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004
Високомолекулярні домішки	На хроматограмі випробуваного розчину сума площ піків з часом утримування менше часу утримування аналіту на хроматограмі розчину порівняння не має перевищувати 10 % від суми площ всіх піків на	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004, ДФУ (2.2.29)

	хроматограмі випробуваного розчину	
Кількісний вміст пептидів	Не менше 1,5 мг в 1 мл	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004
Натрію хлорид	Не більше 9,9 мг в 1 мл	За п. 6.1. СТП, МК 004942/02-004, ДФУ (2.2.25)
Відносна густина	Не менше 1,000 г/см ³	За п. 6.1. СТП, ДФУ (2.2.5) (метод 1)
Пакування	Стерильні флакони	
Маркування	Має відповідати Додатку 1 до СТП № УСПЛК – 002	
Умови зберігання	За температури від +2 °С до +8 °С	
Термін придатності	12 місяців	

Особливу увагу слід приділяти можливим джерелам контамінації. Біологічна сировина має високий ризик забруднення мікроорганізмами, тому технологія повинна забезпечувати належну санітарну обробку, стерильні умови на критичних етапах (наприклад, після очищення), а також передбачати фільтраційне або термічне знешкодження, якщо це не шкодить стабільності активних компонентів.

Оскільки пептидні препарати чутливі до дії високих температур, стерилізація субстанції зазвичай не проводиться шляхом автоклавування. Натомість виробник має гарантувати стерильність розчину шляхом забезпечення стерильних умов у виробничому процесі або шляхом фільтраційної стерилізації готового розчину.

Останнім етапом технології є висушування субстанції (наприклад, методом ліофілізації), що дозволяє зберігати її протягом тривалого періоду при температурі 2–8 °С. Зберігання субстанції в сухому вигляді забезпечує стабільність пептидів, які можуть бути дестабілізовані при наявності вологи або кисню.

Таким чином, отримання субстанції «Простатилен» вимагає ретельного дотримання гігієнічних норм, застосування сучасних методів очищення та знешкодження, а також ефективного мікробіологічного контролю, який гарантує

відсутність патогенної мікрофлори та забезпечує безпеку та ефективність готової лікарської форми.

В даний час Простатилен випускається у вигляді ліофілізованого порошку для приготування розчину для внутрішньом'язового введення (ампули по 5 мг) і у формі ректальних супозиторіїв (свічок) по 30 і 50 мг. Кожна лікарська форма має свої особливості застосування і показання до використання. Вибір форми препарату здійснюється лікарем залежно від клінічної ситуації, віку пацієнта, наявності супутньої патології та індивідуальної переносимості.

3.2. Методи забезпечення стерильності ін'єкційних лікарських засобів

Стерильність — критичний показник якості ін'єкційних препаратів, що гарантує повну відсутність життєздатних мікроорганізмів. У разі препаратів біологічного походження, таких як «Простатилен», які неможливо термічно стерилізувати без втрати активності, застосовується стерилізуюча фільтрація, що повинна бути валідована та підтверджена тестами на стерильність.

Методи стерилізації

Залежно від властивостей субстанції або готового розчину, фармацевтична промисловість застосовує кілька основних методів стерилізації

Таблиця 3.2

Методи стерилізації

Метод стерилізації	Суть методу	Переваги	Обмеження / Недоліки
Парова стерилізація (автоклавування).	Стерилізація парою під тиском при 121 °C протягом ≥ 15 хв (автоклавування)	Висока ефективність; стандартизований метод	Непридатна для термолабільних речовин і біологічних препаратів

Сухожарова стерилізація	Обробка при 160–180 °С протягом 2–3 годин	Підходить для скляного посуду, масел, порошків	Не застосовується для водних розчинів; повільне прогрівання
Газова стерилізація	Використання стерилізуючого газу при низьких температурах	Підходить для термочутливих матеріалів та пластмас	Потенційна токсичність; потреба в контролі залишкового газу (десорбція)
Радіаційна стерилізація.	Стерилізація іонізуючим випромінюванням (Co-60, Cs-137)	Глибоке проникнення; ефективність для упакованих виробів	Висока вартість; можлива деградація біологічно активних речовин
Стерилізуюча фільтрація	Мембранна фільтрація через фільтр з номінальним розміром пор $\leq 0,22$ мкм	Підходить для термолабільних субстанцій, розчинів	Потребує валідації здатності фільтра затримувати мікроорганізми; не усуває віруси або пірогени

Ін'єкційний розчин «Простатилен» містить пептидні компоненти біологічного походження, які є термолабільними, тому термічна стерилізація є непридатною. Згідно з вимогами ДФУ, у таких випадках обов'язковим є застосування стерилізуючої фільтрації через мембранні фільтри з номінальним розміром пор не більше 0,22 мкм.

Стерилізуюча фільтрація як метод забезпечення стерильності

Стерильність є однією з ключових вимог до розчинів для ін'єкцій, оскільки наявність навіть незначної кількості мікроорганізмів у препараті може призвести до тяжких ускладнень у пацієнтів, включаючи сепсис, анафілактичний шок та інші загрозливі для життя стани. Серед різноманітних методів забезпечення стерильності особливе місце займає стерилізуюча фільтрація, яка

широко застосовується у виробництві лікарських засобів, особливо біологічного походження, до яких належить і розчин Простатилену.

Стерилізуюча фільтрація — це фізичний метод видалення мікроорганізмів із рідких середовищ шляхом пропускання розчину через фільтр із певним розміром пор, який затримує бактерії, гриби та більшість вірусів. Стандартом для стерилізуючих фільтрів є пористість 0,22 мкм, що забезпечує затримку навіть найменших відомих бактеріальних клітин, таких як *Pseudomonas diminuta* (розмір $\approx 0,3$ мкм) є

Основні переваги стерилізуючої фільтрації:

- відсутність термічного або хімічного впливу на препарат, що особливо важливо для біологічно активних речовин, які можуть руйнуватися при нагріванні або контакті з антисептиками.
- можливість стерилізації термолабільних розчинів, білків, пептидів, вакцин, гормонів тощо .
- висока швидкість та ефективність процесу у виробничих масштабах

Недоліки методу:

- неможливість видалення розчинених токсинів, вірусів розміром менше 0,02 мкм, а також деяких мікоплазм.
- ризик адсорбції діючої речовини на поверхні фільтра (актуально для білкових препаратів).
- необхідність ретельного підбору матеріалу фільтра для запобігання взаємодії з компонентами розчину .

3.2 Обґрунтування фільтру для стерилізуючої фільтрації розчину Простатилен

Для стерилізуючої фільтрації у фармацевтичній промисловості використовують фільтри з різних матеріалів:

- Целюлозні ефіри (нітроцелюлоза, ацетат целюлози) — класичний матеріал, але обмежений хімічною стійкістю.

- Полієфірсульфон (PES) — сучасний матеріал з низькою сорбцією білків, стійкий до багатьох розчинників.
- Полівініліденфторид (PVDF) — відзначається високою механічною міцністю та низькою сорбцією.
- Політетрафторетилен (PTFE) — стійкий до агресивних середовищ, але гідрофобний, тому використовується для органічних розчинників або після гідрофілізації.

Вибір фільтра визначається:

- Хімічною сумісністю з розчином (щоб уникнути вилугування або сорбції).
- Мінімальною адсорбцією діючої речовини.
- Відповідністю вимогам GMP та стандарту ISO 13408-2.
- Відсутністю пірогенів та екстрагованих речовин.

Затримка мікроорганізмів фільтром відбувається за рахунок:

- Механічної фільтрації — розмір пор менший за розмір бактерій.
- Адгезії — мікроорганізми прилипають до поверхні фільтра.
- Складної структури фільтра — багатошаровість підвищує ефекти-

вність затримки

Фільтри, які використовують у виробництві ін'єкційних препаратів, повинні відповідати ряду вимог:

- ефективно затримувати частинки, що містяться у рідині;
- не виділяти у розчин власних часток матеріалу;
- забезпечувати затримку мікроорганізмів і витримувати стерилізацію нагріванням (для стерилізуючих фільтрів);
- залишатися стабільними при контакті з рідиною, не набухати;
- не змінювати хімічний склад, рівень рН та електропровідність розчину;
- мати низький гідравлічний опір і зберігати свої властивості навіть при підвищенні різниці тисків до максимально допустимого значення, а також бути стійкими до гідравлічних ударів.

Вітчизняна фармацевтична промисловість використовує мембранні фільтри з різних матеріалів, які мають відповідні властивості. Найпоширеніші з них наведено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Характеристика мембранних фільтрів для очищення розчинів

Параметр	Назва фільтру		
	Whatman Puradisc 25	Millex-GP (Merck Millipore)	Minisart NML Sartorius
Матеріал	Полівініліденфторид PVDF	Поліетерсульфон (PES)	Нітрат/Ацетат целюлози
Розмір пор, мкм	0,2 – 0,45	0,2 – 0,45	0,2 – 8,0
Робочий інтервал рН	3 – 10	1 – 10	1 – 12
Макс. температура стерилізації, °С	121	121	121
Продуктивність (мл/хв/см ²)	10 – 300	22 – 300	18 – 620
Стійкість до стерилізації	Так	Так	Так
Хімічна стійкість	Висока	Висока	Помірна
Сорбція білків	Низька	Дуже низька	Вища

Усі ці мембрани мають гідрофільні властивості, відзначаються високою хімічною стабільністю у модельних середовищах, характеризуються мінімальним вмістом екстрагованих компонентів, забезпечують високу швидкість фільтрації та ефективно утримують частинки й мікроорганізми визначеного розміру.

Розчин Простатилену — це біологічний препарат, що містить низькомолекулярні пептиди, отримані з тканини передміхурової залози великої рогатої худоби. Оскільки препарат є термолабільним, стерилізуюча фільтрація є оптимальним методом забезпечення його стерильності. Виробничий процес включає фільтрацію через мембранні фільтри з розміром пор 0,22 мкм, що дозволяє ефективно видаляти бактерії без втрати біологічної активності пептидів.

Особливу увагу слід приділяти вибору матеріалу фільтра, оскільки білки та пептиди можуть адсорбуватися на поверхні, що призводить до втрат активної речовини. Для Простатилену доцільно використовувати фільтри з PES або PVDF, які мають низьку сорбцію білків і високу хімічну стійкість.

Однією з основних вимог до розчинів для парентерального введення є повна відсутність сторонніх часток. Методи контролю наявності механічних домішок у таких розчинах поділяють на дві категорії: визначення видимих та мікроскопічних (невидимих неозброєним оком) частинок. Зазвичай невидимими вважають ті, чий розмір не перевищує 50 мкм.

Під механічними включеннями у розчинах для ін'єкцій та інфузій розуміють сторонні рухливі нерозчинні частинки (за винятком повітряних бульбашок), які випадково потрапили у препарат.

Для усунення таких часток застосовують фільтрацію, що дозволяє досягти не лише чистоти від механічних домішок, а й стерильності розчину.

Аналіз наукової літератури дає загальне уявлення про різноманіття доступних мембран, проте для створення нових лікарських засобів цього недостатньо. У кожному конкретному випадку необхідно проводити перевірку хімічної сумісності розчину з матеріалом фільтра та переконатися у відсутності токсичного впливу отриманого фільтрату. При виборі фільтрів враховувалися не лише фізико-хімічні характеристики мембран, а й властивості розчинів, зокрема показники рН у межах 6,2–7,8.

Для вивчення взаємодії розчину Простатилену з різними фільтрувальними матеріалами було досліджено мембрани з поліефірсульфону («Sartorius

Sartopore 2», Велика Британія), нейлону («Sartorius Minisart RC») та нітрату/ацетату целюлози («Sartorius Cellulose»), із порами розміром 0,45 мкм (для попередньої очистки) та 0,2 мкм (для стерильного фільтрування). Вибір мембран здійснювався з урахуванням сумісності з досліджуваними розчинами.

Були приготовлені зразки, до кожного з яких додавали обраний тип фільтру у співвідношенні 1 мл розчину на 1 см² фільтрувального матеріалу. Після періоду контакту оцінювали зміни якості розчинів згідно з методиками, наведеними у розділі 2. Результати експериментів наведено у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

**Вплив різних фільтруючих матеріалів на якість
розчину «Простатиле»**

Показник	Тривалість, доба	Нітрат/ацетат целюлози	Нейлон	Поліефірсульфон
рН (6,8–7,8) ДФУ 2.2.3	1	7,06	7,05	7,06
	2	7,05	7,06	7,05
	3	7,06	7,05	7,05
Прозорість	1,2,3	прозорий	прозорий	прозорий
Частки фільтра	1,2,3	відсутні	відсутні	відсутні

Таким чином, контакт із зазначеними матеріалами фільтрів не призводив до погіршення якості препарату. Отримані результати свідчать про сумісність розчину «Простатиле» із дослідженими фільтруючими матеріалами.

Стерилізуюча фільтрація є одним із ключових методів знезараження лікарських засобів для парентерального застосування, особливо тоді, коли препарат є термолабільним і не може бути стерилізований традиційними термічними методами. Відповідно до розділу 5.1.1 Державної Фармакопеї України, стерильність лікарського засобу не може бути гарантована лише випробуван-

ням на стерильність — вона повинна досягатися шляхом застосування ретельно валіданого виробничого процесу, що включає в себе належним чином обґрунтовану і підтверджену процедуру стерилізації.

Валідація процесу стерилізуючої фільтрації

Валідація — це документально підтверджене випробування, яке доводить здатність фільтра ефективно затримувати мікроорганізми. До основних етапів належать:

1. Тест на затримання бактерій (Bacterial Retention Test)

Він дозволяє оцінити ефективність фільтра щодо затримання модельного мікроорганізму *Brevundimonas diminuta* (розмір клітин приблизно $0,3 \times 0,7$ мкм). Для фільтрів із розміром пор $0,22$ мкм згідно з вимогами ЄФ необхідно забезпечити log-редукцію не менше ніж 10^7 , що свідчить про зниження концентрації бактерій у 10 мільйонів разів.

2. Інгредієнтне навантаження (Product Load Testing)

Проводиться з урахуванням складу конкретного препарату, його рН, в'язкості, наявності консервантів, ПАР тощо. Метою є з'ясувати, чи не впливає лікарський засіб на пористу структуру фільтра та ефективність фільтрації загалом. У випадку розчину «Простатилен», що містить пептидні компоненти, важливо виключити адсорбцію на мембрані або її блокування.

Випробування на цілісність фільтра

Після завершення процесу фільтрації обов'язковим є проведення контролю цілісності фільтра для верифікації, що він не був пошкоджений і зберіг селективність. Застосовують такі методи:

- Bubble Point Test — визначає мінімальний тиск, при якому газ проривається через змочені пори фільтра.
- Forward Flow Test — вимірює об'єм газу, що проходить через фільтр при встановленому тиску.
- Diffusion Test — оцінює газопроникність мембрани у змоченому стані.

Ці методи рекомендовано проводити до і після фільтрації — для перевірки якості самого фільтра та безперервності процесу.

Таблиця 3.5

Основні методи оцінки цілісності фільтра

Метод	Принцип	Переваги	Недоліки
Bubble Point	Тиск, за якого з'являється бульбашка	Простота, стандартизація	Залежить від оператора
Diffusion Test	Вимірювання дифузії повітря	Автоматизація, точність	Вимагає стабільного обладнання
Forward Flow	Потік газу через змочений фільтр	Надійність, швидкість	Дорожче в обладнанні

Валідація в умовах виробництва

Окрім лабораторного підтвердження ефективності, необхідно провести валідацію процесу стерилізуючої фільтрації безпосередньо у виробничих умовах. Вона включає аналіз усіх впливових факторів: об'єм партії, тривалість фільтрації, температура, в'язкість розчину, мікробіологічне навантаження.

Для прикладу, при фільтрації ін'єкційного розчину «Простатилен» необхідно врахувати можливу адсорбцію пептидів на фільтрувальних мембранах і вплив компонентів препарату на цілісність фільтра.

Кожна серія готової продукції, що пройшла стерилізуючу фільтрацію, підлягає випробуванню на стерильність згідно з методикою, описаною в розділі 2.6.1 ДФУ. Додатково контролюються відсутність ендотоксинів (LAL-тест), механічних включень і стабільність розчину при зберіганні. Усі дані документуються у валідаційному звіті, що підтверджує придатність обраної методики до застосування у виробництві конкретного лікарського засобу.

Для вибору фільтруючого матеріалу в асептичних умовах готували водний розчин субстанції «Простатилен» у концентрації 5 мг/мл, який підлягає стерилізуючій фільтрації перед розливом у флакони.

Проводили попереднє фільтрування через фільтр грубої очистки (0,45 мкм). Далі розчин фільтрували через кожен з тестованих фільтрів у кількості

по 50 мл. Кожен фільтр фіксували в стерильному шприці в умовах ламінарного боксу.

Стерильність отриманих фільтратів оцінювали за методикою, наведеною у ДФУ. Також оцінювали такі параметри:

- ефективність затримання мікроорганізмів;
- пропускна здатність фільтра;
- сумісність фільтра з розчином;
- відсутність виділення часток з фільтра (екстрактивність).

Таблиця 3.4

Результати експериментальних досліджень з вибору фільтруючого матеріалу у виробництві розчину Простатилен

№	Назва фільтра	Час фільтрації 50 мл (хв)	Втрати розчину (мл)	Наявність росту мікроорганізмів	Сумісність з препаратом
1	Millex-GP	3,5	0,4	Відсутній	Повна
2	Minisart NML	5,0	0,7	Відсутній	Часткова адсорбція
3	Whatman Puradisc 25	6,0	0,5	Відсутній	Повна

За результатами дослідження встановлено, що усі протестовані фільтри забезпечили відсутність росту мікроорганізмів у тесті на стерильність, що свідчить про ефективну стерилізуючу здатність.

Найкращі показники продемонстрував фільтр Millex-GP:

- найкоротший час фільтрації;
- найменші втрати препарату;
- інертний PES-матеріал, що не викликав адсорбції пептидів.

Таким чином, на підставі проведених досліджень нами обґрунтовано фільтр для стерилізуючої фільтрації препарату «Простатилен» — Millex-GP (PES, 0,22 мкм, Merck Millipore).

ВИСНОВКИ

1. Забезпечення мікробіологічної чистоти ін'єкційних лікарських засобів є ключовою вимогою належної виробничої практики (GMP) та фармакопейних стандартів. Усі етапи виробництва повинні бути валідовані з урахуванням мікробіологічних ризиків.
2. Основними джерелами мікробіологічної контамінації ін'єкційних розчинів є: сировина (особливо біологічного походження), устаткування, повітря чистих зон, персонал, вода для ін'єкцій, пакувальні матеріали, а також перехресна контамінація на виробництві.
3. Методи мікробіологічного контролю включають класичні (тест на стерильність, ЛАЛ-тест, мікробіологічна чистота) та сучасні (АТФ-біолюмінесценція, ПЛР, автоматизовані системи). Їх вибір залежить від типу лікарської форми та стадії контролю.
4. Препарат «Простатилен» є прикладом ін'єкційного розчину пептидної природи, який вимагає особливо ретельного дотримання асептичних умов через чутливість до температури, рН та відсутність консервантів у складі.
5. У результаті експериментального дослідження обґрунтовано вибір стерилізуючого фільтра для фінішної фільтрації ін'єкційного розчину, що забезпечує стерильність без термічної деструкції пептидів.
6. Запропоновані підходи до мікробіологічного контролю можуть бути використані для удосконалення виробництва ін'єкційних лікарських засобів, особливо біотехнологічного походження, що сприятиме підвищенню їх безпеки, ефективності та відповідності регуляторним вимогам.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Борщевський Г. І., Серединська Н. М. Можливість створення органопрепаратів на основі пептидних комплексів. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 5. С. 58-67.
2. Горпинченко І. І. Сучасні підходи до лікування абактеріальних простатитів та доброякісної гіпертрофії передміхурової залози з використанням екстракту передміхурової залози биків. *Здоров'я чоловіка*. 2021. № 2. С. 32-37.
3. Державна Фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
4. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Доповнення 6. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2023. 424 с.
5. Державна Фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
6. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Доповнення 4. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2020. 600 с.
7. Дрига М. Мікробіологічний моніторинг на фармацевтичному виробництві. *Фармацевтична галузь*. № 4 (97). 2023. С. 36-39.
8. ДСТУ ISO 14644-1:2009 Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря (ISO 14644-1:1999, IDT).

9. ДСТУ ISO 15378:2019 Матеріали первинні пакувальні на лікарські засоби. Окремі вимоги щодо застосування ISO 9001:2015 з урахуванням належної виробничої практики (GMP) (ISO 15378:2017, IDT).
10. Лікарські засоби. Валідація процесів : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.5:2016. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2016. 31 с.
11. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 / ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Офіц. вид. Київ : МОЗ України, 2020. 356 с.
12. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Додаток 1. Виробництво стерильних лікарських засобів : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0/1:2023 / ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Офіц. вид. Київ : МОЗ України, 2023. 89 с.
13. Промислова технологія лікарських засобів : базовий підруч. для студентів ВНЗ (фармацевт. ф-тів) / Є. В. Гладух та ін. ; за ред. Є. В. Гладуха, В. І. Чуєшова. 2-ге вид., випр. та допов. Харків : НФаУ : Новий світ 2000, 2018. 486 с
14. Стерильність. Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/645/sterilnist>. (дата звернення: 10.12.2024).
15. A comprehensive technology strategy for microbial identification and contamination investigation in the sterile drug manufacturing facility-a case study / M. Song et al. *Front Microbiol.* 2024. Vol. 15. P. 1327175. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1327175.
16. Bonnevey T. Alternatives and Rapid Microbiological Methods in Pharmaco-peias Around the World. *La Vague*. 2024. № 80. С. 30–35. Режим доступу: <https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2024/02/magazine-La-Vague-80-microbiologie-a3p-2024.pdf>.
17. An Overview on Novel Microbial Determination Methods in Pharmaceutical and Food Quality Control / M. Nemati et al. *Adv Pharm Bull.* 2016. Vol. 6(3). P. 301-308. DOI: 10.15171/apb.2016.042.

18. Bacterial diversity in the indoor air of pharmaceutical environment / H. Park et al. *J. Appl. Microbiol.* 2014. Vol. 116. P. 718–727. DOI: 10.1111/jam.12416
19. Curtis Nickel J., Shoskes D., Roehrborn C. G., Moyad M. Nutraceuticals in Prostate Disease: The Urologist's Role. *Rev Urol.* 2008. Vol. 10(3). P. 192–206.
20. Danquah M. K., Agyei D. Pharmaceutical applications of bioactive peptides. *OA Biotechnology.* 2012. Vol. 1(2). P. 5.
21. Ferone M., Gowen A., Fanning S., Scannell A. G. M. Microbial detection and identification methods: bench top assays to omics approaches. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2020. Vol. 19. P. 3106–3129. DOI: 10.1111/1541-4337.12618
22. Hamdy A. M., El-Massry M., Kashef M. T., Amin M. A. Toward the drug factory microbiome: microbial community variations in antibiotic-producing clean rooms. *Omics.* 2018. Vol. 22. P. 133–144. DOI: 10.1089/omi.2017.0091
23. Jain S. K., Jain R. K. Review of FDA warning letters to pharmaceuticals: cause and effect analysis. *Res. J. Pharm. Technol.* 2018. Vol. 11. P. 3219–3226. DOI: 10.5958/0974-360X.2018.00592.9
24. Jimenez L. Analysis of FDA enforcement reports (2012–2019) to determine the microbial diversity in contaminated non-sterile and sterile drugs. *J. Am. Pharm. Rev.* 2019. Vol. 4. P. 1–21.
25. Kent K. D., Bomser J. A. Bovine pituitary extract provides remarkable protection against oxidative stress in human prostate epithelial cells. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal.* 2003. Vol. 39. P. 388–394.
26. Khavinson V. Kh. Tissue-Specific Effects of Peptides. *Bulletin of experimental Biology and Medicine.* 2001. Vol. 132, № 2. P.807-808.
27. Khushbu, Dr. Peeyush Jain, Dr. Pankaj Chasta. Microbial Contamination and Sterility Testing in Injectable Pharmaceuticals: Advances in Sterility Assurance and Contamination Control. *Int. J. of Pharm. Sci.* 2025. Vol 3. Issue 4. P. 1119-1133.

28. Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products / M. Ratajczak et al. *Saudi Pharm J.* 2015. Vol. 23(3). P. 303–7. DOI: 10.1016/j.jsps.2014.11.015.
29. Nemati M., Hamidi A., Maleki Dizaj S., Javaherzadeh V., Lotfipour F. An Overview on Novel Microbial Determination Methods in Pharmaceutical and Food Quality Control. *Adv Pharm Bull.* 2016. Vol. 6 (3). P. 301-308. doi: 10.15171/apb.2016.042.
30. Nutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer / A. F. G. Cicero et al. *Arch Ital Urol Androl.* 2019. Vol. 91(3). P. DOI: 10.4081/aiua.2019.3.139.
31. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin. Chem.* 2015. Vol. 61. P. 100–111. DOI: 10.1373/clinchem.2014.221770
32. Sandle T. A review of cleanroom microflora: types, trends, and patterns. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 2011. Vol. 65. P. 392–403. DOI: 10.5731/pdajpst.2011.00765.
33. Sandle T. Review of FDA warning letters for microbial bioburden issues (2001–2011). *Pharma Times.* 2012. Vol. 44. P. 29–30.
34. Selim N. A., Saeed A. M., Ibrahim M. K. Monitoring and controlling bacteria in pharmaceutical industries water system. *J Appl Microbiol.* 2020. Vol. 129(4). P. 1079-1090. DOI:10.1111/jam.14686/

ДОДАТОК

Публікації за темою роботи



Мікробіологічний контроль при виробництві лікарських засобів

Караванська І.Є., Хохленкова Н.В.

Кафедра біотехнології Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна

hohnatal@gmail.com

Мікробіологічний аналіз фармацевтичної продукції є критично важливим процесом для забезпечення безпеки, ефективності та якості лікарських засобів. Він дозволяє визначити та контролювати наявність мікроорганізмів, які можуть вплинути на стабільність кінцевого продукту і становити ризик для здоров'я пацієнтів.

Присутність мікроорганізмів у лікарських засобах може спричинити інфекції, зниження терапевтичної ефективності та економічні збитки для виробників. Тому міжнародні нормативні документи, зокрема Належна виробнича практика (GMP) та офіційні фармакопеї, встановлюють суворі вимоги до мікробіологічного контролю.

Основні методи мікробіологічного контролю включають випробування на стерильність, тестування на бактеріальні ендотоксини, а також визначення загального мікробного числа та виявлення специфічних патогенів. Випробування на стерильність гарантує відсутність життєздатних мікроорганізмів у продуктах, які повинні бути стерильними, таких як ін'єкційні розчини та імпланти. Тест на бактеріальні ендотоксини оцінює наявність ендотоксинів, які можуть викликати серйозні побічні реакції у пацієнтів. Визначення загального мікробного числа та виявлення патогенів забезпечує контроль мікробного навантаження у нестерильних продуктах, таких як креми, таблетки та сиропи.

Сучасні технології, такі як полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та мас-спектрометрія MALDI-TOF, значно підвищили швидкість та точність мікробіологічного аналізу. ПЛР дозволяє швидко виявляти мікроорганізми шляхом аналізу їхньої ДНК, тоді як MALDI-TOF мас-спектрометрія прискорює

ідентифікацію мікроорганізмів, що сприяє більш оперативному реагуванню на потенційні загрози.

Виклики у мікробіологічному тестуванні включають запобігання перехресному забрудненню, боротьбу зі стійкістю до протимікробних препаратів та забезпечення відповідності нормативним вимогам. Перехресне забруднення може призвести до хибних результатів тестування, тому необхідно забезпечувати суворий контроль умов проведення аналізів. Стійкість до протимікробних препаратів ускладнює ідентифікацію та контроль патогенів, що вимагає постійного оновлення методів тестування. Дотримання міжнародних стандартів та керівництв є необхідним для забезпечення якості та безпеки фармацевтичної продукції.

Ретельний мікробіологічний контроль не лише захищає здоров'я пацієнтів, але й зміцнює репутацію фармацевтичних компаній. Інвестиції у передові технології та підготовку спеціалізованого персоналу є ключовими для випуску безпечної та ефективної продукції. Співпраця між виробниками, лабораторіями та регуляторними органами забезпечує комплексний підхід до мікробіологічного контролю, що сприяє підвищенню довіри до лікарських засобів на ринку.

Міжнародні організації, такі як Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) та Міжнародна федерація фармацевтів, рекомендують впровадження мікробіологічного контролю лікарських засобів у національні фармакопеї. Це включає визначення загальної кількості життєздатних бактерій і грибів та виявлення певних патогенних мікроорганізмів, наявність яких у ліках є неприпустимою.

Однак на сьогодні не існує єдиних для всіх країн вимог щодо припустимого рівня мікробної контамінації ліків. Для забезпечення якості ЛП, у т.ч. мікробіологічної чистоти, необхідне виконання правил GMP.

Таким чином, мікробіологічний контроль є невід'ємною частиною виробництва лікарських засобів, забезпечуючи їхню безпеку, ефективність та відповідність міжнародним стандартам якості.