

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології**

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)
_____ Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (прізвище та ініціали)

« ___ » лютий 2023р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
_____ Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (прізвище та ініціали)

« ___ » лютий 2023р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програм «Біотехнологія»

на тему: «Антимікробні препарати природного походження для ветеринарії»

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 2М

Гвоздь Катерина Сергіївна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник Воронцов Олександр Олександрович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

Консультанти Наталія ДВУЙЛО
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Рецензент Людмила РЕШЕТНЯК
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач _____
(підпис)

Київ - 2023р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 01 ” листопада 2022 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Гвоздь Катерина Сергіївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Антимікробні препарати природного походження для ветеринарії»

керівник роботи Воронцов Олександр Олександрович, доцент, к.т.н.,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 780-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 03.02.2023

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Streptomyces fradiae* ТМ-224-4
цільовий продукт: препарат для ветеринарної медицини «Тилозин-50»,

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)
РОЗДІЛ 1. Особливості антимікробних препаратів та активність bacillus subtilis, РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ), РОЗДІЛ 3. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції, РОЗДІЛ 4. Специфікація обладнання, РОЗДІЛ 5. Опис технологічної схеми, РОЗДІЛ 6. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ, РОЗДІЛ 7. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ, РОЗДІЛ 8 . Специфікація обладнання, РОЗДІЛ 9. Опис технологічної схеми, РОЗДІЛ 10. Опис лікарського засобу згідно АНД (проект АНД)

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема виробництва – 2 аркуші А3. Технологічна схема – 2 аркуші А3

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Особливості антимікробних препаратів та активність препарату	10.12.2022-17.12.2022	
2	Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ)	18.12.2022-24.12.2022	
3	Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції	25.12.2022-30.12.2022	
4	Специфікація обладнання; Опис технологічної схеми	31.12.2022-05.01.2023	
5	Контроль виробництва субстанції для ЛЗ	6.01.2023-10.01.2023	
6	Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ; Опис лікарського засобу згідно АНД	11.01.2023-17.01.2023	
7	Специфікація обладнання; Опис технологічної схеми	18.01.2023-24.01.2023	
8	Оформлення пояснювальної записки	25.01.2023-31.01.2023	
9	Виконання графічної частини проекту	25.01.2023-31.01.2023	

Здобувач _____
(підпис)

Гвоздь Катерина _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Воронцов Олександр _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці технологічної та апаратурної схем біосинтезу тилозину з використання штаму *Streptomyces fradiae* ТМ-224-4, який синтезує 7,2 г/л тилозину. Цільовим ЛЗ в даній роботі є препарат для ветеринарної медицини «Тилозин-50», що містить 50 мг тилозину, виробництва компанії «Bazalt» (Україна). Розрахована потужність виробництва субстанції тилозину становить 105,43 кг на рік. Технологічна схема біосинтезу тилозину включає допоміжні роботи (підготовка аераційного повітря) та технологічний процес (вирощування інокуляту в колбах на качалках, посівному апараті та інокуляторі, виробничого біосинтезу).

Кваліфікаційна робота складається з вступу, десяти розділів, списку використаних джерел (128 найменувань), апаратурної та технологічної схем (формат А3). Загальний обсяг роботи - 142 сторінки, містить 11 рисунків та 16 таблиць.

Ключові слова: антимікробні препарати, ветеринарія, тилозин, *Streptomyces fradiae* ТМ-224-4.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РЕФЕРАТ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Гвоздь К.С.						
Перевір.		Воронцов О.О.					142	2
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.						4		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Зміст

РЕФЕРАТ.....	4
ВСТУП.....	7
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
РОЗДІЛ 1.....	9
1.ОСОБЛИВОСТІ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ	9
1.1 Потреби ветеринарної медицини в антимікробних препаратах.....	9
1.2 Загальна характеристика антимікробних препаратів природнього походження	10
1.3 Види антимікробних препаратів що застосовують у ветеринарії.....	16
1.4 Застосування антимікробних препаратів у ветеринарній медицині	24
2. АКТИВНІСТЬ BACILLUS SUBTILLIS.....	30
2.1. Характеристика агента Bacillus Subtilis	30
2.2 Культивування Bacillus Subtilis в технології одержання препарату ветеринарного призначення.....	30
2.3 Bacillus Subtilis як продуцент пептидних антибіотиків	33
2.4 Механізми лікувально-профілактичної дії бактерій роду Bacillus	37
2.5 Чинники патогенності бактерій роду Bacillus.....	40
2.6 Тестування можливої антимікробної активності.....	40
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ЛЗ).....	41
2.1. Передумови виробництва ЛЗ	41
2.1.1. Бактеріальні інфекції дихальних шляхів у великої рогатої худоби.....	41
2.1.2. Захворювання репродуктивних органів та молочної залози корів.....	47
2.1.3. <i>Захворювання дихальних шляхів у свиней.....</i>	<i>49</i>
2.2. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання	51
2.3. Обсяг ринку та очікувані темпи його розвитку.....	54
2.4. Перелік виробників кінцевого продукту і виробників (постачальників) субстанції.....	59
2.2 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу (ЛЗ).....	60
2.2.1. Обґрунтування форми випуску ЛЗ	60
2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ.....	63
2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи	66
2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції.....	71
2.4.1. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ	71
2.4.2. Розрахунок річної потужності виробництва субстанції, об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	72

РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ	74
3.1. Стадія відділення біомаси.....	74
3.2. Стадія звільнення від домішок отриманого супернатанту.....	77
3.4. Стадія виділення та очищення тилозину.....	78
3.5. Стадія концентрування розчину тилозину.....	79
3.6. Стадія сушіння.....	80
РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	82
РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ	84
РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ	90
РОЗДІЛ 7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ ...	96
7.1. Розрахунок річної потужності виробництва лз та кількості серій на рік.....	96
7.2. Обґрунтування класів чистоти виробничих приміщень.....	96
7.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	98
7.4. Обґрунтування вибору підготовки води для ін'єкцій.....	101
7.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	102
7.5.1. Отримання води для ін'єкцій.....	102
7.5.2. Змішування компонентів препарату.....	104
7.5.3. Фільтрація розчину для ін'єкцій та його розлив у флакони.....	105
7.5.4. Стерилізація розчину.....	106
7.5.5. Пакування флаконів у вторинне пакування.....	108
РОЗДІЛ 8. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	110
РОЗДІЛ 9. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	114
РОЗДІЛ 10. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД)	120
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:	131

ВСТУП

З відкриттям першого антибіотика пеніцилінового ряду А. Флемінгом у 1929 році минуло вже понад 89 років. За цей період було відкрито значну кількість нових препаратів біологічного походження і, поряд з ними, напівсинтетичні. Деякі антибіотики втратили свою хіміотерапевтичну активність і лишились, як «історичний факт свого існування». Хоч антибіотики і є найважливішою і найбільшою групою біологічно активних речовин, які за обсягом промислового випуску та економічними показниками посідають перше місце серед всієї фармацевтичної продукції, щорічно синтезують ще цілий ряд похідних та незначну кількість нових антимікробних препаратів. Це мотивовано, в більшості безконтрольним використанням антибіотичних препаратів не тільки в гуманній медицині, але і в ветеринарії.

Тваринницька галузь є одним із найбільших споживачів антимікробних препаратів, левову частку з яких складають антибіотики. На жаль, більшість мутантних штамів та антибіотикорезистентних мікроорганізмів походять із тваринницьких комплексів. Тому, жорсткий контроль використання сучасних антибіотичних препаратів має виключне значення з метою зменшення розвитку антибіотикорезистентності мікроорганізмів та розвитку суперінфекції у людей і тварин.

Сучасне високоінтенсифіковане виробництво продукції тваринного походження потребує зосередження значної кількості особин у обмеженому просторі. Це, в свою чергу, призводить до швидкого розповсюдження та розвитку інфекційного процесу, як бактеріальної так і вірусної етіології. Тваринницькі підприємства України, в більшості випадків, з лікувальною та профілактичною метою застосовують значні кількості антибіотичних

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	5
Консультант					Кафедра БТМ 7		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

препаратів мікробного походження, що використовують і в гуманній медицині для лікування бактеріальних захворювань.

За короткий проміжок часу в умовах підприємств сільськогосподарського призначення розвинулися штами мікроорганізмів, як слабо чутливі, так і резистентні і, на жаль, мультирезистентні до багатьох антимікробних препаратів. Це, в свою чергу, стало вкрай небезпечним для звичайних людей і смертельно для людей з імунодефіцитними станами. Тому, питання антибіотикорезистентності та мультирезистентності виникло ще у далекому 19 столітті, з перших моментів використання антимікробних препаратів грибкового походження [1].

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

РОЗДІЛ 1

1.ОСОБЛИВОСТІ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

1.1 Потреби ветеринарної медицини в антимікробних препаратах

Сучасна держава не може обійтися без чітко організованої служби ветеринарної медицини. Необхідність систематично розвивати тваринництво з метою забезпечення населення повноцінними та доброякісними продуктами харчування і виробами із шерсті, шкіри чи інших видів тваринницької сировини, завдання захисту людей від хвороб, спільних для людини та тварини, нагально вимагають постійного вдосконалення ветеринарної справи. Це витікає з потреб суспільства, із завдань розвитку матеріального виробництва .

Інтеграція у світовий економічний простір, інтенсифікація тваринництва, посилений розвиток світового ринку ВП, поява на ринку України широкого асортименту ветеринарної фармацевтичної продукції закордонних виробників актуалізували стратегічне значення розвитку ринку ВП.

Забезпечення потреб ветеринарної медицини (ВМ) якісними, ефективними ВП є не менш важливим, ніж забезпечення охорони здоров'я лікарськими засобами (ЛЗ), оскільки від цього залежить виробництво в державі повноцінних, безпечних та екологічно чистих продуктів тваринництва, що в свою чергу має важливе соціальне і народногосподарське значення. Однією з головних проблем ВМ є захворювання репродуктивних органів та молочної залози, що знижують темпи відтворення й продуктивності молочної худоби, а також мають широке поширення.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Гвоздь К.С.			ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.					142	7
Консультант						Кафедра БТМ 9		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Захворювання діагностуються в багатьох країнах світу, в тому числі і на фермах з високою технологічною культурою ведення галузі, а також у господарствах України, незалежно від форми власності та напрямків їх діяльності.

Економічні збитки, які спричиняє мастит, складаються зі зниження молочної продуктивності, показників санітарної якості молока і молочних продуктів, передчасного вибраковування корів, збільшення захворюваності новонароджених телят, порушення репродуктивної функції тварин, витрат на організацію і проведення протимаститних заходів.

1.2 Загальна характеристика антимікробних препаратів природнього походження

Традиційно антимікробні препарати поділяються на природні (власне антибіотики, наприклад, пеніцилін), напівсинтетичні (продукти модифікації природних молекул: амоксицилін, цефазолін, хінідин) і синтетичні (сульфаніламід, нітрофуран, хінолони). На даний час такий розподіл не актуальність, оскільки окремі природні антимікробні лікарські засоби отримують шляхом синтезу (хлорамфенікол), а деякі препарати, які зазвичай називають антибіотиками (фторхінолони), де факто є синтетичними сполуками.

Добре відомим є поділ антимікробних препаратів, як і інших лікарських засобів, на групи і класи. Такий поділ має велике значення з точки зору розуміння спільності механізмів дії, спектра активності, фармакокінетичних особливостей, характеру небажаних реакцій тощо.

В Україні використовуються лише зареєстровані протимікробні препарати. Антибіотики залишаються основними лікарськими засобами боротьби із бактеріальними інфекціями у ветеринарній медицині. Але, саме неправильне і нераціональне використання антибіотиків у ветеринарній та гуманній медицині є основною причиною появи антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів.

Забороняється використання ветеринарних протимікробних препаратів, що не відповідають вимогам законодавства про ветеринарну медицину та благополуччя тварин, а також термін придатності яких закінчився. Забороняється використовувати антимікробні субстанції та препарати, які визначені Центральним органом виконавчої влади, який формує політику у сфері охорони здоров'я як резервні та заборонені щодо використання в тваринництві та рослинництві.

Протимікробні препарати у ветеринарній медицині відпускаються за ветеринарним рецептом, або спеціалістом, який здійснює свою професійну діяльність за ліцензією на ветеринарну практику [3].

Вибір тактики антибіотикотерапії є основним і першочерговим , оскільки здійснюється за умови встановленого діагнозу, достовірності бактеріальної природи захворювання, яка обов'язково підтверджується мікробіологічно, та показань до застосування антибіотика. Якщо отримують негативні результати тесту на антимікробну чутливість антибіотик має бути замінений на препарат із високою (але не найвищою) ступінню пригнічення, а також по закінченні курсу лікування відмінений. Антибіотик застосовується суворо згідно листівки-вкладки на даний ветеринарний препарат. Антибіотиків без нагляду лікаря ветеринарної медицини використовувати забороняється, так само, як і застосування антибіотиків у субтерапевтичних дозах та у профілактичних цілях.

Перед тим, як призначати будь-який антибіотик для тварин, лікарям ветеринарної медицини необхідно зверитися з категоризацією протимікробних препаратів.

В умовах промислового виробництва продукції тваринництва та птахівництва оператор ринку запроваджує комплекс заходів та встановлює внутрішні правила застосування антимікробних засобів з метою уникнення втрати часу на дослідження перед початком застосування антимікробного засобу. Ведуться записи:

- щодо переліку хвороб, які постійно реєструються в господарстві, які періодично виникають або ж ймовірно можуть виникнути. Стосується виключно хвороб, терапевтичним засобом щодо яких, є застосування антимікробних засобів.

- щодо кожної хвороби із вищезазначеного списку, оператор ринку лабораторно визначає перелік антибіотиків в напрямку зростання ефективності (не більше 3-х). Чутливість мікроорганізмів визначається в уповноважених лабораторіях методами рекомендованими компетентним органом, або профільними міжнародними організаціями (ВООЗ, МЕБ), результати, повідомляються територіальному підрозділу Компетентного органу.

- щодо ймовірного потрапляння, занесення, розповсюдження, активації, міграції збудника в розрізі вищезазначеного списку хвороб.

- щодо комплексу заходів, які запобігають антимікробній терапії через поглиблені заходи гігієни виробничих процесів, підготовки ВОДИ, кормів, використання пробіотичних препаратів, фітонцидів, вакцин тощо.

Протимікробні препарати застосовують до повної ліквідації збудника захворювання та попередження розвитку рецидивів. Курс антибіотикотерапії повинен бути найкоротшим для уникнення накопичення препаратів у токсичних дозах, виникнення резистентності мікроорганізмів, розвитку суперінфекції. Обов'язково потрібно дотримуватися застережень, які прописані в інструкції по застосуванню, де вказано терміни виведення препарату з організму тварини [4].

Слід уникати зайвого використання, занадто тривалих періодів лікування та недостатнього дозування протимікробних препаратів.

Наступні заходи мають допомогти запобіганню захворюванням і зменшенню необхідності використання протимікробних препаратів у всіх лікарських формах:

- впровадження заходів з гігієни біобезпеки та біозахисту (включаючи заходи, спрямовані на запобігання занесення інфекції на територію господарства та в організм сприйнятливої тварини);
- розробка протоколів запобігання інфекційним хворобам та інфекційного контролю і гігієни, забезпечення їх доступності на фермах;
- вдосконалення систем господарювання шляхом забезпечення відповідного розміщення, вентиляції, екологічних умов під час транспортування (наприклад, приміщень і транспортних засобів);
- створення вертикально інтегрованих виробничих систем, які дозволяють уникати потреби в купівлі та змішуванні популяцій тварин із різним статусом і транспортуванні тварин з невідомим статусом захворювання;
- уникнення стресових ситуацій, які можуть послабити імунну систему тварин і зробити їх більш сприйнятливими до інфекції, наприклад, належне транспортування тварин, зменшення часу транспортування та забезпечення дотримання рекомендованої щільності популяції тварин (тобто уникнення надмірної щільності в популяції);
- впровадження інших зоогігієнічних методів для мінімізації захворювань та зменшення використання протимікробних препаратів;
- впровадження програм попередження та контролю конкретних хвороб тварин (як вірусних, так і бактеріальних) шляхом вакцинації;
- використання науково обґрунтованих, ефективних і безпечних альтернатив протимікробним препаратам;
- використання тільки безпечних, якісних кормів і води;
- забезпечення мотиваційного заохочення фермерів вживати ефективні превентивні заходи для покращення здоров'я тварин і стандартів благополуччя та добробуту, а також моніторингу патогенів та їх чутливості на рівні стада, для забезпечення доказового використання протимікробних препаратів в окремих стадах відповідно до принципів раціонального використання, встановлених у цьому Порядку [2].

Заходи щодо запобігання захворювання і зменшення необхідності використання протимікробних препаратів у свинарстві:

В разі виявленні в певних господарствах інфекції, що вимагає застосування протимікробних препаратів, проводиться поглиблений аналіз проблеми, та вживаються заходи для обмеження поширення і запобігання рецидиву інфекції. Можливі заходи включають:

- уникнення профілактичного використання протимікробних препаратів у новонароджених поросят (до і після відлучення), як частина стратегії здоров'я стада;

- запровадження системи виробництва «всі-в всі-поза», ретельне очищення і дезінфекція виробничих одиниць, коли тварини переміщуються в межах групи і поза неї;

- виділення патогену і розгляд стратегії вакцинації, якщо це можливо (наприклад, атрофічний риніт);

- перевірка та забезпечення належного функціонування системи вентиляції й умов розміщення, у разі можливості зміни умов, якщо присутня висока частота рецидивуючих респіраторних захворювань або наявні несприятливі умови навколишнього середовища (наприклад, влітку, можливе різке підвищення температури і концентрації аміаку в навколишньому середовищі, у разі не відрегульованої системи вентиляції, збільшує ймовірність респіраторних захворювань);

- встановлення відповідних стратегій годівлі на основі різних вікових категорій свиней, особливо при відлученні;

- уникнення переміщення в групах або дотримання карантину протягом відповідного періоду до переміщення;

- переоцінка управління відлученням у разі рецидиву діареї відлучення (з урахуванням, зокрема, гігієни, віку свиней, використання систем «всі-в всі-поза», способів зменшення стресу тварин як альтернатив профілактичному використанню протимікробних препаратів);

- усунення рецидивуючих випадків післяродового синдрому дисгалакції шляхом забезпечення відповідного відбору свиноматок, належної гігієни при опоросах і адаптованої годівлі;

- обмеження торгівлі та переміщення свиней для зменшення поширення інфекцій та мікроорганізмів, таких як метицилінстійкий *золотистий стафілокок* (MRSA) [2].

При використанні бактерицидних антибіотиків лікувальний ефект настає через 1–2 дні, тривалість лікування – в середньому 7 днів. При застосуванні бактеріостатичних антибіотиків терапевтичний ефект настає через 3–4 дні і триває в середньому 10–14 днів.

Резервні антибіотики за однією або кількома властивостями поступаються основним антибіотикам (мають меншу активність або більш виражені побічні ефекти (ПЕ), більшу токсичність або характеризуються швидким розвитком резистентності до них мікроорганізмів), тому їх призначають лише при стійкості мікроорганізмів до основних антибіотиків або при несприйманні останніх. Висока вибірковість дії антибіотиків на мікроорганізми при відносно малій їх токсичності стосовно макроорганізму пояснюється особливостями структурної і функціональної організації мікробних клітин.

Клітинна стінка бактерій за хімічним складом принципово відрізняється від мембран клітин ссавців. Складається клітинна стінка бактерій з мукопептиду муреїну (містить N-ацетил-глюкозамін, N-ацетил-мурамову кислоту і пептидні ланцюжки, що включають деякі L- і D-амінокислоти). У зв'язку з цим речовини, що порушують її синтез (наприклад, пеніциліни), чинять виражену протимікробну дію і практично не впливають на клітини макроорганізму. Певну роль виконує неоднакова кількість мембран, що оточують ті активні центри, з якими можуть взаємодіяти антибіотики.

Так, на відміну від мікроорганізмів, у клітинах ссавців, крім загальної плазматичної мембрани, всі внутрішньоклітинні органели мають свої, іноді

подвійні, мембрани. Важливе значення мають відмінності в хімічному складі окремих клітинних компонентів; відмінності є і в темпі зростання та розмноження клітин макро- і мікроорганізмів, а отже, і швидкості синтезу їх структурних матеріалів.

1.3 Види антимікробних препаратів що застосовують у ветеринарії

Антибіотики, що використовуються в медичній практиці, продукуються актиноміцетами (променистими грибами), цвілевими грибами, а також деякими бактеріями. Для здійснення раціональної антибіотикотерапії необхідне знання основних властивостей антибіотиків, груп антибіотиків, а також способи їх терапевтичного застосування [5].

Залежно від типу дії на мікробну клітину антибактеріальні засоби, власне, як і антибіотики, ділять на дві групи: - бактерицидні (пеніциліни, цефалоспорини, аміноглікозиди, рифампіцин, поліміксини й ін.);

- бактериостатичні (макроліди, тетрациклін, лінкоміцин, хлорамфенікол та ін.).

З урахуванням механізму дії антибактеріальні засоби поділяють на три основні групи:

1. Інгібітори синтезу клітинної стінки мікроорганізму (пеніциліни, цефалоспорини, ванкоміцин, тейкопланін та ін.).
2. Препарати, які порушують молекулярну організацію, функції клітинних мембран (поліміксин, ністатин, леворин, амфотерицин та ін.).
3. Препарати, які пригнічують синтез білка і нуклеїнових кислот, зокрема інгібітори синтезу білка на рівні рибосом (хлорамфенікол, тетрациклін, макроліди, лінкоміцин, аміноглікозиди) та інгібітори РНК-полімерази (рифампіцин) і інші. За спектром протимікробної дії антибіотики поділяють на такі групи:

1. Препарати, які діють на грампозитивні бактерії і коки: природні пеніциліни, ізоксазолпеніциліни (оксацилін), лінкозаміди, ванкоміцин.

2. Антибіотики, активні відносно грамнегативних бактерій: азтреонам, поліміксини.

3. Антибіотики широкого спектра дії – активні відносно грампозитивних, грамнегативних бактерій: амінопеніциліни (ампіцилін), карбеніцилін, цефалоспорини II–V поколінь, аміноглікозиди, хлорамфенікол, тетрациклін, макроліди, рифампіцини, карбапенеми (іміпенем та ін.).

4. Протитуберкульозні антибіотики (стрептоміцин, рифампіцин, флориміцин) (див. відповідний розділ).

5. Протигрибкові антибіотики (ністатин, леворин, гризеофульвін, амфотерицин В, кетоконазол, флюконазол та ін.).

Група антибіотиків:

- Аміноглікозиди - група антибіотиків із загальної хімічної побудовою – наявністю в молекулі аміноцукру, сполученого глікозидним зв'язком з аміноциклічним кільцем. Основне клінічне значення полягає в активності відносно грамнегативних бактерій (кишкової палички, сальмонел, шигел, протея, клебсієл, ентеро-бактерів, серацій), аеробів і стафілококів (зокрема метицилінрезистентних).

- Глікопептиди. До глікопептидних антибіотиків належать ванкоміцин, тейкоплаїнін.

- Карбапенеми – група бета-лактамних антибіотиків, в яких атом сірки в тiazолідиновому кільці молекули пеніциліну замінений на атом вуглецю. Карбапенеми мають ультраширокий спектр 145 антибактеріальної активності, включаючи грампозитивні та грамнегативні аероби і анаероби.

- Лінкозаміди. Клас антибіотиків, до якого входять природний антибіотик лінкоміцин та його напівсинтетичний аналог (хлороване похідне) кліндаміцин.

- Макроліди. Макролідні антибіотики – це група препаратів з протимікробною активністю, обумовленою наявністю в їх структурі макролідного лактонного кільця.

- Монобактами. Монобактами – моно циклічні бета-лактами. Відносяться до групи бета-лактамних антибіотиків, але на відміну від пеніцилінів, цефалоспоринів та карбапенемів у хімічній структурі містять не біциклічну, але моноциклічну бета-лактаму систему. З монобактамів у клінічній практиці застосовується один антибіотик – азтреонам, виділений з культури бактерій *Chromobacterium-vialaceum* і зареєстрований у кінці 80-х рр. минулого століття. Він має вузький спектр антибактеріальної активності та використовується як альтернативний препарат для лікування інфекцій, викликаних грамнегативною аеробною флорою.

- Нітрофурани. Це синтетичні препарати, які проявляють бактерицидний або бактериостатичний ефект щодо окремих грампозитивних і грамнегативних збудників, що залежить від дози та концентрації препарату. Чутливі до нітрофуранів: кишкова паличка, збудник дизентерії, сальмонела, холерний вібріон, збудник газової гангрені, трихомонади, стафілококи, великі віруси, проявляють протигрибкову активність.

- Пеніциліни. Група антимікробних препаратів природного та напівсинтетичного походження, об'єднана наявністю в структурі 6-амінопеніциланової кислоти, яка складається з бета-лактамного і тiazолідинового кілець.

- Плевромутіліни. Плевромутілін вперше був виявлений у 1950-х роках. Перші напівсинтетичні похідні: тіамулін і валнемулін, були розроблені для ветеринарного застосування компанією Sandoz. Обидва препарати показали високу активність в порівнянні з природнім антибіотиком, особливо проти всіх видів *Mycoplasma*, і все ще використовуються сьогодні.

- Поліміксини. Природні антибіотики поліпептидної структури. На сьогодні до них належить поліміксин В.

- Похідні імідазолів. Імідазол — алкалоїд, органічна гетероциклічна сполука, п'ятичленний цикл з двома атомами Нітрогену і трьома атомами Карбону в циклі.

- Похідні імідазолу широко застосовують у фармації: 2-нітроімідазол (азоміцин) — природний антибіотик, метронідазол — антимікробний препарат, біфоназол, клотримазол — антимікотичні препарати.

- Похідні нафтидину. Деякі похідні нафтиридину виявилися спорідненими з похідними 8-оксихіноліну. Значну хіміотерапевтичну активність має кислота налідиксова (1-етил-7-метил-4-ОН-1,8-нафтиридину-3-карбонова кислота), яку відносять до резервних препаратів у випадках нечутливості збудників до більшості антибіотиків і сульфаніламідних препаратів. До спектра її протимікробної дії входять грамнегативні мікроорганізми; до грампозитивних коків і патогенних аеробів є неактивною.

- Похідні хінолону. Препарати цієї групи представлені галоїдо- (нітросолін, мексазаї мексаформ, хініюфон) і нітропохідними сполуками. Вони пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів, утворюючи комплексні сполуки з йонами металів, що знижує їхні ферментативні процеси і функціональну активність. Кислота піпемідієва, наприклад, селективно пригнічує синтез ДНК бактерій, має широкий спектр протимікробної дії, яка поширюється на грамнегативні бактерії, збудників протозойних захворювань (дизентерійна амеба, лямблії, трихомонади, балантидії). Препарати цієї групи ефективні відносно антибіотикорезистентних бактерій у зв'язку з відсутністю у них перехресної резистентності.

- Тетрацикліни. Тетрацикліни – група антибіотиків, що відносяться до класу близьких за хімічною будовою та біологічними властивостями і характеризуються загальним спектром і механізмом антимікробної дії з повною перехресною стійкістю та близькими фармакологічними характеристиками. Відмінності стосуються деяких фізико-хімічних властивостей, ступеня антибактеріального ефекту, особливостей всмоктування, розподілу, метаболізму в макроорганізмі та переносимості.

- Фторхінолони. Фторхінолони є однією з найбільш поширених та використовуваних груп антимікробних препаратів завдяки високій активності відносно широкого спектру грамнегативних і частини грампозитивних збудників. За кількістю препаратів, що нараховує група, вони поступаються хіба що беталактамним антибіотикам.

- Хлорамфеніколи. Хлорамфенікол і тіамфенікол належать до препаратів широкого спектру дії з бактеріостатичним ефектом.

- Цефалоспорины. Цефалоспоринові антибіотики є біциклічними з'єднаннями, які складаються з бета-лактамного та дигідротіазинового кілець, що створюють 7-аміноцефалоспоринову кислоту – загальне ядро молекули цефалоспоринів [4].

При застосуванні протимікробних препаратів, слід дотримуватися наступних правил:

- Протимікробні препарати використовуються лише за призначенням і під наглядом лікаря ветеринарної медицини з врахуванням діагнозу за клінічними ознаками та даними лабораторних досліджень (визначення чутливості до антимікробних препаратів та/або ідентифікації збудника (мікроорганізму));

- Перед призначенням протимікробних препаратів лікарю ветеринарної медицини необхідно відібрати зразки від хворої тварини або групи тварин для ідентифікації збудника та визначення його чутливості;

- Призначення та застосування протимікробних препаратів обґрунтовується встановленим діагнозом відповідно до сучасного стану наукових знань;

- Забороняється застосування протимікробних препаратів у спосіб або для цілей, що не відповідають їх призначенню;

- Забороняється використання діючих речовин (активних фармацевтичних інгредієнтів) для лікування чи профілактики хвороб не у складі зареєстрованого ветеринарного протимікробного препарату;

- Забороняється застосування протимікробних препаратів на постійній основі або для подолання наслідків неналежної гігієни, неналежної практики вирощування тварин або недостатнього догляду за ними;

- Забороняється застосування для посилення росту та продуктивності тварин;

- Забороняється застосувувати протимікробні препарати в профілактичних цілях, крім виняткових випадків, коли такі засоби застосовуються до окремої тварини чи обмеженої групи тварин у зв'язку з високим ризиком поширення інфекційної хвороби та високою вірогідністю тяжких наслідків такої хвороби;

- Застосування протимікробних препаратів для метафілактики дозволяється лише у разі високого ризику поширення інфекційного захворювання у відповідній групі тварин та відсутності ефективних альтернатив застосуванню зазначених засобів. У таких випадках ветеринарний лікар обґрунтовує та документує лікування на основі клінічних даних про розвиток хвороби у групі або стаді. Протимікробну метафілаксію ніколи не застосовують замість належної управлінської практики;

- Протимікробні препарати застосовуються до продуктивних тварин тільки після визначення чутливості до них у збудника інфекційної хвороби, враховуючи його стійкість до протимікробних препаратів та їх діючих речовин;

- Спеціалісти ветеринарної медицини, які застосовують для лікування продуктивних тварин протимікробні препарати, зобов'язані щоквартально подавати до компетентного органу звіт про обсяги застосованих ними протимікробних препаратів;

- Призначення протимікробних препаратів ґрунтується на діагнозі, що базується на результатах клінічного обстеження тварини ветеринарним лікарем, який призначає препарат. Там, де це можливо, проводиться тест на протимікробну чутливість;

- Інформація, що стосується тварин, причини і природи інфекції, наявних протимікробних препаратів, обмеження щодо використання продуктивним видам тварин, регіональна епізоотична ситуація та протимікробна чутливість береться до уваги для прийняття рішення щодо протимікробної терапії;

- При застосуванні протимікробних препаратів пріоритетом завжди є протимікробні препарати з вузьким спектром дії. Використання протимікробних препаратів широкого спектру дії та комбінацій протимікробних препаратів бажано уникати (за винятком комбінації, що міститься у зареєстрованому ветеринарному лікарському засобі);

- У разі, якщо тварина або група тварин хворіють на рецидивуючі інфекції, що потребують протимікробної терапії, докладають зусиль для знищення виявлених збудників, встановивши причини рецидиву, й змінюючи умови виробництва, тваринництва та/або управління стадом;

- Зводять до мінімуму використання протимікробних препаратів, що сприяють поширенню трансмісивної стійкості;

- Лікування тварин протимікробними препаратами проводиться відповідно до листівки-вкладки, короткої характеристики препарату та рецепту;

- Застосування протимікробних препаратів перед та після оперативного втручання максимально зменшується за допомогою асептичних методів;

- При можливості, надають перевагу альтернативним методам боротьби з хворобами тварин, що доведені однаковою ефективністю і безпечністю (наприклад, вакцини) порівняно із застосуванням протимікробних препаратів;

- Система фармаконагляду використовується для отримання інформації та зворотного зв'язку щодо неефективної терапії;

- Для забезпечення проведення тестів чутливості до протимікробних препаратів у зоонозних і симбіонтних мікроорганізмів і об'єктних патогенів використовують доступну мережу лабораторій [6].

При використанні критично важливих протимікробних препаратів враховують наступне:

- Використання критично важливих протимікробних препаратів для лікування продуктивних тварин заборонено;

- Використання критично важливих протимікробних препаратів для непродуктивних тварин обмежується випадками коли немає інших доступних альтернатив.

- Критично важливі протимікробні препарати застосовувати лише в ситуаціях, коли на основі тестування чутливості до протимікробних препаратів та відповідних епізоотичних даних не існує альтернативи їх застосування;

- У виняткових випадках, коли використання критично важливого протимікробного препарату є неминучим і легально допустимим, призначення та використання обґрунтовується на підставі клінічних ознак та відсутності альтернатив (призначення вважається необхідним для того, щоб уникнути страждання хворих тварин).

- Протимікробні препарати можуть застосовуватися індивідуально пероральним або парентеральним шляхом та/або груповим методом додавання лікарської речовини до води чи вскладі корму. За неможливості індивідуального використання протимікробних препаратів та необхідності проведення групової терапії застосовують пероральну протимікробну терапію групам тварин за допомогою лікувального корму або шляхом додавання протимікробних препаратів до питної води, корму [5].

При пероральному застосуванню протимікробних препаратів групам тварин з кормом або питною водою віддають перевагу індивідуальному лікуванню хворої тварини (наприклад, парентеральному введенню) перед груповим або масовим лікуванням. У разі використання групового лікування дотримуються наступних правил:

- Лікувальний корм, який містить ветеринарний препарат відпускається за ветеринарним рецептом;

- Пероральна протимікробна терапія, що здійснюється шляхом застосування лікувального корму або питної води, проводиться тільки за призначенням та під контролем ветеринарного лікаря;

- У разі встановлення інфекційного захворювання протимікробні препарати вводять групам тварин з кормом або питною водою лише з лікувальною метою;

- Кількість протимікробних препаратів, що вводяться у корм або воду, постійно контролюється та документується;

- Рекомендації надані в інформації про препарат (КХП, листівка-вкладка, етикетка) та від ветеринарного лікаря повинні співпадати і в дозуванні, і в тривалості лікування.

- У разі застосування протимікробного препарату з кормом, забезпечують рівномірність його розподілу, для того, щоб кожна тварина отримала необхідну терапевтичну дозу відповідно до рецепту.

- Для забезпечення належного зберігання лікувального корму на фермі забезпечують відповідними приміщеннями та умовами зберігання.

1.4 Застосування антимікробних препаратів у ветеринарній медицині

Протимікробні препарати в ветеринарній медицині відпускаються за ветеринарним рецептом. Ветеринарний рецепт видається ліцензованим ветеринарним лікарем або ветеринарним лікарем ліцензованого закладу ветеринарної медицини, який безпосередньо знайомий з історією групи, стада або тварини, яка підлягає лікуванню;

Після клінічного огляду та/або здійснення інших діагностичних заходів, достатніх для визначення стану здоров'я тварини чи групи тварин видається ветеринарний рецепт. За можливості, відбираються зразки, з яких можна ідентифікувати патоген і визначити його чутливість до протимікробних препаратів. У гострих випадках, коли лікування потрібно починати негайно, щоб уникнути страждання тварини або обмежити

поширення інфекції, все ж доцільно відбирати зразки. Якщо зразки відбираються безпосередньо до початку лікування проводиться тестування на чутливість під час лікування. Результати використовуються для підтвердження вибору протимікробної речовини та для інформування про епідеміологічний контроль (пасивний моніторинг антибіотикорезистентних штамів). У разі проведення лікування на постійній основі, повторне тестування культури та чутливості дає змогу виявити тенденції до протимікробної чутливості та, за необхідності, змінити лікування.

Ветеринарний рецепт на протимікробний препарат є дійсним протягом п'яти днів з дня його видачі. Ветеринарний рецепт на протимікробний препарат для метафілактики видається тільки після встановлення діагнозу, що підтверджує наявність у тварини інфекційного захворювання. Такий рецепт має бути належним чином обґрунтований;

Кількість протимікробного препарату, передбачена рецептом, не повинна перевищувати кількості, достатньої для подолання періоду ризику для здоров'я тварини;

Також допускається застосування протимікробного препарату без ветеринарного рецепту безпосередньо особисто ветеринарним лікарем або ветеринарним лікарем ліцензованого закладу ветеринарної медицини за умови ведення ним відповідних записів щодо застосування антимікробних записів в амбулаторному журналі [7].

Ветеринарний спеціаліст діє згідно рекомендацій щодо призначення та застосування протимікробних препаратів. Особлива увага приділяється:

- сучасним інструкціям з лікування, наданим компетентними органами або ветеринарними професійними органами для надання допомоги ветеринарним лікарям у виборі відповідного протимікробного препарату і фіксації відповідного режиму дозування і способу введення;
- аналітичні інформації щодо поширених інфекцій, які враховують регіональні та місцеві тенденції чутливості до протимікробних засобів для

прийняття оптимального рішення щодо призначення при відсутності даних про чутливість.

При виписуванні рецепта потрібно переконатися, що обраний найбільш відповідний протимікробний препарат, на основі найбільш точних і сучасних даних про фармакодинаміку та фармакокінетику, а також на точній та актуальній інформації про властивості різних класів протимікробних препаратів. Ветеринарний лікар, або лабораторія повинні негайно повідомляти компетентний орган про відсутність або зниження ефективності протимікробного препарату.

Контроль за застосуванням протимікробних препаратів в ветеринарній медицині та нагляду за протимікробною резистентністю бактерій в Україні здійснюється компетентними органами, що реалізують державну політику в сфері ветеринарної медицини.

Компетентний орган, відповідно настанов Всесвітньої організації охорони здоров'я (WHO), Всесвітньої організації охорони здоров'я тварин (OIE), результатів виконання заходів за попередній період та проведення аналізу ризиків, планує та виконує плани щодо заходів активного та пасивного моніторингу утворення та циркуляції антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів у тваринництві [2].

Відповідальність за застосування протимікробних препаратів покладена на спеціаліста ветеринарної медицини та/або власника тварини, фермера або персонал, що працює на фермі. Вони відповідають за ретельне дотримання вказівок ветеринарного лікаря, який виписав препарат, зокрема стосовно застосування протимікробних препаратів та їх альтернатив. Особи, які застосовують препарат завжди дотримуються рекомендацій ветеринарного лікаря, який виписав препарат, інформації про препарат (КХП, листівка-вкладка, етикетка) і будь-яких затверджених вказівок або рекомендацій інших організацій раціонально вводити протимікробні препарати, особливо при лікуванні тварин перорально (протимікробні препарати, що додають до корму або питної води).

При введенні протимікробних препаратів групі тварин, фермери або будь-які інші особи, які застосовують протимікробні препарати, повинні:

- переконатися, що для лікування обрана правильна група тварин, застосовано необхідне дозування протягом зазначеної тривалості лікування;
- контролювати, що всі тварини вживають адекватну/повну кількість лікувального корму, що містить терапевтичну дозу, для уникнення невірної дозування. Якщо існує ризик цього, фермери повинні повідомити ветеринарного лікаря, який призначив препарат, про оцінку необхідності зміни режиму лікування (наприклад, шляхом переходу на парентеральне лікування).

Відповідно до законодавства, особи, які застосовують протимікробні препарати повинні:

- отримувати протимікробні препарати з дозволених джерел на основі рецепту, або із зазначенням реєстраційного номера (ліцензії);
- забезпечувати безпечність ланцюга виробництва харчових продуктів, дотримуючись інструкцій, наданих ветеринарним лікарем, введення протимікробних препаратів, забезпечення дотримання періодів виведення для уникнення появи залишків протимікробних препаратів в м'ясі, молоці або інших продуктах тваринного походження [3].

Особи, які застосовують протимікробні препарати, повинні також:

- співпрацювати з ветеринарним лікарем, який регулярно відвідує тварин і знає історію та поточний стан здоров'я групи, стада або тварини, щоб дозволити йому застосувати заходи профілактики захворювання(нь), які враховують належне поводження, благополуччя та добробут тварин;
- забезпечити дотримання правильної дози, тривалості лікування та режиму дозування;
- знати загальні аспекти раціонального використання протимікробних препаратів і механізмів утворення антибіотикорезистентності, включаючи необхідність відбирати зразки та проводити тестування чутливості до протимікробних препаратів на цільові патогени.

Науково-дослідні інститути, ветеринарні факультети та аграрні університети або коледжі забезпечують достатню увагу проблемам антибіотикорезистентності та раціональному використанню протимікробних препаратів у практиці ветеринарної медицини та враховувати це при розробці бакалаврських та магістерських програм. Програми для бакалаврів та магістрів зосереджуються на розширенні навчальних матеріалів і методів, які стосуються шляхів вдосконалення навчальних та виробничих практик, що сприяють покращенню здоров'я тварин. Така діяльність включає заходи із біобезпеки та біозахисту, належну ветеринарну практику та планування здоров'я стада, що запобігає інфекціям і, отже, зменшує потреби в протимікробних препаратах.

Надання інформації про протимікробні засоби та антибіотикорезистентність, впроваджується у базову освіту з питань охорони здоров'я та безпеки харчових продуктів, наприклад, у середніх школах.

Університети та інші науково-дослідні установи надають пріоритет дослідженням у сфері антибіотикорезистентності. У ветеринарній медицині, зосереджуються на:

- розробці альтернативних, переважно профілактичних заходів та засобів для контролю за інфекційним процесом;
- оцінці та аналізі впливу використання протимікробних препаратів для тварин на утворення резистентності до антимікробних засобів у мікроорганізмів, здоров'я населення та навколишнє середовище;
- подальшому вивченню фармакокінетичних і фармакодинамічних даних та використання моделей для імітації ефектів різниці схем дозувань (на основі різних комбінацій: хвороби, патогена, тканини і виду тварин). Результати моделювання мають забезпечити наукове обґрунтування для встановлення ефективних схем дозування на практиці;
- подальшому дослідженню суміжної і перехресної стійкості, включаючи суміжну стійкість дезінфікуючих і протимікробних препаратів і

суміжну стійкість і розвиток стійкості протимікробних препаратів до певних металів;

- розробці нових класів протимікробних препаратів [4].

Ветеринарні факультети надають інформацію про ризик внутрішньо-лікарняних інфекцій при здійсненні ветеринарної практики, про використання процедур моніторингу для виявлення і повідомлення про виникнення інфекцій та про використання профілактики інфекції і контрольних заходів з мінімізації її виникнення.

Наукові публікації повинні сприяти принципам раціонального використання антимікробних засобів у ветеринарній медицині.

2. АКТИВНІСТЬ BACILLUS SUBTILLIS

2.1. Характеристика агента Bacillus Subtilis

Bacillus subtilis — грам-позитивна аеробна ґрунтова бактерія, як і всі представники роду, утворює ендоспори. Вперше була описана в 1835 році Еренбергом як *Vibrio subtilis*, в 1872 році була перейменована Коном на *Bacillus subtilis* та стала типовим видом роду. В українській літературі трапляється назва «сінна паличка» через те, що культури накопичення цього мікроорганізму отримують з сінного екстракту. Є продуцентом деяких пептидних антибіотиків та ферментів (амілази, протеази), що отримуються промислово. Також ця бактерія — модельний організм для дослідження грам-позитивних бактерій.

B. subtilis — паличкоподібна бактерія розмірами 3-5x0,6 мікрон. Ендоспори овальні, не перевищують розміру клітини, розташовані центрально. Кожна клітина має кілька джгутиків (перитрих), рухома.

Колонії сухі, дробнозморшкуваті, бархатисті, безбарвні або рожеві. Край колонії хвилястий. Росте на МПА, МПБ, а також на середовищах, що містять рослинні залишки, на простих синтетичних живильних середовищах для гетеротрофів. Ця бактерія — хемоорганогетеротроф, амоніфікує білки, розщеплює крохмаль, глікоген. Доведено, що штами *Bacillus subtilis* зовсім не шкідливі для людини та тварин. Відсутність патогенності у штамів *Bacillus subtilis* дало підставу для присвоєння їм Управлінням за контролем якості продовольчих і лікувальних засобів США статусу GRAS (generally regarded as safe) — безпечних організмів [60].

2.2 Культивування Bacillus Subtilis в технології одержання препарату ветеринарного призначення

Для ферментації використовують систему ІБП РАН МФК-3. Всклад системи входять: модуль фільтрації повітря, ферментаційні ємності об'ємом по 3 л, система комунікаційних магістралей і клапанів; автономний модуль парогенератора робочим об'ємом 20 л з системою автоматичного

дозаправлення водою, модуль періодичної стерилізації поживних середовищ в режимі автоклавування об'ємом 20 л.

Ядром системи є каскадний модуль, який складається з двох ферментаційних ємностей. У даному модулі використовується пневматичний режим аерації та перемішування культуральної рідини (КР), мотори та герметичні системи передачі потужності в рідину типу магнітних муфт, ущільнень та сальників не використовуються [61-62].

Ферментаційні ємності з'єднані магістраллю для перетікання культуральної рідини з однієї ємності в іншу, причому кожна наполовину заповнена структурними елементами типу кілець Рашига або матриксом для створення фізіологічної поверхні масообміну.

При подачі стерильного повітря магістралі і відкритому клапані і закритому клапані КР з ємності по патрубку нижнього зливу надходить у ємність.

При відкритому клапані і закритому клапані КР з ємності повертається в першу ємність; таким чином, здійснюється цикл перетікання.

У протифазі клапанів працюють клапани, які разом з буферною ємністю і патрубком утворюють магістраль повітря, що відходить. По лінії 1 і допомогою насоса в ферментаційну ємність подаються живильне середовище і завантажуються посівний матеріал. Лінія 2 служить для подачі пари; лінія 3 забезпечує збирання продукту; лінія 4 скидання каналізацію.

У модулі фільтрації газів і повітря використовували фільтри, що стерилізуються, з фільтруючими елементами і корпусами.

Для комунікації культуральної рідини, пари та середовищ використовували перетискні клапани оригінальної конструкції [65].

Двохрівнева система управління складається з мікроконтролера та РС. Система реалізує зручні елементи графічного інтерфейсу (GUI), здійснює режими управління виконавчими елементами, параметризацію процесу та візуалізацію стану процесу ферментації, архівування даних, доступних, крім того, для інтерпретації засобами Excel. Живильне середовище. Основою

живильного середовища є відвар розмеленого зерна пшениці. Хімічний склад зерна представлений у роботі.

Середовище потрібно готувати наступним чином:

- зерно пшениці промити в холодній водопровідній воді до просвітлення змивної води, потім просушити,
 - розмолотити зерно на крупорушці до фракції 0.2-0.4 мм,
 - взяти 200 г розмелювання і залити 3-4 л водопровідної води в бутель,
 - у сулію підвести пару, розігріти суміш парою і варити 20-30 хв.; об'єм середовища довести до 5.5 –6.0 л. - відвар фільтрувати через сито (0.7),
 - у фільтрат внести 5 г/л крейди - CaCO_3 і ретельно перемішати,
 - взяти 600 мл відвару на приготування посівного матеріалу,
- основну частину середовища завантажити в спеціальний стерилізатор середовища, який є складовою частиною ферментаційної установки, стерилізувати 60 хв,
- рН середовища до стерилізації 7.2, середовище забуферене вуглекислим кальцієм [64].

Стерилізація модулів установки та живильного середовища.

Стерилізацію модуля ферментерів, модуля фільтрів та живильного середовища здійснюють від вбудованого в систему парогенератора за допомогою процедур управління, спеціально розроблених та адаптованих для даного мікробіологічного процесу. Параметри стерилізації становлять 120 °С, 60 хв.

Вирощування посівного матеріалу. Для досліджень використовується штам *Bacillus subtilis* ВКПМ-5225. Вирощування інокулюма здійснюють в трьох колбах по 150 мл на гойдалці на основному середовищі ферментації, при 180 об/хв. Добовий посівний матеріал знімають і зливають в боксі під полум'ям в одну колбу з відростком для подальшого посіву у ферментер.

Процес культивування. У ферментаційну ємність завантажуються живильне середовище об'ємом 2 л та посівний матеріал; даний обсяг середовища є оптимальним для необхідного режиму перемішування та

аерації. Обидві ферментаційні ємності заповнені сполучними КР елементами – кільцями Рашига (висота кільця дорівнює його діаметру) [65].

Відповідно до процедури управління культуральна рідина по черзі перетікає з одного ферментера в інший, при цьому на кільцях Рашига осаджується частина рідини, яка аерується стисненим повітрям.

Частота зміни фаз на кільцях Рашига в циклі перетікання культуральної рідини визначає швидкість масообміну по кисню.

Культивування *B.subtilis* у від'ємно-доливному режимі. Ферментер: 2x2 л пневмопривідний, активна поверхня сітка або фторопластові кільця: насипний об'єм 50 % від обсягу ферментера. Середовище: - зерно пшениці промити у холодній водопровідній воді до просвітлення змивної води. Просушити. Розмолоти на крупорушці до найбільшої фракції 0.2-0.4 мм., 200 г залити 3-4 л холодної водопровідної води в сулія - розігріти парою і варити 20-30 хв.; об'єм середовища довести до 5.5 –6.0 л [66].

Відвар фільтрувати через сито (0.7) - у фільтрат внести 50 г/5 л крейди – CaCO₃; ретельно перемішати - взяти 600 мл на приготування інокулята.

Процес культивування бактерій *Bacillus subtilis* в пневмопривідному біореакторі зазвичай показує хорошу відтворюваність виходу з біомаси декількох ростових циклів у відокремлювально-доливному режимі. Застосування таких препаратів у майбутньому, ймовірно, призведе до відмови від масового застосування антибіотиків у тваринництві.

2.3 *Bacillus Subtillis* як продуцент пептидних антибіотиків

Рід *Bacillus* - одна з найбільш різноманітних і комерційно корисних груп мікроорганізмів, що викликає велику зацікавленість мікробіологів через значне поширення представників цього роду, циклу розвитку, незвичайної стійкості їх спор до хімічних і фізичних агентів та патогенності, та робить їх важливими джерелами отримання комерційних препаратів (ферменти, антибіотики, підсилювачі запаху і харчові добавки, і інсектициди). Родина *Bacillus* нараховує 217 видів та об'єднує велику групу аеробних

грампозитивних хемоорганотрофних мікроорганізмів. Типовим видом є *B. subtilis* - один з найбільш вивчених мікроорганізмів [68].

Таксономія бацил: Домен: *Bacteria*, Відділ : *Firmicutes*, Клас: *Bacilli*, Порядок: *Bacillales*, Родина: *Bacillaceae*, Рід: *Bacillus*.

Рід *Bacillus* об'єднує бактерії за наступними ознаками:

- 1) прямі або майже прямі паличкоподібні бактерії, розміри яких $0,3 - 2,2 \times 1,2 - 7,0$ мкм;
- 2) рухомі з перитріхально розташованими джгутиками;
- 3) утворюють стійкі до факторів навколишнього середовища ендоспори.

Рід *Bacillus* є убіквітарною, зустрічаються в ґрунті, воді, пилу і повітрі. Види роду *Bacillus* відомі синтезом вторинних метаболітів з високим і різноманітним спектром біологічної активності. За кількістю продукції антибіотичних речовин є другими мікроорганізмами після актиноміцетів.

Основні продуценти антибіотиків цього роду: *B. brevis* (наприклад, граміцидин, тиротрицин), *Bacillus cereus* (наприклад, церексин), *Bacillus laterosporus* (латероспорин), *Bacillus licheniformis* (бацитрацин), *Bacillus polymyxa* (поліміксин, колістин), *Bacillus subtilis* (бацитрацин, мікобацілін, субтілін). Як прийнято вважати, ці антибіотики в основному є поліпептидами [69].

Молекулярно-генетичний аналіз і послідовність ДНК показали, що гени біосинтезу антибіотиків бацил кластеризуються в поліцистронні одиниці транскрипції і знаходяться під контролем глобальних регуляторних систем, які керують експресією генів, та індуюються, коли клітини бацил вступають у стаціонарну фазу росту.

Біосинтез нерибосомальних пептидів здійснюється мультиензимними комплексами (нерибосомальні пептидсинтетази). Ці комплекси організовані за модульним принципом, послідовність амінокислотних залишків в пептиді, що синтезується, визначається послідовністю амінокислотних залишків самих нерибосомальних пептидсинтеаз. Ускладнені структури

нерибосомальних пептидів запобігають гідролізу антибіотиків протеолітичними ферментами, створюють просторові структури, що дозволяють взаємодіяти з мішенню. Утворення пептидних антибіотиків у бацил контролюється азотною і вуглецевою репресією, зниження синтезу спричиняється зміною рН середовища та утворенням із глюкози оцтової і піровиноградної кислот [70].

Необхідними умовами для синтезу антибіотиків є амінокислоти, аденозин-5-трифосфат, іони Mg.

За напрямом антимікробної активності антибіотики, синтезовані цими мікроорганізмами поділяються на:

1. Антибіотики широкого спектру дії. До цієї групи відносяться широко розповсюджені препарати. Наприклад, бацилін отриманий з культури *B. subtilis*, що пригнічує розвиток грампозитивних *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus albus*, *Symphyotrichum lanceolatus* і грамнегативних мікроорганізмів *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli*, *Pasterella* spp.;

Бацитрацин – суміш поліпептидів-інгібіторів клітинної стінки бактерій, виділені з культури *B. licheniformis* з бактерицидною активністю. Крім використання у ветеринарії, бацитрацин можна застосовувати в невеликих концентраціях профілактично та як стимулятор росту при вирощуванні та відгодівлі тварин та птиці [71].

Тиротрицин, що синтезується культурою *B. brevis*, активний переважно щодо стафілококів, стрептококів, пневмококів; *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., нейсерій, клостридій, деяких грамнегативних бактерій (*Pseudomonas* spp., *Proteus* spp.), грибків (у тому числі *Candida* spp.) та трихомонад.

Субтілін був отриманий з культури *B. subtilis* NRRL-B 545. Це пептидний антибіотик, що містить лантіонін (лантібіотик). Бактерицидна активність подібних речовин заснована на деполаризації бактеріальних цитоплазматичних мембран та утворенні водних трансмембранних пор .

Високоактивний проти *S. aureus*, *Treponema pallidum*, *B. cereus*, *B. anthracis*, *Neisseria* spp., *Mycobacterium tuberculosis*. Додаванням невеликих доз цього антибіотика дозволяє значно зменшити час стерилізації харчових продуктів, що забезпечує збереження природного забарвлення продуктів, тому його успішно використовують як консервант у промисловості, зокрема при консервуванні овочів та фруктів [72].

2. Активні проти грампозитивних бактерій: атеррімін, який утворюється штамом *B. subtilis* var. *aterrimus*; бациліпіни, бацилізіни з культури *B. subtilis*.

3. Активні проти грамнегативних бактерій. Граміцидин бактерицидно активний щодо стрептококів, стафілококів, пневмококів та інших мікроорганізмів та синтезується *B. brevis*. Діюча речовина - граміцидин С, що продукує *Bacillus brevis* var. *G.-B.* Штам в процесі розвитку в рідкому поживному середовищі та при висіві на щільні поживні середовища з дріжджовим екстрактом може утворювати різні за морфологією та деякими іншими властивостями колонії: складчасті (R), гладкі (S) і дві плоскі (P + і P-) форми, що залежить від умов культивування. Утворювати граміцидин С можуть лише форми R і P+ [73].

Поліміксини, схожі на катіонних детергентів, порушують осмотичну цілісність клітинних мембран шляхом взаємодії з ліпополісахаридами і фосфоліпідами зовнішньої мембрани. Поліміксин В синтезується культурі *B. polymyxa* та активний щодо представників родів *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, а також *Bordetella pertussis*, *H. influenzae*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*. Зазвичай стійкі *Serratia marcescens*, *Providencia* spp., *Bacteroides fragilis*. Резистентність до поліміксину розвивається рідко, в зв'язку з чим вони зберігають активність щодо полірезистентних штамів *P. aeruginosa* і *Enterobacteriaceae* spp.

Бактеріцидний колістин (або поліміксин Е) - метаболіт *Bacillus polymyxa* var. *colistinus*. До препарату чутливі грамнегативні бактерії *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *E. coli*, *Haemophilus influenzae*,

P.aeruginosa, *Enterobacter* spp., сальмонелли, шигелли, клебсієлли (у тому числі *Klebsiella pneumoniae*).

4. Протигрибкові антибіотики. Це *Aspergillus*-фактор з культури *B. subtilis*; ітурін, що синтезується *B. subtilis* v. *ituricensis* та інгібує ріст і розвиток *Serratia marcescens*, *E. coli*, *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., мікосубтілін - *Trichophyton* spp., *Torulasporea delbruckii*, *Microsporium audouini*, *Achorion schonleini*, *Cryptococcus neoformans*, *Roseomonas rubra*. Мікобацілін пригнічує ріст таких мікроскопічних грибків як *Aspergillus niger*, *Candida albicans* та грибів-фітопатогенів, тому засоби на його основі використовуються в області сільськогосподарської біотехнології.

Фунгістатин здійснює фунгістатичну, а у великих дозах - фунгіцидну дію на патогенні гриби і, особливо, на дріжджоподібні гриби роду *Candida*, а також на аспергили, *Trichophyton gypseum*, *Rhodotorula* spp. Ризостоніа-фактор, отриманий з культури *B. subtilis* ATCC 6633 ефективний проти *Rhizoctonia solani*, *Rothium* spp., *Rhizoctonia bataticola*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium digitatum* [74,75].

Отже, у зв'язку із зростанням проблеми резистентності мікроорганізмів до антимікробних засобів, останнім часом інтерес до цієї групи препаратів зростає. Але багато антибіотичних сполук, протипатогенами яких є штами *B. subtilis*, ще потребують подальшого вивчення.

2.4 Механізми лікувально-профілактичної дії бактерій роду *Bacillus*

Лікувальний ефект пробіотиків на основі бактерій роду *Bacillus* визначається сумою специфічних активностей, які мають ці мікроорганізми та продукти їхнього метаболізму. Механізм дії препаратів із живих мікробних культур здебільшого зумовлений наявністю в пробіотичних штамів цілої низки корисних для макроорганізму властивостей, зокрема здатності до продукування різноманітних біологічно активних сполук [76] пробіотична активність є суто штамовою ознакою. Різні

штами, в тому числі одного виду, здійснюють на організм тільки притаманний їм пробіотичний ефект.

Надлишковий ріст (bacterial overgrowth) мікроорганізмів одного виду передбачає зменшення кількості іншого (інших) видів. І якщо останні є корисними для хазяїна, забезпечували його життєдіяльність, то наслідки пропорційні їх зменшенню (наприклад, зменшення продукування вітамінів, ферментів тощо) [77].

Роль нормофлори в організмі тварин величезна, навіть саме їх існування повністю залежить від діяльності мікроорганізмів, які виробляють необхідні ферменти, вітаміни, розкладають речовини складу кормів на доступні елементи.

Нормофлора (мікробіота) — це якісне і кількісне співвідношення в окремих органах і системах різноманітних популяцій мікробів, які підтримують біохімічну, метаболічну та імунну рівновагу макроорганізмів, необхідну для здоров'я. Стабільність складу нормофлори кишечника, або колонізаційна резистентність, здійснюється переважно за рахунок наявності достатньої кількості власної грампозитивної анаеробної флори, яка становить бар'єр заселенню кишечника чужорідними мікроорганізмами [78].

У хворому організмі у більшості випадків змінюються кількісні співвідношення мікрофлори, її розподіл в кишечнику, респіраторному тракті, шкірі, внутрішніх органах і, крім того втрачається її біологічна активність.

Які б варіанти захворювань не виникали, завжди спостерігається надлишковий ріст одного з мікроорганізмів. Цей процес супроводжується збільшенням кількості мікроорганізмів, захопленням чужої їм території, загостренням боротьби за обмежені харчові ресурси, посиленням агресивності. Разом зі змінами співвідношень мікроорганізмів синхронно змінюється (більшою чи меншою мірою) і клінічний стан тварин у бік погіршення як на індивідуальному, так і на всьому поголів'ї.

Формування мікрофлори регулюється складною системою міжмікробних взаємодій і макроорганізмом у процесі його життя. Склад і

функціонування нормофлори залежить від багатьох факторів: віку, статі, особливостей годівлі, утримання, експлуатації тварин. Пристосованість бактерій у макроорганізмі є досить поширеною формою співіснування, при якому виникають умови для хронічного інфекційного процесу або бактеріоносійства.

Здатність персистувати тривалий час в організмі хазяїна мають збудники сальмонельозу, ешерихіозу і ряд інших інфекційних хвороб [79].

Постійне застосування антибіотиків, в тому числі кормових, обов'язково сприяє селекції і наступній циркуляції у господарстві умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів з підвищеною резистентністю до антибіотиків та властивих тільки цьому стаду. Епізоотологічна ситуація погіршується, падає економічна ефективність і якість продукції. У країнах Євросоюзу, США та інших пробіотики активно витісняють кормові антибіотики.

Фармакологічні особливості препарату придатні до застосування у якості замісної терапії для профілактики та лікування шлунково-кишкових захворювань тварин (колібактеріозу і сальмонельозу), дисбактеріозів, корекції мікрофлори шлунково-кишкового тракту при антибіотикотерапії, мікотоксикозах, проявляють імуностимулюючу та ростостимулюючу дію. Препарат можна використовувати паралельно із застосуванням інших терапевтичних засобів, в тому числі антибіотиків (гентаміцином, доксицикліном, пеніциліном, оксациліном, лінкоміцином, неоміцином, стрептоміцином).

У зв'язку з тим, що препарат виготовлений із штамів мікроорганізмів *Bacillus subtilis* та *Laktobacillus acidophilus*, які не чутливі до цілого ряду антибіотиків, у дослідній групі поросят, як і в контролі, проводили планову фармакологічну підтримку. Дозування 0,5-1,0 см³/ кг живої ваги 2 рази на добу. (Фактично одна доза препарату становила 108 м. т. на 1 мл). Протипоказання — не встановлені. Препарат є екологічно чистим, не

викликає ускладнень, не має побічної дії, не накопичується в органах і тканинах тварин [80].

2.5 Чинники патогенності бактерій роду *Bacillus*

B. subtilis зазвичай не вважається патогеном людини, проте інколи здатна викликати отруєння їжі токсинами. Її спори здатні виживати при значному та тривалому нагріванні, тому не вмирають при звичайних методах приготування їжі. При проростанні спор при зберіганні продуктів, бактерія викликає утворення слизького шару на поверхні продуктів, за що відповідають довгі полісахариди, які вона секретує. Є причиною картопляної хвороби хліба [81].

2.6 Тестування можливої антимікробної активності

Виражені протимікробні властивості пробіотичних штамів бактерій роду *Bacillus* дають змогу розглядати можливість застосування препаратів на їхній основі як альтернативу антибіотикам, що особливо важливо в епоху стрімкого розповсюдження резистентних форм патогенних мікроорганізмів і зниження ефективності низки протимікробних засобів [79,80].

Відомо, що при переході спорової форми пробіотиків із бацил до вегетативних клітин штами бактерій виділяють біологічно активні речовини, зокрема антибіотичні сполуки, які зумовлюють лікувально-профілактичний ефект препарату.

Отже, спороутворювальні бактерії роду *Bacillus* безпечні для макроорганізму, є продуцентами комплексу біологічно активних речовин, корисних для макроорганізму, мають імуномодулювальні властивості, стійкі до низьких температур і рН, позитивно впливають на організм господаря. Це одна з найперспективніших груп мікроорганізмів для створення нових лікувально-профілактичних препаратів для людини та тварин.

Отримані за останнє роки результати численних клінічних досліджень щодо ефективності пробіотиків із бацил відкривають нові можливості та напрями їх використання в комплексному лікуванні різних захворювань і корекції імунітету [88].

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ЛЗ)

2.1. Передумови виробництва ЛЗ

Респіраторні хвороби ВРХ та сільськогосподарських тварин в цілому є однією з важливих проблем сучасного скотарства, що призводить до значних економічних втрат для виробників. Багато різних інфекційних агентів (віруси, бактерії, мікоплазми) можуть викликати клінічні ознаки запалення легень. При чому, у патогенний процес вони можуть включатися у різних комбінаціях. Значну роль у виникненні респіраторного захворювання відіграють бактерії.

2.1.1. Бактеріальні інфекції дихальних шляхів у великої рогатої худоби

Статистичні дані. За оцінками експертів, майже 75 % захворювань та до 50-70 % смертності серед відгодівельного молодняку ВРХ викликані інфекціями дихальних шляхів [91]. Згідно з моніторингом, який проводить у США Національна система моніторингу здоров'я тварин (NAHMS), найвища причинно-специфічна смертність у телят як перед, так і після відлучення пов'язана з BRD (Bovine respiratory diseases, бактеріальних респіраторних інфекцій великої рогатої худоби) і становить 2,3 % та 1,3 %, відповідно [92]. Згідно з даними NAHMS у 2011 році у США на респіраторні захворювання хворіло 18,1 % телят до відлучення.

Боротьба з респіраторними хворобами є основним економічним тягарем для операторів скотарства, у першу чергу, м'ясного напрямку. Представлені Griffin дані продемонстрували, що витрати на лікування респіраторних захворювань ВРХ становлять приблизно 7 % від загальної

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.		Гвоздь К.С.			РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ЛЗ)					
Перевір.		Воронцов О.О.						Літ.	Арк.	Аркушів
Консультант									142	39
Н. Контр.								Кафедра БТМ 41		
Затверд.		Стабніков В.П.								

собівартості продукції. За іншими даними, втрати, пов'язані з лікуванням BRD, у США оцінюються у межах 292 дол. на тварину, яка потребувала трихразового застосування антибіотиків. Chirase і Greene підраховали, що у 2001 році харчова промисловість США втрачала від 800 мільйонів до 900 мільйонів доларів щорічно внаслідок захворювання молодняку ВРХ на BRD через смертність, зниження продуктивності тварин, збільшення конверсії корму та витрат на лікування [91].

За оцінками Baptista та ін. економічний збиток, завданий BRD скотарській галузі Бразилії, у 2012 році становив 30 649,4 дол. США на 10 000 голів великої рогатої худоби на відгодівлі [94]. У Великобританії, за оцінками Andrews, один випадок захворювання на пневмонію обходиться фермеру у 43,26 фунтів стерлінгів затрат на одне хворе теля із додатковими затратами у 29,58 фунтів на клінічно здорову тварину, при чому, основна стаття витрат, пов'язаних з BRD, припадає на лікування. Holland та ін. підраховали, що одноразове лікування теляти, хворого на BRD, зменшило прибутковість вирощування тварини на 40,64 долара, порівняно з рентабельністю відгодівлі тварини, яку не лікували. Завдяки високій вартості, лікування більшість заходів, що здійснюються на сьогоднішній час, спрямовані на профілактику або метафілактику BRD.

Аналіз моніторингу з вивчення поширення інфекцій бактеріальної етіології серед великої рогатої худоби показує, що упродовж 2014–2018 рр. тварини найбільше уражались колібактеріозом, який в середньому складав 53,3% від усіх бактеріозів. Туберкульоз також реєструвався у худоби весь час досліджень (рис. 1.1). Серед бактеріальних інфекцій великої рогатої худоби туберкульоз складав в середньому 13,1%. З 2014 по 2015 рр. спостерігалось незначне зростання випадків туберкульозу – 2,6% і 7,7% відповідно, а у 2016 р. показник різко зріс у 4 рази до 31,9%. У 2017 р. році знизився до 12% і залишився майже без змін у 2018 р. – 11,5%. Випадки туберкульозу реєструвались у Сумській та Хмельницькій областях.

Динаміка показників ураженості худоби інфекційною ентеротоксемією не мала певних закономірностей (рис. 1.). Інфекція реєструвалась постійно в межах 0,3–5,0% (в середньому 3%). Найчастіше захворювання реєструвалось у 2016 р., найменше – у 2015 р. Його було виявлено у Волинській, Черкаській та Київській областях.

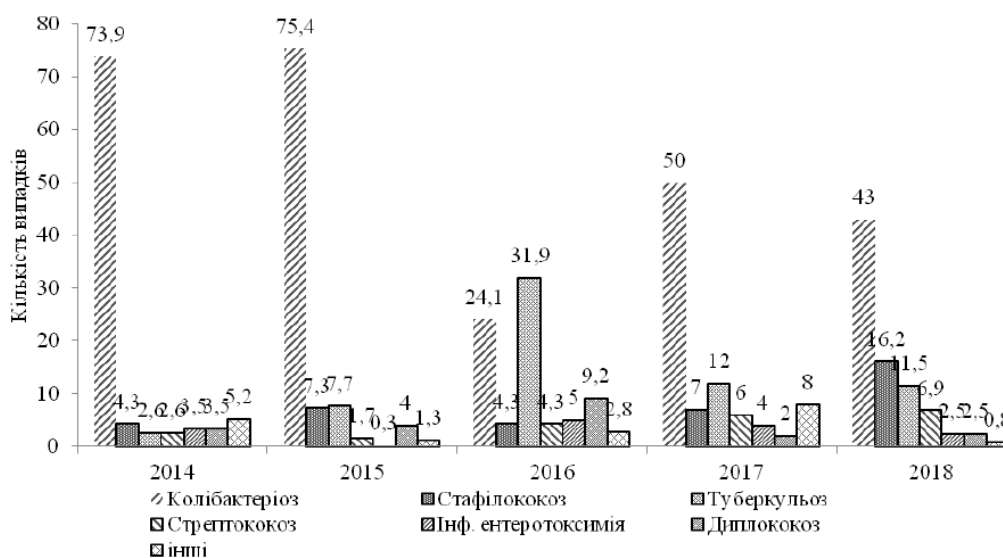


Рис. 1. Співвідношення бактеріальних інфекцій у великої рогатої худоби на території України, виявлених у 2014–2018 роках

Захворювання молодняку ВРХ на BRD віддалено впливає на якість продукції, що проявляється у меншій масі туші при забої, меншому виході м'яса, гірших його смакових та органолептичних показниках тощо. За даними Van Der Fels-Klerx та ін. у корів, які у ранньому віці переохворіли на BRD, спостерігається двотижнева затримка першого сервіс-періоду. У Великобританії ця затримка, за оцінками експертів, «коштує» виробнику 1,65 фунтів стерлінгів на день. Окрім цього, випадок пневмонії у ранньому віці приводить до зниження на 2,2 % надою молока за першої лактації, якщо надій становить 6000 літрів. Враховуючи довготерміновий ефект, у Великобританії фактичні втрати від кожного випадку пневмонії телят складають 82,10 фунтів на ліковане та 74,10 фунтів на здорове, неліковане теля [91].

Причини виникнення захворювання. Комплекс BRD є багатофакторним і мультиетіологічним захворюванням. У нормі дихальна система ВРХ стійка до респіраторних захворювань. Але у результаті цілого ряду причин, що включають широкий спектр різних факторів, ці хвороби виникають. Основні фактори, які сприяють виникненню захворювання органів дихання у ВРХ, можна розділити на стан менеджменту вирощування молодняку, вплив навколишнього середовища та патогенні мікроорганізми. Дослідження Karle та ін. показали, що на поширеність BRD серед молочних телят у період до відлучення, впливає цілий ряд чинників, таких як порода, вік, регіон (місце знаходження), практика менеджменту (годівля, утримання, вакцинація тощо) на рівні як окремої тварини, так і стада в цілому [94].

Значну роль у виникненні респіраторного захворювання серед телят відіграє менеджмент вирощування молодняку ВРХ [95], що включає годівлю, генетику (порода та структура стада), статус імунної системи (включаючи вік, стан споживання молозива та вакцинацію), будь-яке супровідне захворювання тощо.

Є дані, що BRD у бугайців діагностують частіше, ніж у телиць. Cusack et al. встановили кореляцію ($P=0,03$) між статтю та смертністю, викликаною BRD, бугайці вірогідно гинуть частіше, ніж телиці [96].

Виявлена різниця серед порід щодо генетичної сприйнятливості до BRD. Найбільш чутлива ВРХ породи браунфі, тоді як тварини комбінованого напрямку продуктивності більш стійкі до захворювання. Дослідження Hagglund та ін. показали, що бугайці породи ангуська червона і герефордської породи мають підвищену сприйнятливість до BRD, у порівнянні з іншими породами. Дані інших досліджень також свідчать про різну породну чутливість до BRD. Так, австралійські дослідники порівнювали герефордську породу з породою санта-гертруда і виявили, що герефордська порода більш чутлива до BRD, і зауважили, що сприйнятливість до захворювання може змінюватися, залежно від географічного розташування та кліматичних факторів [91].

Важливу роль у поширенні респіраторних хвороб серед молодняку ВРХ відіграють умови утримання тварин. У всьому світі використовуються різні системи вирощування телят, кожна з яких має певні переваги та недоліки. Проте, за будь-якої системи групувати телят необхідно за віковим принципом. Змішування тварин різних вікових груп може збільшити стрес і конкуренцію за корм та воду, при цьому спостерігається домінування старших за віком тварин над молодшими [97]. Як і тип групи, її розмір (тобто щільність тварин з групі) також дуже важливий для запобігання спалахів захворювань. Висока щільність тварин призводить до посилення контакту між тваринами, а, відтак, до збільшення загального інфікування патогенами.

Хоча усі ці чинники відіграють велику роль у розвитку BRD, основною причиною захворювання є патогенні мікроорганізми. Часто BRD є мультиетіологічним захворюванням, яке пов'язано з кількома інфекційними агентами. При респіраторних захворюваннях ВРХ у патологічний процес включається велика кількість інфекційних патогенів (віруси, бактерії, мікоплазми) у різних комбінаціях.

Первинними інфекційними агентами часто є віруси та мікоплазми, тоді як бактерії ускладнюють патологічний процес у вже ослабленому організмі. Однак іноді віруси можуть викликати клінічний синдром, який відповідає респіраторному захворюванню у ВРХ, при відсутності бактеріальної ко-інфекції, їх залучення в розвиток хвороби загалом вважається первинним або паралельним з бактеріальною інфекцією.

Респіраторно-синцитіальний, вірус інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3, вірусної діареї, це пайпоширеніші віруси, які провокують розвиток респіраторного синдрому у телят. Вважається, що віруси сприяють розвитку бактеріальної інфекції двома способами. Перший – це вірусні агенти можуть викликати пряме ушкодження паренхіми легень, полегшуючи транслокацію бактерій з верхніх у нижні дихальні шляхи та розвитку інфекції у пошкодженій легені. Другий – це вірусна інфекція може перешкоджати здатності імунної системи реагувати на бактеріальну інфекцію.

Бактеріальні хвороби органів дихання ВРХ найчастіше викликають *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Chlamydiales spp.*, *Fusobacterium necrophorum*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma bovis*, *M. dipsar* і *Ureaplasma spp.*

Бактерії, які найчастіше пов'язують з пневмонічними ураженнями, зазвичай є частиною нормальної, постійно присутньої в носоглотці ВРХ, мікрофлори. Самі по собі ці мікроорганізми не можуть спричинити серйозне захворювання у здорової худоби, і вважаються «опортуністичними патогенами». Вплив різних стресових факторів, пов'язаних із зоотехнічними умовами утримання, транспортуванням, перегрупуванням тощо, сприяє прояву вірулентних властивостей цих мікроорганізмів із подальшим розвитком патологічного процесу з появою клінічних ознак хвороби у вигляді бронхопневмонії [91].

Хвороби, викликані мікоплазмами, залишаються серед найбільш важких інфекційних захворювань ВРХ. Труднощі діагностики, погана відповідь на лікування, мало профілактичних заходів і збільшення захворюваності робить їх важливою проблемою у провадженні скотарської галузі в цілому світі [98].

Мікоплазматичні інфекції рідко протікають у гострій формі, у більшості випадків їх перебіг хронічний, що свідчить про часто нездатність захисту тварин видалити цих паразитів з їх організму. Knudson та ін. вважають, що верхні дихальні шляхи як у клінічно здорових, так і у телят, хворих на пневмонію, нерідко колонізуються мікоплазмами, проте *Mycoplasma bovis* рідко виділяють з клінічно здорових телят.

З дихального тракту ВРХ було виділено понад 10 видів *Mycoplasmatatacaea*, у тому числі: *M. bovis* (раніше *Mycoplasma agalactiae subsp. bovis*), *M. dispar*, *M. bovirhinis*, *M. bovirhinalium*, *M. arginini*, *M. alkalescens*, *M. canadense*, *M. canis*, *Acholeplasma laidlawii*, *A. axanthum*, *A. modicum* і *Ureaplasma spp.* Не всі мікоплазми є патогенними, але, схоже, вони

зменшують захист організму господаря через зміну чутливості до імунної системи або через пошкодження тканин, що, тим самим, дозволяє іншим патогенним бактеріям проникати у легені та колонізуватися, викликаючи важку пневмонію. За різними даними у 50–90 % випадків пневмонії у м'ясної і молочної ВРХ мікоплазми ізолюють у поєднанні з іншими патогенами.

Патогенні види мікоплазм викликають проліферацію кубічних клітин епітелію і зменшення в'язкості слизових шарів, що знижує ефективність захоплення та видалення інгаляційних речовин. Мікоплазми також здатні стримувати альвеолярні макрофаги, тим самим пригнічуючи активацію та фагоцитарну активність цих клітин [91].

2.1.2. Захворювання репродуктивних органів та молочної залози корів

Також відомо, що одною з головних причин передчасного вибуття ВРХ, а саме корів, є захворювання репродуктивних органів та молочної залози корів [101, 102, 103]. Серед хвороб молочних корів особливе місце займає мастит –запалення молочної залози, що розвивається внаслідок впливу механічних, термічних, хімічних і біологічних факторів. При цьому ця проблема характерна не лише для вітчизняного скотарства. Незважаючи на багаторічний досвід та розробку численних лікувальних схем, мастит є найпоширенішим захворюванням молочного стада у багатьох країнах.

Дивлячись статистичні дані на території України (в господарстві із промисловою технологією виробництва молока, що розташоване в степовій зоні Півдня України) прояву захворювання корів на мастит за місяцями та сезонами року (*табл. 1.*) варто відмітити стабільність в підтримці показника “кількість фуражних корів”. Разом з цим потрібно зазначити, що поняття “вперше хворі” та “повторно хворі” стосуються лише поточного періоду 2019 року. На жаль, існуюча програма статистики хвороб у корів до категорії “повторно хворі” – зараховувала і тих тварин, які впродовж календарного року хворіли на мастит третій чи й четвертий раз.

Відсоток вперше хворих тварин упродовж року корелював з сезонністю. У зимовий період (січень, лютий + грудень) загальна кількість корів, хворих на мастит, склала 627 голів. Цей же показник за весняні місяці (березень–травень) становив лише 269 голів, що в 2,3 разу нижче за попередню зиму. Наступне суттєве середньомісячне зростання відсотка хворих спостерігалось в червні (до 14,15%). Найбільш вірогідне пояснення цього: червень був найспекотнішим місяцем літа, більшість днів його денна температура була в межах 30–37° С. А вже в останні два літніх місяці та три осінніх кількість “вперше хворих” була приблизно рівною (3,08–4,91% від наявного фуражного поголів’я).

Однак, з урахуванням “повторно хворих”, сумарний відсоток корів з патологією молочної залози суттєво різнився за сезонами року. Найвищим він був зимою – 14,37%; дещо нижчим – влітку та в осінній періоді (відповідно 12,16 та 10,32%) і найнижчим (6,41%) – у весняні місяці. При цьому середньодобовий надій на лактуючу корову був досить високим впродовж всього року, що свідчить про хороше та рівномірне всесезонне забезпечення стада кормами. Але й на такому фоні за піврічний період (червень– листопад) відбулось зниження добових надоїв порівняно з попереднім періодом майже на 15%, яке корелювало з ростом патології молочної залози у стаді, що відповідно спостерігалось.

Аналіз середньомісячної кількості захворювань корів на мастит за 2019р.

Показники	Місяці року											
	Січень	Лютий	Березень	Квітень	Травень	Червень	Липень	Серпень	Вересень	Жовтень	Листопад	Грудень
Фуражне поголів'я	1398	1405	1402	1405	1389	1392	1387	1388	1363	1307	1319	1364
Випадки маститу вперше	54	66	71	43	45	58	61	43	67	58	42	42
% до поголів'я	3,86	4,7	5,06	3,06	3,23	4,16	4,39	3,09	4,91	4,43	3,18	3,08
Повторні випадки маститу	129	87	26	29	54	139	93	103	88	85	72	219
% до поголів'я	9,23	6,19	2,14	1,99	3,75	9,99	6,57	7,50	6,46	6,51	5,46	16,05
Випадки маститу в'сього	183	153	101	71	97	197	152	147	155	143	114	261
% до поголів'я	13,09	10,89	7,2	5,05	6,98	14,15	10,96	10,59	11,37	10,94	8,64	19,13
Добовий надій на лактуючу корову (л)	32,1	33,3	33,8	33,4	33,0	29,1	29,5	27,7	26,7	27,2	28,2	29,9

2.1.3. Захворювання дихальних шляхів у свиней

Також поширена ензоотична пневмонія у свиней — це контагіозна (інфекційна) хвороба респіраторної системи свиней, яка характеризується хронічним перебігом, лобулярним серозним запаленням легенів, лихоманкою, сухим кашлем, відставанням в рості і розвитку хворих тварин, високою захворюваністю та відносно низькою смертністю. Ця хвороба є причиною економічних втрат у свинарстві завдяки таким факторам як затримка росту, низька конверсія корму і схильність до бактеріальних легеневих інфекцій.

У 1957 році Р. Whittlestone (Англія), а потім R. Goodwin (1965) показали, що збудником ензоотичної пневмонії свиней, яка описувалась раніше як грип, інфлюєнца або вірусна пневмонія, є мікроорганізми родини *Mycoplasmataceae*. Етіологічна роль мікоплазм при ензоотичній пневмонії свиней у подальшому була доведена багатьма вченими [13].

Всередині стада *M.hyoornеumonіае* зазвичай передається чутливішим свиням шляхом прямого контакту з інфікованими свинями або через повітряно-крапельний простір з інфікованими свинями. Поросята можуть інфікуватися вже в утробі матері або при прямому контакті, або аерозольно

(вертикальна передача). Не дивлячись на це, і дорослі свині можуть передавати патоген поросят. Calsamiglia та Pijoan показали, що 35 % свиноматок (групи по 5–7 тварин) позитивні відносно *M.hyorneumoniae* по гніздовому ПЛР проб носового слизу. Біля 10–20 % поросят після відлучення позитивні в цій же реакції при дослідженні носового слизу. Такі дані отримано в стадах, де проявляється хвороба клінічно і там поросята інфікуються в більш молодому віці, ніж в тих стадах, де інфекція перебігає субклінічно.

Ензоотична пневмонія характеризується високою захворюваністю і низькою смертністю. Кашель — це принципова клінічна ознака, він спостерігається від декількох тижнів до декількох місяців, хоча можливо не постійно. Якщо інфекція перебігає в бактеріальній асоціації, в основному з *Pasteurella multocida*, то можуть мати місце й інші симптоми, такі як утруднене дихання і лихоманка і навіть, іноді смерть [13].

Проведені клініко-епізоотологічні обстеження в Україні в десяти господарствах. Дані цих досліджень представлені в таблиці 2.

Таблиця 2.

**Результати клініко-епізоотологічних обстежень свинопоголів'я
на наявність респіраторних хвороб**

Область	Господарства	Поголів'я свиней, тис. гол.	Результати патологоанатомічних розтинів легень
Київська	ВАТ «Агрокомбінат «Калита»	70,0 (кашель, виснаження з 65-добого віку)	Катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток легенів
Київська	ТОВ «Трубіж»	23,0 (Кашель з 45–50-денного віку — 4–5 %, в 70-добому — 20–30)	Катаральна пневмонія в одиничних випадках серед поросят-сисунів. Серед поросят після відлучення — від катаральної пневмонії до крупозної і гемофільозного полісерозиту
Житомирська	ВАТ «Колодянський бекон»	3,0 (кашель з 60 днів)	Інтерстиціальна пневмонія. Інтерлобулярні перегородки розтягнуті трансудатом

Хмельницька	Агрофірма «Маяк»	6,0 (Кашель серед поросят-сисунів 4 %, на дорощуванні — 30 %, відгодівлі — 20 %)	Катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток легенів
Черкаська	«Черкаська м'ясна компанія»	13,0 (На дорощуванні 3 %, на відгодівлі 15–20 % поросят, що кашляють)	Катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток у поросят з 60 до 200 днів. Гемофільозний полісерозит в 120–180 днів
Дніпропетровська	ДП «Агро-Аврора»	25,0 (кашель проявляється після 50-добого віку. На 70–80 діб до 15 %)	Переважно катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток. Поодинокі випадки гемофільозного полісерозиту
Херсонська	ВАТ «Новогригорівське»	3,0 (Кашель в 70–80-добому віці до 5 %)	Катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток
Харківська	ВСАТ «Агро комбінат «Слобожанський»	70,0 (кашель з 50-добого віку)	Катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток, іноді, гемофільозний полісерозит.

Дані обстежень свідчать про значне розповсюдження легеневиx хвороб свиней. Практично у всіх обстежених господарствах серед поросят починаючи з 56–60-добого віку реєструються катаральна пневмонія верхівкових і серцевих часток легень, що характерно для мікоплазмозу.

2.2. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання

Цільовим ЛЗ в даній роботі є препарат для ветеринарної медицини «Тилозин-50», що містить 50 мг тилозину, виробництва компанії «Bazalt» (Україна) [14].

Фармакологічні властивості: Тилозин – макролідний антибіотик, протимікробна дія якого базується на пригніченні бактеріального синтезу протеїнів внаслідок зв'язування активної речовини з рибосомами. Препарат

активний проти грам позитивних і грам негативних бактерій, а також мікоплазм.

Застосування: ВРХ, кози і вівці: лікування пневмонії, маститу, пневмоентериту, отитів, артритів, вторинних інфекцій при вірусних захворюваннях. Свині: лікування ензоотичної пневмонії, артрити, дизентерії, вторинних інфекцій при вірусних захворюваннях, атрофічного риніту. Собаки та коти: лікування захворювань шлунково – кишкового тракту та органів дихання.

Дозування: два рази на день у дозі (табл.3)

Таблиця 3.

Вид тварин	Тилозин – 50, мл/кг	Тилозин – 200, мл/кг
ВРХ	8-20 мл/100 кг	2-5 мл/100 кг
Вівці, кози	10 мл/50 кг	2-5 мл/50 кг
Телята	10 мл/50 кг	2-5 мл/50 кг
Коні	10 мл/50 кг	2-5 мл/100 кг
Поросята	2 мл/10 кг	2-5 мл/50 кг
Собаки, коти	2 мл/10 кг	-

Курс лікування 3-5 днів.

Застереження: Забій тварин на м'ясо дозволяється: через 8 днів (ВРХ) та 4 дні (свині, кози, вівці) після останнього введення препарату. Споживання молока дозволяється через три дні після останнього введення препарату. До зазначеного терміну м'ясо та молоко згодують непродуктивним тваринам або утилізують (залежно від висновку ветлікаря).

Протипоказання: підвищена чутливість до препарату.

Форма випуску: у герметично закритих флаконах по 50 см³.

Зберігання: сухе темне місце при температурі від +5 до +25°C.

Термін придатності: препарату 3 роки [14].

Тилозин тартрат є макролідним антибіотиком, який зустрічається в природі як продукт ферментації *Streptomyces fradiae*. Тилозин тартрат проявляє потужну протимікробну дію проти грампозитивних бактерій.

Fusobacterium necrophorum або *Bacteroides melaninogenicus*. У свиней використовується для лікування артрити свиней, спричиненого *Mycoplasma hyosynoviae*, пневмонії свиней, спричиненої *Pasteurella spp.*, бешихи свиней, спричиненої *Erysipelothrix rhusiopathiae*, дизентерії свиней, асоційованої з *Serpulina (Treponeocellahyosis, L.Trepocellahye, L. pro.* Для лікування свиней його також додають у корм (Тип А – лікувальний корм) або питну воду. У дрібних тварин його використовують при грампозитивних інфекціях м'яких тканин і шкіри. Однак найчастіше у собак використовують для лікування діареї, яка називається діареєю, що реагує на антибіотики, яка не реагує на інші види лікування. Етіологія діареї невідома, але може бути викликана *Clostridium* або *Camphylobacter*. Для цього найчастіше використовують порошкоподібну форму (формулювання для свиней), щодня додається в їжу для підтримки [16].

2.3. Обсяг ринку та очікувані темпи його розвитку

Порядок виробництва, реалізації та раціонального використання протимікробних ветеринарних лікарських засобів (ПВЛЗ) у ветеринарній медицині має відповідати національній нормативно-правовій базі, а саме Закону України «Про ветеринарну медицину» (із змінами) [17]. Зокрема ПВЛЗ обов'язково потрібно використовувати, як зазначено у зареєстрованій Держпродспоживслужбою України інформації про ветеринарний лікарський засіб (коротка характеристика препарату (КХП), листівка-вкладка та етикетка), яка визначає принципи, правила, умови застосування, нагляд за їх використанням при лікуванні інфекційних захворювань тварин.

В Україні використовуються ПВЛЗ, які зареєстровані та внесені до Державного реєстру ветеринарних препаратів, згідно з чинним законодавством [18]. На державному рівні до 2020 р. в Україні не було законодавчо визначеного порядку моніторингу обігу та використання ПВЛЗ, який впроваджений у багатьох державах-членах ЄС, США, Японії, Австралії, Новій Зеландії та ін. Необхідність моніторингу пов'язана із зростанням загрози набутої стійкості мікроорганізмів до протимікробних

засобів та багатовекторною спільною діяльністю світових і європейських організацій, зокрема ВООЗ, Всесвітньої організації охорони здоров'я тварин (OIE), Європейського агентства лікарських засобів (EMA), Європейського центру попередження розвитку захворювань та контролю (ECDC) у подоланні цієї проблеми.

У роботі групи дослідників на чолі з Косенко Ю. М. [19]. Проведено збір та обробку даних обсягів продажів ПВЛЗ на території України впродовж 2015-2018 рр. Дані, отримані у 2015 р. включали 23 % від опитаних респондентів; дані за 2016 р. – 55,5 %; за 2017 р. – 80 % та за 2018 р. – 81 %. Слід зауважити, що в Україні на період дослідження не було законодавства, яке зобов'язувало б ВРП чи дистриб'юторів подавати щорічні звіти про обсяги продажів ветеринарних лікарських засобів, а їх участь в опитуванні була добровільною, проте кількість учасників письмового опитування збільшувалась з наступними роками.

З огляду на отримання більш повних звітів, була можливість провести порівняльну оцінку рівня і структури споживання ПВЛЗ на території України впродовж періоду дослідження. Речовини, які входили до складу ПВЛЗ погруповані нами за класами протимікробних речовин та визначена масова сумарна кількість за окремими класами, а також частка у відсотках від загального обсягу продажів ПВЛЗ протягом 2015-2018 рр.

Розподіл ПВЛЗ за класами протимікробних речовин в одиницях маси та відсотках наведений у таблиці 4.

Загальна кількість проданих ПВЛЗ впродовж 2015-2018 рр. за класами протимікробних речовин

Класи протимікробних речовин	2015 р.		2016 р.		2017 р.		2018 р.	
	кг	%	Кг	%	Кг	%	кг	%
Аміноглікозиди	2435,7	3,70	4351,1	3,37	4184,0	3,17	4865,0	4,13
Амфеніколи	650,4	0,99	2438,2	1,89	2610,0	1,98	1834,0	1,55
Цефалоспорини	160,7	0,24	321,4	0,25	627,0	0,48	698,0	0,59
Фторхінолони	1647,6	2,50	5889,9	4,56	9429,0	7,14	6095,0	5,17
Лінкозаміди	0	0	1060,7	0,82	1137,0	0,86	1070,0	0,9
Макроліди	4343,1	6,59	9055,1	7,02	13455,0	10,2	10921,0	9,26
Нітрофурани	221,5	0,34	288,6	0,22	0	0	22,0	0,002
Ортосоміцини	6085,0	9,24	1912,5	1,48	315,0	0,24	4200,0	3,56
Інші квінолони	0	0	755,5	0,59	47,0	0,003	2102,0	1,78
Пеніциліни	8411,1	12,77	13056,4	9,34	13626,0	10,32	16854,0	14,3
Плевромутиліни	2239,9	3,40	9401,6	7,28	17498,0	13,26	1968,0	1,67
Поліпептиди	5738,5	8,71	8672,4	6,72	8459,0	6,40	8548,0	7,25
Стрептограміни	0	0	5335,0	4,13	2442,0	1,85	1320,0	1,12
Сульфаніламід+триметоприм	9856,6	14,96	15650,1	12,13	19289,0	14,61	22040,0	18,7
Тетрацикліни	23780,7	36,10	50878,4	39,42	38868,0	29,95	34738,0	29,48
Інші	316,9	0,48			0	0	615,0	0,53
ВСЬОГО	65887,4	100,0	129066,8	100,0	131987,0	100,0	117890,0	100,0

Обсяги продажів ПВЛЗ за масою мають тенденцію до зростання, проте її можна пояснити неповним представленням даних (23 % звітів у 2015 р. та у 2016 р. – 55,5 %) від опитаних ВРП та дистриб'юторів. Дані за 2017 та 2018 рр. є більш повними і порівнюваними, бо кількість отриманих звітів від респондентів приблизно однакова і складає 80 % та 81 %, відповідно. Як видно за результатами, наведеними у таблиці 1, що у 2018 році загальна маса проданих ПВЛЗ зменшується і складає 117890 кг, проти 131987 кг у 2017 р. Це можна пояснити низкою затверджених нормативних документів, які впроваджуються на державному рівні в контексті вимог глобальної проблеми – подолання набутої стійкості мікроорганізмів до протимікробних лікарських засобів шляхом їх обґрунтованого використання [18, 20]. На даний час на обговоренні є також новий нормативний документ, який регламентуватиме Порядок використання протимікробних засобів у ветеринарній медицині (проект наказу Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України «Про затвердження Порядку використання протимікробних препаратів у ветеринарній медицині»).

Серед всіх класів антибіотиків, які найбільш часто продавались за період дослідження можна виділити тетрацикліни, сульфаніламід та їх комбінації з триметопримом і пеніциліни, масові частки яких впродовж чотирьох років займали найбільший сегмент від загальної кількості протимікробних засобів (рис. 3). При аналізі даних по цих групах речовин, встановлено, що за досліджуваний період продажі ПВЛЗ, які містять тетрацикліни, зменшувались. Частка сульфаніламідів у комбінації з триметопримом зростала, хоч невелике падіння виявлено у 2016 р., а також у 2018 р. зростала й частка пеніцилінів, незважаючи на зменшення їх в обсягах продажів у 2016 та 2017 рр., порівняно до 2015 р.

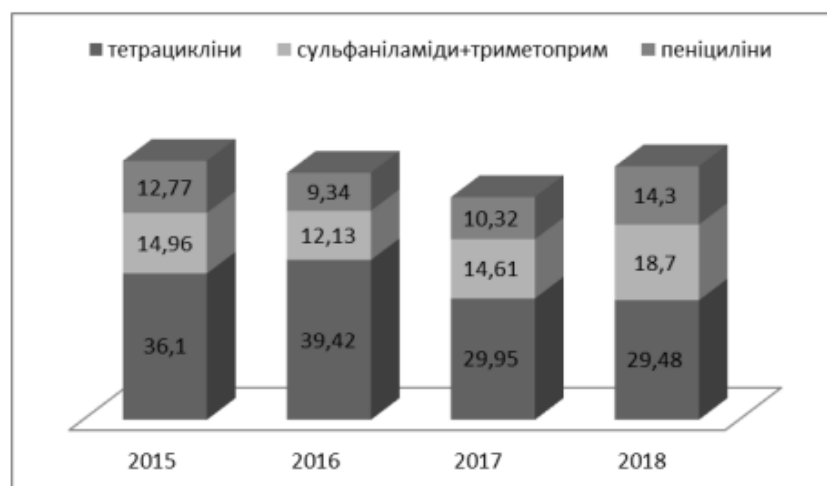


Рис.3. Класи антибіотиків, які найбільш часто зустрічаються у звітах про обсяги продажів ПВЛЗ у %.

У звітах про обсяги продажів ПВЛЗ в країнах ЄС та світу [9] звертається увага на використання критично важливих та важливих протимікробних лікарських засобів для гуманної та ветеринарної медицини. За класифікацією ВООЗ та ОІЕ до таких належать: фторхінолони, цефалоспорини 3-го та 4-го покоління, макроліди, аміноглікозиди, поліміксини.

Розподіл критично важливих і важливих груп антибіотиків у «%» в обсягах продажів за досліджуваний період 2015-2018 рр. наведений на рисунку 4.

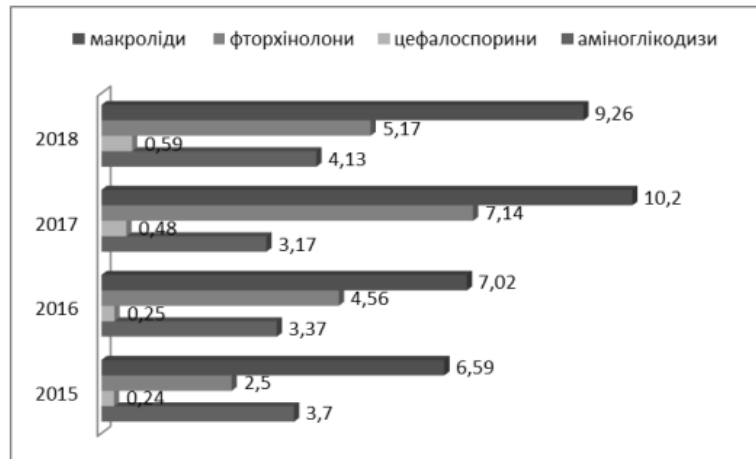


Рис. 4. Частка критично важливих та важливих засобів у сумарній кількості продажів ПВЛЗ за період 2015-2018 рр.

Найбільшу частку в обсягах продажів займають макроліди (6,59; 7,02; 10,2; 9,26 %) у 2015-2018 рр., відповідно, належать до категорії С (Обережно, застереження). Проте, частка макролідів ледь перевищувала 10 % і була приблизно однаковою у 2017-2018 рр. Речовини з цієї групи застосовуються у цих випадках, коли немає альтернативних протимікробних засобів з категорії D (Обґрунтоване використання).

З огляду на застереження міжнародних компетентних органів щодо використання важливих і критично важливих ПВЛЗ, слід звернути увагу на обґрунтування потреби застосування макролідів у практиці ветеринарної медицини, частка яких в обсягах продажів серед критично важливих ветеринарних лікарських засобів була найбільшою (від 6,59 % у 2015 р. до 9,26 % у 2018 р.), а у 2017 р. їх відсоток дещо перевищив 10 % (10,2). Проте ці дані не можуть свідчити про раціональність чи необґрунтованість використання [19].

Отже, за результатами моніторингу обсягів продажів протимікробних ветеринарних лікарських засобів проведено їх аналіз та оцінку за способами введення та класами протимікробних речовин, яка показала, що найбільш поширеним був пероральний (від 81,3% до 90,8%) спосіб введення, а серед протимікробних речовин найбільш часто продавались ветеринарні лікарські засоби, які містили тетрацикліни, сульфаніламід+триметоприм і пеніциліни.

Серед дуже важливих протимікробних ветеринарних лікарських засобів у продажах найбільшу частку займали макроліди (9,26-10,2) %. Частка амікоглікозидів коливалась в межах 3,37% - 4,13 % за період дослідження; фторхінолонів – 2,5 - 7,14 %. Цефалоспорини усіх поколінь займали до 1 % від загального обсягу продажів.

2.4. Перелік виробників кінцевого продукту і виробників (постачальників) субстанції.

Таблиця 5.

Перелік виробників (постачальників) субстанції [21-25]

Назва компанії	Місцезнаходження	Торгова назва
1	2	3
«НарuPharm»	Австрія	Tylosine tartrate
«Biovet JSC»	Болгарія	Тилозину тартрат (гранулят)
ООО «Бривер»	Україна	Тилозину тартрат
«Фармхаб»	Україна	Тилозину тартрат
«ХіМЕлемент»	Україна	Тилозин тартрат

Перелік виробників кінцевого продукту, що містить тилозин [14, 26-35]

Назва компанії	Місцезнаходження	Торгова назва
1	2	3
«Basalb»	Україна	«Тилозин-50»
«Ветсинтез»	Україна	«Тилоциклинвет»
«Продукт»	Україна	«Тилозин-50
«Бровафарма»	Україна	«Тилозин» 20% 100 мл
«Біофарм»	Україна	«Докситил»
		«Тилотрин»
		«Фосфомакс»
«Interchemie»	Голандія	«Макролан ВП»
«Huverpharma»	Болгарія	«Фармазин 50»
«Фарматон»	Україна	«Тилозомікол»
«Реагент»	Україна	«Реатил-50»

Проаналізувавши дані щодо ринку України можна сказати про те, що потреби ринку антимікробних ветеринарних препаратів задоволені практично на 90%, тому що існує потреба у макролідних антибіотиках, яким і являється препарат «Тилозин-50». Як видно з таблиці 6 близько 20% ринку України протимікробних ветеринарних препаратів займають препарати закордонних виробників. Такий й же відсоток ринку субстанції тилозину в Україні займають закордонні виробники.

2.2 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу (ЛЗ)

2.2.1. Обґрунтування форми випуску ЛЗ

На даний час на ринку України препарати, що містять тилозин, представлені лише у формі розчину для ін'єкцій у флаконах або ампулах.

Однак ветеринарні препарати, що відносяться до антибіотиків, також часто випускаються у формі таблеток та капсул. Переваги та недоліки наведених лікарських форм [2] представлені у таблиці 7.

Переваги та недоліки лікарських форм

Лікарська форма	Переваги	Недоліки
Тверді желатинові капсули	<ul style="list-style-type: none"> ✓ висока біодоступність; ✓ точність дозування; ✓ гарний зовнішній вигляд; ✓ легко проковтуються, швидко набухають; ✓ желатинові капсули легко розчинні, вони проникні для травних соків ✓ лікувальна дія лікарської речовини проявляється швидко (у середньому через 4–5 хв). ✓ оболонка з желатину захищає лікарську форму від впливу повітря, світла, вологи, пилу, захищає від механічних зовнішніх впливів, коливань температури. ✓ уміщення в оболонку зручне для відпускання речовин, що мають неприємний смак, запах та колір, тому капсули дуже перспективні для застосування в педіатрії і геронтології; ✓ виготовлення капсул майже цілком механізоване й автоматизоване. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ у желатинових капсулах можуть відпускатися тільки ті речовини, що не вступають у взаємодію із гліцерином і желатином та не розчиняють їх; ○ желатинова маса є прекрасним середовищем для розвитку мікроорганізмів; ○ висока чутливість до вологи – гігроскопічність.

Лікарська форма	Переваги	Недоліки
Ін'єкційні лікарські форми	<ul style="list-style-type: none"> ✓ швидка дія і повна біологічна доступність лікарської речовини; ✓ точність і зручність дозування; ✓ можливість введення лікарської речовини коли ліки не можна вводити через рот; ✓ відсутність впливу секретів ШКТ і ферментів печінки, що має місце при внутрішньому вживанні ліків; ✓ можливість створення великих запасів стерильних препаратів, що полегшує і прискорює їх відпускання. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ при введенні рідин через ушкоджений покрив шкіри в кров легко можуть потрапити патогенні мікроорганізми; ○ разом з препаратом для ін'єкцій в організм може бути введене повітря, що викликає емболію судин або розлад серцевої діяльності; ○ навіть незначні кількості сторонніх домішок можуть викликати шкідливий вплив на організм.
Таблетки	<ul style="list-style-type: none"> ✓ зручність застосування; ✓ точність дозування; ✓ можливість сполучати несумісні за фізикохімічними властивостями і терапевтичній дії лікарські речовини; ✓ можливість маскування неприємного запаху, смаку, кольору й здатності до забарвлення ✓ можливість повної механізації й автоматизації виробництва; гігієнічність і масовість виробництва; ✓ висока компактність; ✓ стійкість до впливу несприятливих механічних і кліматичних факторів; ✓ зручність транспортування, зберігання й відпускання, тривалий строк придатності. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Дія лікарських речовин може розвиватися відносно повільно. ○ При тривалому зберіганні деякі таблетки можуть цементуватися, що призводить до зміни часу розпадання. ○ До складу таблеток часто вводяться баластні речовини, що не мають терапевтичної цінності, які іноді викликають деякі побічні явища (наприклад, тальк подразнює слизові оболонки). ○ Не всі тварини можуть вільно проковтувати таблетки

Таким чином, проаналізувавши наведені переваги та недоліки, можна зробити висновок, що таблетки, у порівнянні з капсулами, мають повільнішу терапевтичну дію, можуть псуватися при зберіганні, містять більше баластних речовин та менш зручні для ковтання. Серед недоліків ін'єкційних лікарських форм можна виділити те, що незначні кількості домішок можуть бути шкідливими для здоров'я тварин.

Отже, найкращою лікарською формою для виробництва тилозину є розчин для ін'єкцій, так як дана лікарська форма характеризується швидкою дією і повною біологічною доступністю лікарської речовини у порівнянні з таблетками та капсулами, а також відсутністю впливу секретів ШКТ і ферментів печінки, які можуть вплинути на активність препарату.

2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ

Тара, як і пакування загалом, у фармації відіграє важливу роль. Вона сприяє збереженню споживчих властивостей фармацевтичної та парафармацевтичної продукції протягом усього гарантійного терміну зберігання та експлуатації; зручному застосуванню лікарського препарату (ЛП) споживачем, а також створенню раціональних одиниць вантажу при транспортуванні, навантаженні, розвантаженні, складуванні та продажу.

Тара має велике значення при зберіганні лікарського препарату, оскільки їх стабільність у великій мірі залежить від хімічного складу матеріалу, з якого виготовлена тара, і його сумісності з лікарським препаратом. Ці речовини знаходяться в безперервному контакті з лікарською формою аж до приймання лікарського засобу хворими та можуть взаємодіяти між одна з одною.

Таким чином, від правильно підібраної тари залежить безпека та здоров'я людини, або тварини у випадку ветеринарних препаратів [3].

Вимоги до фармацевтичного пакування:

- ✓ має бути здатним забезпечити неушкодженість фармацевтичної продукції;
- ✓ повинно бути зручним у процесі використання;
- ✓ має містити достатню кількість інформації про ЛП (назву, тип ліків, склад, номер партії, кількість, дозування, спосіб вживання, протипоказання, умови зберігання, дату випуску і т. д.);
- ✓ має бути світлонепроникним;
- ✓ повинно мати бар'єрну стійкість до мікроорганізмів;

- ✓ не повинно давати можливості непомітного розкриття пакування до його використання споживачем;
- ✓ має забезпечувати максимальний час зберігання лікарського препарату [3].

У фармацевтичній галузі розрізняють первинне та вторинне пакування. Первинне пакування призначене для створення необхідних умов, які забезпечують тривале зберігання розміщених у ньому лікарських форм (флакон, ампула, туба). Вторинне пакування призначене для захисту цілості первинного пакування, а також для розміщення більш докладного комплексу інформативних відомостей (маркування) (картонні пачки та коробки) [4].

Фасування рідких стерильних та асептично виготовлених ліків здійснюється в скляні ампули, флакони або герметичні полімерні контейнери різної ємкості. Ампули та флакони виготовляють зі скла НС-1 та НС-3. Скло типу НС-2 використовують для виготовлення флаконів ємністю 100, 250 та 450 мл. Зважаючи на те що скло є ламким та має велику тоннажність, а склянки потребують закупорки гумовими пробками, до складу яких входить значна кількість силікатів, кальцію карбонат, теурам, сірка, що негативно впливають на якість розчинів, ведеться пошук більш прогресивних матеріалів, напр., полімерних, які не є крихкими (ламкими), хімічно інертні та нейтральні до агресивних середовищ (лугів, кислот, окиснювачів, відновлювачів). Крім того, полімерні матеріали дають можливість виготовляти упаковку складних конфігурацій, а їх еластичність дозволяє створювати принципово нові конструкції пакувальних засобів різної місткості (від 50 до 1000 мл). Використання полімерних упаковок дозволяє отримувати стерильні ЛП у безперервному автоматизованому комплексі (за асептичних умов, протягом одного технологічного циклу), а саме: формування первинної упаковки із термопластичного гранулята, дозування розчину, герметизація упаковки, нанесення необхідного маркування. Досягається також належний захист як самої упаковки, так і розчину від

мікробного забруднення, збереження стерильності та апірогенності в процесі виготовлення та зберігання. Найбільш перспективними для використання тарозакупорювальних засобів стерильних розчинів є: поліетилен низького, середнього та високого тиску, поліпропілен, полістирол, фторопласт, полікарбонат та їх комбінації, а також поліетилен та полівінілхлорид. Полімерна упаковка може мати форму туби, флакона, пакета, шприц-туби [5].

Отже, у ролі первинної упаковки для розчину для ін'єкцій «Тилозин-50» обрано полімерну упаковку у формі флакона місткістю 50 мл. Даний вид упаковки має ряд переваг над флаконами зі скла (з якого найчастіше виготовлені флакони), а саме:

- полімерні флакони не є крихкими (ламкими), хімічно інертні та нейтральні до агресивних середовищ (лугів, кислот, окиснювачів, відновлювачів);
- використання полімерних упаковок дозволяє отримувати стерильні ЛП у безперервному автоматизованому комплексі (за асептичних умов, протягом одного технологічного циклу);
- досягається також належний захист як самої упаковки, так і розчину від мікробного забруднення, збереження стерильності та апірогенності в процесі виготовлення та зберігання.

В свою чергу вторинна упаковка повинна бути [6]:

1. Надійною, щоб захистити препарат від пошкоджень.
2. Помітною і яскравою. Упаковка має кидатися в очі і виділятися серед численних конкурентів.
3. Інформативною.
4. Безпечною.

Наведеним вище вимогам повністю відповідає картонна пачка, яка надає достатній захист первинного пакування від дії зовнішніх чинників, а також є можливість нанести на неї всю необхідну інформацію та надати їй яскравого та помітного вигляду.

2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи

Антибіотикотерапія є основою етіотропного лікування бронхопневмонії великої рогатої худоби, кіз, вівець та свиней. При виборі антибактеріального засобу важливим є спектр антимікробної дії антибіотика та рівень чутливості до нього збудника чи збудників захворювання [38]. Проте, вибір ефективного хіміотерапевтичного засобу часто ускладнений розвитком резистентності збудників інфекції до дії антибіотиків, при чому мікроорганізми можуть володіти опірністю до кількох антимікробних речовин, ко-резистентністю [39].

До числа хіміотерапевтичних речовин, для яких характерна направлена антимікробна дія при лікуванні інфекцій дихальних шляхів, відноситься антибіотик макролідного ряду тилозин.

Особливістю його кінетики є здатність накопичуватися у тканинах (зокрема, паренхімі легень, слизовій бронхів тощо), трахеобронхіальному секреті. При цьому створюються високі концентрації цих препаратів в альвеолярних макрофагах і нейтрофілах. Високим є ступінь проникнення тилозину в клітини тканин організму тварин, при цьому створюючи в них терапевтично високі концентрації. Через цю основну фармакокінетичну властивість макроліди ефективні при лікуванні інфекцій із внутрішньоклітинною локалізацією збудника [40].

Узагальнюючу характеристику технологічних особливостей одержання обраного препарату «Тилозин-50», що містить 50 мг тилозину, за використання різних продуцентів наведено у таблиці 8.

Особливості одержання антимікробного препарату для ветеринарної медицини

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Концентрація тилозину, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
<i>Streptomyces fradiae</i> TM-224-4	Кукурудзяне борошно – 80 г/л; Соевий шрот – 12 г/л; Рибне борошно – 14 г/л; NaNO ₃ - 0.5; MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0.5.	120 год	7,2	pH = 7.0-7.5, t = 32°C, аеробні умови, n = 120 об/хв	<i>Choi D., Choi O.Y., Shin H.J., Chung D.O., Shin D.Y.</i> Tylosin production by <i>Streptomyces fradiae</i> using raw cornmeal in airlift bioreactor // <i>J Microbiol Biotechnol</i> – 2007. – Vol. 7. - P. 1071-8.
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702 γ-1	Лактоза – 10; Глутамат натрію – 10; Дріжджовий екстракт – 3; K ₂ HPO ₄ - 0.5; MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0.5; FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0.01; NaCl - 0.5.	216 год	0,45	pH = 9.2, t = 30°C, система твердофазної ферментації	<i>Khaliq S., Rashid N., Akhtar K., Ghauri M.A.</i> Production of tylosin in solid-state fermentation by <i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702 and its gamma-irradiated mutant (gamma-1) // <i>Lett Appl Microbiol.</i> – 2009. - Vol. 49, N5. – P.635-40.
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702	Триптон - 40; K ₂ HPO ₄ - 0,5; CaCO ₃ - 3; KCl - 1; KOH - 1; Ляна олія – 60 мл; Р-ин мікроелем. – 10 мл;	168 год	3,8	pH = 6.8-7.0, t = 30 °C, аеробні умови, n = 250 об/хв	<i>Akhtar K., Afzal Ghauri M., Iqbal R. et al.</i> Change in colony morphology and kinetics of tylosin production after UV and gamma irradiation mutagenesis of <i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702 // <i>Microbiol Res.</i> – 2009. – Vol. 164, N 4. – P.469-77.

Проаналізувавши дані можна сказати, що найвищий показник синтезу тилозину – 7,2 г/л досягається при культивуванні *Streptomyces fradiae* TM-224-4. Найнижча концентрація тилозину спостерігається у *Streptomyces fradiae* NRRL-2702 γ -1 (0,45 г/л). Така кількість тилозину досягається при культивуванні наведених штамів впродовж 120 год та 216 год відповідно.

Проте така порівняльна характеристика технологічного процесу (див. табл. 8) є недостатньою. Тому на наступному етапі вибору біологічного агента порівнювали вартість поживних середовищ для культивування всіх трьох продуцентів (табл. 9).

Таблиця 9

Вартість компонентів поживного середовища для культивування порівнюваних біологічних агентів

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг*	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>Streptomyces fradiae</i> TM-224-4	Кукурудзяне борошно – 80 г/л;	28	2,24	1
	Соєвий шрот – 12 г/л;	18	0,24	2
	Рибне борошно – 14 г/л;	24	0,34	3
	NaNO ₃ - 0.5;	96	0,05	4
	MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0.5.	93	0,046	5
Вартість 1 л середовища – 2,92 грн.				
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702 γ -1	Лактоза – 10;	60	0,6	6
	Глутамат натрію – 10;	180	1,8	7
	Дріжджовий екстракт – 3;	2620	7,86	8
	K ₂ HPO ₄ - 0.5;	119	0,06	9
	MgSO ₄ ·7H ₂ O - 0.5;	93	0,046	5
	FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0.01;	40	0,0004	10
	NaCl - 0.5.	16	0,008	11
Вартість 1 л середовища – 10,37 грн.				
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702	Триптон - 40;	2900	116	12
	K ₂ HPO ₄ - 0,5;	119	0.06	9
	CaCO ₃ - 3;	37	0,11	2
	KCl - 1;	40	0,04	14
	KOH - 1;	79	0,079	15
	Ляна олія – 60 мл;	100	6	16
	Розчин мікроелементів – 10 мл;		0,32	-
Вартість 1 л середовища – 122,29 грн.				

Примітка: * – ціни наведено з урахуванням ПДВ станом на травень 2022 р.:

- 1 - <https://prom.ua/ua/p1009696180-kukuruznaya-muka-konditerskaya.html>
- 2 - <https://prom.ua/ua/p1558430776-soevyj-shrot-zhmyh.html?&primelead=MC40Nw>
- 3 - <https://agrobiz.net/ua/rybnaya-muka-prot-40.html>
- 4 - <https://prom.ua/ua/p963195758-natrij-azotnokislyj-natrievaya.html>
- 5 - <https://ukrchemgroup.com/p783600334-sulfat-magniyamagnij-sernokislyj.html>
- 6 - <https://prom.ua/ua/p991946321-laktoza-kristallicheskaya.html>
- 7 - <https://prom.ua/ua/p1489309605-glutamat-natriya-usilitel.html>
- 8 - http://agar.com.ua/Yeast_Extract_250
- 9 - <https://prom.ua/p1035699008-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html>
- 10 - <https://klebrig.com.ua/p1207572772-zheleznyj-kuporos-1kg.html>
- 11 - <https://prom.ua/ua/p1076998061-sil-tehnicna-navalom.html>
- 12 - http://agar.com.ua/Casein_hydrolyzate_250
- 13 - <https://prom.ua/ua/p1082785908-kaltsiya-karbonat-pischevoj.html>
- 14 - <https://prom.ua/ua/p907647978-kalij-hloristyj-melkozernistyj.html>
- 15 - <https://prom.ua/p1109257125-kaliyu-gidroksid-koreya.html>
- 16 - <https://prom.ua/ua/p714446382-maslo-lyanoe-dlya.html>

Дані наведені у табл. 9, засвідчують, що середовище для культивування *Streptomyces fradiae* NRRL-2702 є найдорожчим за вартістю (122,29 за 1 л) у порівнянні з середовищами для культивування *Streptomyces fradiae* ТМ-224-4 (2,92 грн за 1 л) та *Streptomyces fradiae* NRRL-2702 γ -1 (10,37 грн за 1 л). Для того, щоб остаточно обрати найефективніший біологічний агент розраховували умовну вартість 1 г цільового продукту (табл. 10).

**Умовна вартість 1 г цільового продукту при культивуванні
порівнюваних продуцентів**

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація тилозину, г/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного тилозину за годину, г за год
<i>Streptomyces fradiae</i> TM-224-4	2,92	7,2	0,40	120 год	0,06
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702 γ-1	10,37	0,45	23,04	216 год	0,0021
<i>Streptomyces fradiae</i> NRRL-2702	122,29	3,8	32,18	168 год	0,023

Отже, умовна вартість 1 г цільового продукту при культивуванні *Streptomyces fradiae* TM-224-4 є найнижчою (0,4 грн/г) у порівнянні з умовною вартістю цільового продукту, одержаного культивуванням *Streptomyces fradiae* NRRL-2702 γ-1 (23,04 грн/г) та *Streptomyces fradiae* NRRL-2702 (32,18 грн/г).

Зважаючи на найнижчу вартість 1 г цільового продукту (0,4 грн/г) та високу продуктивність (0,06 г тилозину за год при тривалості культивування 120 год), штам є *Streptomyces fradiae* TM-224-4 найкращим продуцентом з проаналізованих вище штамів.

2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

2.4.1. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ

При розрахунку потреби у субстанції тилозину, який необхідний для виробництва ветеринарного препарату «Тилозин-50», враховуються наступні захворювання:

- ✓ пневмонія у ВРХ та свиней;
- ✓ мастит у корів;

Далі в таблиці 10 наведені дані для розрахунку потреби у субстанції.

Таблиця 10

Вихідні дані для розрахунку річної потреби у субстанції тилозину

Захворювання	Дозування препарату «Тилозин-50» [13]	Курс лікування [13]	Кількість хворих тварин на території України [35, 12, 36]	Необхідна кількість препарату «Тилозин-50», л	Необхідна кількість субстанції тилозину для виробництва препарату*, кг
Пневмонія у ВРХ	20 мл (два рази на добу)	3-5 діб	1307,2 тис. голів	261438	13071,9
Пневмонія у свиней	2 мл (два рази на добу)	3-5 діб	198,2 тис. голів	3964	198,2
Мастит у корів	10 мл (два рази на добу)	3-5 діб	93,5 тис. голів	9350	467,5
Всього тилозину необхідно 13737,6 кг					

* - в 100 мл розчину «Тилозин-50» міститься 5 г тилозину [13].

Виходячи з даних наведених у таблиці 1.6 річна потреба ринку, враховуючи захворюваність тварин на території України, у субстанції тилозину для виробництва препарату «Тилозин-50» становить 13737,6 кг.

2.4.2. Розрахунок річної потужності виробництва субстанції, об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

Виходячи з ситуації на ринку протимікробних ветеринарних препаратів в Україні де необхідно покрити ще 20% ринку саме препаратів з макролідними антибіотиками, приймаємо, що на початковому етапі виходу на ринок проєктоване виробництво буде покривати 15% даної потреби. Тоді річна потужність виробництва субстанції буде становити $13737,6 \text{ кг} \cdot 0,15 = 2060,64 \text{ кг тилозину}$.

Отже, річна потреба в субстанції тилозину для виробництва ветеринарного препарату «Тилозин-50» в Україні має становити $2060640 \text{ г} / 7,2 \text{ г/л} = 286200 \text{ л}$ або $286,2 \text{ м}^3$, де $7,2 \text{ г/л}$ – концентрація тилозину в культуральній рідині. З урахуванням 40% втрат під час виробництва річна потужність має становити $G_p = 286,2 + 286,2 \cdot 0,4 = 400,66 \text{ м}^3$.

Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби цільового продукту.

1.1. Приймаємо кількість робочих днів на рік – 120. Ефективний фонд робочого часу $N_{ef} = 120 \cdot 24 = 2880 \text{ год}$.

1.2. Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$$T_{цф} = T_{ф} + T_{др} = 120 + 10 = 130 \text{ (год)}, \text{ де}$$

$T_{ф}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу);

$T_{др}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (2 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

1.3. Кількість циклів за рік становитиме:

$$n_{ц} = N_{ef} / T_{цф} = 2880 / 130 = 23$$

1.4. Об'єм культуральної рідини, який треба одержати за цикл:

$$V_{кр}^{п} = V_{кр}^{пч} / n_{ц} = 400,66 / 23 = 17,42 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер об'ємом 25 м^3 з коефіцієнтом заповнення $K_z = 0,7$. Об'єм культуральної рідини становить $V_{к.р} = 17,5 \text{ м}^3$, що більше за розрахований, тобто обраний вірно.

Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу. Для вирощування продуцентів тилозину використовують ферментери загальним об'ємом 25 м^3 . Коефіцієнт заповнення $K_{зап.} = 0,7$. Отже, робочий об'єм ферментера:

$$V_{роб.} = V_{заг.} \times K_{зап.} = 25 \times 0,7 = 17,5 \text{ м}^3$$

Визначаємо кількість стадій підготовки посівного матеріалу, для приготування $17,42 \text{ м}^3$ культуральної рідини. Кількість посівного матеріалу становить близько 10 % від загального об'єму поживного середовища.

1) Для приготування $17,42 \text{ м}^3$ культуральної рідини, потрібно: $17,42 \times 0,1 = 1,742 \text{ м}^3$ або 1742 л посівного матеріалу. Таку кількість посівного матеріалу можна приготувати у ферментері об'ємом $2,5 \text{ м}^3$.

2) Щоб приготувати $1,742 \text{ м}^3$ культуральної рідини, потрібно: $1742 \times 0,1 = 174$ л посівного матеріалу. Таку кількість посівного можна приготувати у ферментері об'ємом 250 л.

3) 174 л культуральної рідини можна приготувати, засіявши поживне середовище $174 \times 0,1 = 17,4$ л посівного матеріалу (приготування здійснюють у ферментері об'ємом 30 л).

4) Щоб приготувати 17,4 л культуральної рідини, потрібно: $17,4 \times 0,1 = 1,74$ л посівного матеріалу. Таку кількість посівного можна отримати при вирощуванні у колбах на качалках.

Таким чином, процес підготування поживного середовища проходитиме у чотири етапи, п'ятим етапом буде сам процес біосинтезу.

РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ

3.1. Стадія відділення біомаси

Першим кроком на шляху виділення і очищення цільового продукту є розділення культуральної рідини на супернатант і біомасу клітин.

Оскільки продуцент *Streptomyces fradiae* ТМ-224-4, утворює міцелій під час культивування, то для відділення біомаси будемо розглядати фільтрацію та центрифугування. Виділяють міцелій на фільтрах-пресах, нутч-фільтрах (під вакуумом) або друк-фільтрах (під тиском).

Центрифугування – розділення під дією відцентрових сил. Найчастіше використовується для відділення дріжджів або бактерій. Центрифугування використовується при щільності часток від 400 до 900 нм; ультрацентрифугування – від 10 нм до 1 мкм.

Для виділення вірусів, клітинних органел, високомолекулярних сполук використовується центрифугування. Цей метод вимагає більш дорогого обладнання, ніж фільтрування, тому він використовується, якщо: суспензія фільтрується занадто повільно; виникає необхідність максимального звільнення культуральної рідини від частинок, потрібно забезпечити безперервний процес сепарації, коли фільтри розраховані на періодичну дію.

Фільтрація – це процес при якому суспензія проходить через фільтруючий матеріал, під дією різниці тисків рідина проходить через пори та збирається у вигляді фільтрату, а тверді частинки – біомаса, на фільтруючій мембрані. Для частинок розміром від 10 мкм до 1 мм проводиться фільтрація через тканинні фільтри.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Гвоздь К.С.			РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ	Літ.	Арк.	Аркуші в
Перевір.		Воронцов О.О.					142	72
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
					74			

Відкритий нутч-фільтр, що працює під вакуумом, є резервуаром, усередині нього розташована пориста підкладка. Вакуумні нутч-фільтри зазвичай використовують при значних концентраціях твердої фази у вихідній суспензії. Ця пориста підкладка підтримує фільтровані перегородки. Суспензія подається у фільтр зверху, а у просторі під підкладкою створюється розрідження за допомогою вакуум-насоса. Це створює перепад тиску з різних боків фільтрувальної перегородки, за рахунок чого рідка фаза проходить через перегородку і у вигляді фільтрату потрапляє в нижню частину фільтра, після чого видаляється через штуцер. Дисперсна фаза суспензії затримується на фільтрувальній перегородці та утворює осадовий шар. За потреби нутч-фільтр може заповнюватися промивною рідиною, за допомогою якої проводиться промивання осаду.

Переваги нутч-фільтрів полягають у їхній простоті, якісному промиванні осаду. Основним недоліком цих фільтрів є мала питома продуктивність [102].

Фільтри, що працюють під тиском – друк-фільтри, представляють циліндричну ємність з перфорованою перегородкою в нижній частині (із укріпленням на ній матеріалом, що фільтрує), на яку подається суспензія під тиском зверху за допомогою стиснутого повітря або інертного газу. Подачу рідини на фільтр застосовують вертикальний резервуар з хімічно стійкого матеріалу, куди заливається розчин самопливом або за допомогою вакууму, після чого продавлюється стиснутим повітрям. Друк-фільтри використовують для розділення тонкодисперсних суспензій з низькою концентрацією твердої фази. Для кращого вивантаження осаду корпус друк-фільтрів виконують роз'ємними.

Друк-фільтри (що працюють під тиском) відрізняються від нутч-фільтрів високою швидкістю фільтрування. Для простішого вивантаження осаду у фільтрах збоку або з центру фільтра під час розвантаження працює мішалка [103].

Фільтр-прес використовується для поділу рідини або твердої речовини. Також фільтр-преси відокремлюють рідини та тверді речовини за допомогою фільтрації під тиском, при якій суспензія закачується у фільтр-прес і зневоднюється під тиском [104].

Основною перевагою рамних фільтр-пресів над камерними є більша кількість одержуваного зневодненого осаду, що виробляється за один фільтрувальний цикл [105].

Фільтр-преси мають наступні переваги порівняно з іншими типами фільтрувального обладнання:

- Відносно проста конструкції;
- Велика площа фільтрування відносно площі, яку займає пристрій;
- Низьке енергоспоживання та експлуатаційні витрати;
- Широкий спектр застосування;
- Високий ступінь поділу фаз;
- Підходить для розділення суспензій з низькою концентрацією твердих частинок;
- Можливість фільтрування суспензій, які важко розділяються;
- Здатність розділяти суспензії за високих температур у випадках, коли охолодження суспензії не є допустимим;
- Здатність фільтрувати високотоксичні суспензії;
- Здатність промивати осад на фільтрі, причому осад при промиванні може перебувати в стислому мембраною стані, що значимо підвищує ефективність промивання і знижує витрату рідини для промивання;
- Здатність осушення осаду на фільтрі;
- Час фільтрації, промивання та осушення осаду повинні бути незалежними один від одного;
- Процес фільтрації можна повністю автоматизувати;
- Можливість тонкого налаштування параметрів процесу фільтрації;

- Відносно легка і недорога модернізація обладнання для інших застосувань (наприклад, заміною фільтрувальних полотен, зміною часу фільтрації, тиску фільтрації тощо) [106].

Оскільки актиноміцети утворюють міцелій, тому доцільніше використовувати рамний фільтр-прес (для відділення біомаси). Ще однією з переваг є тривалий термін експлуатації з періодичною заміною фільтруючої тканини лише один раз на 1-2 роки.

Принцип роботи: суспензія подається в кутовий отвір і тече в кожен раму, де тверді частинки накопичуються на фільтрувальній тканині. Потім фільтрат, що залишився переміщується до дренажного порту в змивній плиті і в кутовий отвір, який не використовується для подачі суспензії. Потім фільтрат прямує до випускного трубопроводу і направляється на наступний етап процесу. Через деякий час рами заповнюються твердими речовинами, насос подачі шламу вимикається. Кожна рамка повинна містити фільтрувальний корж, який є кінцевим результатом утворення твердих частинок на фільтрувальному полотні [107].

3.2. Стадія звільнення від домішок отриманого супернатанту

Після відділення біомаси розчин повинен бути звільненим від домішок, які в ньому містяться.

Мікрофільтрація – це процес фільтрації, в якому рідина або газ очищуються проходженням через мікропористу напівпроникну мембрану. Типовий розмір пори такої мембрани становить від 0,1 до 10 мкм.

Ультрафільтрація призначена для концентрування розчинених полімерних сполук. Молекулярна маса розчиненої речовини повинна бути більше 500, в усякому разі молекулярна маса розчинника має бути значно меншою від молекулярної маси розчиненої речовини.

Переваги ультрафільтрації:

- низький робочий тиск
- тривалий термін експлуатації мембранних елементів

- компактне розташування в порівнянні з традиційними схемами
- повна автоматизація.

Отже, для звільнення розчину від домішок доцільно використовувати ультрафільтраційну установку [108].

3.4. Стадія виділення та очищення тилозину

Макроліди дуже гідрофільні і як наслідок, нерозчинність в неполярних розчинниках не дозволяють використовувати для їх виділення екстракційні методи. Наявність великого числа вуглеводних залишків надає їм властивості сильних багатовалентних основ, що дає можливість очищати макроліди сорбцією на іонообмінних смолах.

Іонообмінна смола - це полімерні синтетичні сполуки з тривимірною гелевою і макропористою структурою, здатне вступати в реакції обміну з іонами розчину. Залежно від полярності іонообмінні смоли підрозділяються на катіоніти, аніоніти і біполярні іонообмінні смоли. Катіоніти можуть бути сильно - і слабокислотні, а аніоніти - сильно - і слабозагальні. Ионообмінна смола являє собою дрібні кульки полімеру.

Іонообмінна сорбція визначається природою іоногенних груп, присутніх у сорбенті, та структурою сорбенту. Найчастіше використовують синтетичні іонообмінні смоли, які представляють собою типові гелі. Їхній каркас-матриця складається з неправильної високополімерної просторової сітки вуглеводневих ланцюгів.

Хімічне очищення тилозину проводять на катіоніті КУ-02, що включає наступні операції: сорбція з нативного розчину, елюювання мінорних компонентів і десорбція тилозину.

Катіоніти – це тверді нерозчинні речовини, які можуть обмінювати свої іони на іони з розчину, що їх оточує. Зазвичай вони є синтетичними органічними смолами, іонообмінна смола відрізняється механічною міцністю, високою хімічною стійкістю до дії кислот, лугів, окисників, і осмотичною стабільністю [109,110].

Отже, для очищення тилозину використовуємо іонообмінну смолу катіоніт КУ-02 та установку для проведення процесів іонообмінної сорбції.

3.5. Стадія концентрування розчину тилозину

Наступний етап – це концентрування антибіотика. Для цього варто розглянути такі методи концентрування як випарювання та ультрафільтрацію.

Ультрафільтрування призначене для концентрування розчинених високомолекулярних сполук. Ультрафільтрація має свої переваги [108], але в порівнянні з випарними установками характеризується високою вартістю [108].

Випарювання – це термічний процес, що використовується з метою зневоднення розчинів, суспензій для концентрації твердої фази або розчиненої речовини, здійснюється під вакуумом (що є важливим фактором при випаровуванні рідини, яка містить антибіотик). Процес випарювання здійснюють у випарних апаратах різної конструкції. Цільові продукти мікробного синтезу в основному термолабільні деякою мірою можуть інактивуватись при температурах вище 50...80 °. Тому процес випарювання повинен проходити при режимах, що забезпечують мінімальні втрати цільових продуктів від термічної інактивації.

Для кожного продукту біосинтезу, що підлягає концентруванню, час перебування у випарному апараті при відповідній температурі визначається дослідним шляхом. На основі експериментальних даних вибирається відповідна конструкція випарного апарата, що забезпечує оптимальний час перебування середовища в апараті при заданій продуктивності з мінімальними витратами енергії.

Для випаровування широко використовується плівковий апарат: з висхідною плівкою, зі стікаючою плівкою, з обертовою поверхнею нагрівання, з перемішуванням плівки (роторно-плівковий) [122].

Для покращення гідродинаміки течії рідини в вертикальних апаратах було розроблено роторні плівкові апарати (РПА), в яких плівка рідини

створюється й підтримується на гріючій поверхні механічним способом за допомогою лопаток обертового ротора.

На додаток загальних переваг, характерних для плівкових апаратів, РПА мають додаткові переваги. Інтенсивне перемішування і рівномірний розподіл рідини дозволяє при малій щільності зрошення забезпечує високі коефіцієнти теплопередачі (коефіцієнт теплопередачі для РПА може в кілька разів перевищувати коефіцієнт теплопередачі для плівкових випарників з вільно стікаючою плівкою при роботі на одному і тому ж продукті) і тим самим добиватися високого ступеня випарювання (0,9 – 0,98) при мінімальному часі перебування продукту в апараті (секунди або десятки секунд, і лише для високов'язких продуктів більше хвилини).

Таким чином можна зробити висновок, що тонкоплівкові роторні апарати з їхніми перевагами часто є єдиним видом устаткування, що дає змогу виробити продукт потрібної якості [123].

3.6. Стадія сушіння

Сушіння – це процес видалення вологи з матеріалів, при якому використовують теплову енергію для її випаровування та відведення пари, що утворюється. Після очищення та концентрування антибіотик відправляють на сушіння: для чого використовують ліофільне сушіння, висушування в розпилювальній сушарці, висушування у зваженому шарі або у вакуум-сушильних апаратах.

Метод ліофільного сушіння полягає в тому, що вологий матеріал чи розчин (розчин антибіотика), заморожені до температури мінус 20-40 ° С сушаться у вакуумі з залишковим тиском близько 0,01 мм рт. ст., шляхом сублімації води з кристалів льоду. Основним недоліком вакуумної сублімаційної сушки – висока вартість, потребує кріогенні умови, що призводить до великої кількості затрат на його експлуатацію.

Сушіння розпиленням є одним з найсучасніших та найперспективних методів зневоднення лікарських засобів термолабільної природи. В принципі метод сушіння полягає в тому, що розчин, що висушується, розпилення за

допомогою форсунок, струменя стисненого повітря або швидко обертового диска до частинок розміром 5-25 мкм в струмі протікає через сушильну камеру нагрітого до температури порядку 160° з повітря. Розмір поверхні частинок близько 0,5 млн. м² на 1 м³ розчину забезпечує сушіння протягом декількох секунд. Висушений продукт у вигляді порошку відокремлюється від відпрацьованого теплоносія у спеціальних пилевіддільниках.

Саме вибір способу подачі сушильного агенту зумовлений схемою процесу: прямотечією або протитечією. Якщо подачу виконувати зверху, то сушіння буде організовано прямотечією. Такий метод менш інтенсивний, ніж протитечією, але це сприяє м'якшому режиму сушіння. При нижній подачі – можна забезпечити безперервний процес подачі. З точки зору економіки обидва методи приблизно рівноцінні. Молекулярне сушіння потребує у 2,7 разу більше виробничої площі та у 2,1 разу більша витрата електроенергії, трудові витрати також вищі. Разом з тим вихід антибіотиків при молекулярному сушінні на декілька відсотків вище, ніж при розпилювальній сушці.

Отже, для сушіння підійде прямотечійна (оскільки сприяє м'якшому режиму сушіння) розпилювальна сушарка з верхнім підведенням повітря, з конічним днищем [122,123].

РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, яке зображене на апаратурній схемі, наведена в табл. 11.

Таблиця.11

Специфікація обладнання ділянки післяферментаційних процесів

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
РФП-3	Рамний фільтр-прес	1	Рамний фільтр-прес виробництва компанії «Xinhai» (Китай). Площа фільтрування: 20-1000 м ² [1].
УФ-4	Ультрафільтраційна установка	1	Установка ультрафільтрації продуктивністю 5-20 м ³ /год. Виробник: Україна [2].
УІС-5	Установки для проведення процесів іонообмінної сорбції	1	Установка для проведення процесів іонообмінної сорбції виробництва компанії «Sartorius» (Німеччина). Для сорбції в нерухомому шарі застосовуються сорбційні колони діаметром від 100 мм до 1400 мм і висотою від 800 мм до 5000 мм[3].
3 – 1 3 – 6, 3 - 9	Збірник	3	Збірник об'ємом 80 л та 100 л, виготовлений із нержавіючої сталі AISI 304. Виробник: ТОВ «Метал сервіс груп», Україна [4].
Н-2 Н-7 Н-10	Насос відцентровий	3	Насос відцентровий DAB KPF (Україна). Потужність двигуна – 0,370 кВт; Продуктивність – 0,06 м ³ /год; Висота подачі – 25 м [5].
РПВ -8	Роторно-плівковий випарник	1	Роторно-плівковий випарник виробництва компанії «Гранд» (Росія). Габаритні розміри, м: 1,5х3х4,5 Продуктивність, кг: 100 - 1400 по випарюваній волозі в годину [6].

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	80
Консультант					Кафедра БТМ 82		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		

РС-11	Розпилювальна сушарка	1	Сушильна установка А1-ОР2Ч. Установка А1-ОР2Ч є прямою розпилювальною сушаркою з відцентровим дисковим розпиленням, верхнім підведенням теплоносія, вертикальною циліндричною камерою і дном киплячого шару продукту, з наступним його охолодженням у віброохолоджувачі. Виробник: ПАТ «Калинівський машинобудівний завод», Україна [7].
ФПВ – 12	Фасувально-пакувальна машина	1	Фасувальний автомат з ваговим дозатором АФ-50 (8) –В. Продуктивність: до 500 уп./год [10].

Примітка:

1. <https://www.xinhaimining.ru> (Рамний фільтр-прес)
2. <https://prom-water.ua> (Ультрафільтраційна установка)
3. <https://sartorius.com> (Установки для проведення процесів іонообмінної сорбції)
4. <https://odessa.flagma.ua/> (Збірник)
5. <http://www.dabpump.com.ua> (Відцентровий насос)
6. <https://www.oborud.info> (Роторно-плівковий випарник)
7. <https://www.kmbp.com.ua> (Розпилювальна сушарка)
8. <http://www.technowagy.com.ua> (Дозатор).
9. <http://defro.ua> (Реактор-змішувач).
10. <https://prom.ua> (Фасувально-пакувальна машина)

РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

Технологічна схема виділення та очищення тилозину включає наступні технологічні процеси: відділення біомаси на рамному фільтр-пресі, звільнення від домішок ультрафільтрацією, очищення тилозину іонообмінною сорбцією, концентрування у роторно-плівковому апараті, сушіння в прямотечійній розпилювальній сушарці, пакування та маркування субстанції тилозину.

Технологічну схему виділення та очищення наведено у графічній частині проекту.

ТП 5. Відділення біомаси.

ТП 5.1. Фільтрування культуральної рідини на рамному фільтр-пресі.

Культуральна рідина, яка утворена у процесі виробничого біосинтезу подається по трубопроводах до збірника (З-1) з якого потім за допомогою відцентрового насосу (Н-2) подається до рамного фільтр-пресу (РФП-3). Цикл роботи фільтр-преса полягає у стисканні пакета плит та рам за допомогою гідравлічного циліндра, ручного або механічного приводу. Потім суспензія під тиском закачується каналом подачі в рами фільтр-преса. При цьому фільтрат проходить через фільтрувальну тканину і по дренажному каналу видаляється з фільтр-преса, а тверда фаза затримується фільтрувальною тканиною і наповнює внутрішній простір рами. Подальше заповнення камер осадом витрата суспензії знижується, при цьому кількість фільтрату, що виділяється, зменшується.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	82
Консультант					Кафедра БТМ ⁸⁴		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ <u>СУБСТАНЦІЇ</u> ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ		

Для зневоднення осаду і отриманні необхідного рівня вологості проводиться витримка тиску нагнітання до 0,7 МПа. Під впливом гідравлічної системи пакет плит розсувається, і корж, що утворився, витягується випадає з рами в приймальну ємність.

ТП 6. Звільнення фільтрату від домішок.

ТП 6.1. Очищення розчину на ультрафільтраційній установці.

Отриманий на попередньому етапі розчин по трубопроводах направляється до ультрафільтраційної установки, де проходить видалення від домішок (УФ-4). Обладнання складається з насосу подачі вихідного розчину, предфільтру, стійки з модулями ультрафільтрації, ємності для фільтрату/зворотного промивання.

Початковий розчин подається на модуль ультрафільтрації за допомогою насосу. Перед модулем розчин проходить через предфільтр, який відфільтровує грубі частинки, захищаючи тим самим мембрани. Потік розчину проходить через ультрафільтраційні мембрани і надходить у ємність фільтрату/зворотного промивання. Періодично мембрани піддаються зворотне промивання, під час якого видаляються накопичені на поверхні мембрани забруднення. Для більш ефективного зворотного промивання в промивну воду можуть додаватись реагенти.

Мембранне очищення передбачає різким зниженням тиску в установці, після чого забруднення відшаровується від поверхні і змивається потоком рідини.

ТП 7. Виділення та очищення тилозину.

ТП 7.1. Очищення тилозину іонообмінною сорбцією.

Отриманий на попередньому етапі очищений розчин, що містить тилозин подають до установки для проведення процесів іонообмінної сорбції (АІС-5). Основним елементом установки є сорбційно-промивний апарат - пульсаційна колона з насадками КРИЗМ. Сорбційно-промивний апарат який забезпечений спеціальними насадками - стрижнем, на якому знаходяться на

рівній відстані один від одного металеві диски або ж тарілки зі спеціальними отворами, що мають похилі лопатки. Таке розташування насадок при потоці рідини створює турбулентне перемішування потоку, що забезпечує поперечне перемішування в апараті.

Поздовжнє перемішування в апараті досягається шляхом подачі стисненого повітря, яке імпульсами через спеціальний мембранний автопульсатор подається через пульсаційну камеру в апарат.

Конструкція сорбційно-пульсаційної колони забезпечує максимально сприятливі умови для масообміну, оскільки існує і поздовжнє, і поперечне перемішування: сорбент знаходиться в киплячому шарі. У верхній частині колони встановлений розширювач для зниження поздовжнього та поперечного перемішування розчину, і тим самим запобігає винесення смоли відпрацьованим розчином. Для того, смола не попадала в пульсаційну камеру і злив у нижній частині колони встановлена сітка з діаметром отворів 0,25 мм.

Накопичення сорбенту і десорбцію проводять у колоні елюції. Сорбент переноситься з сорбційно-промивного апарату в колону елюції здійснюють за допомогою аерліфтного пристрою. Таким же аерліфтним пристроєм забезпечена і елюційна колона для повернення сорбенту після десорбції і регенерації. Цей пристрій являє собою порожнисту металеву трубу, яка з'єднана з нижньою частиною апаратів. При подачі повітря в трубу за рахунок зміни щільності рідини в трубі та апараті сорбент транспортується трубою вгору. Установка включає також приймальну ємність для збору, зберігання та попередньої обробки розчину. Місткість забезпечена відцентровим зануреним насосом.

Освітлений розчин збирають у збірник (3-6), після чого відправляють на випарювання.

ТП 8. Випарювання.

ТП 8.1. Концентрування у роторно-плівковому апараті.

Для концентрування розчину його подають за допомогою насосу (Н-7) до роторно-плівкового випарника (РПВ-8). Випарювання відбувається у випарних трубах, які оснащені вбудованими обертовими турбулізуючими механізмами роторного типу. Речовина, що переробляється подається через патрубок у верхній частині кожної із труб. Вона розтікається рівномірно по поперечному перетину труби роторно-плівкового випарника і стікає по внутрішній поверхні донизу у вигляді плівки під дією сили ваги; по поверхні плівки «ковзають» робочі органи роторного механізму. Труба зовні підігрівається парою до температури випару речовини. Обертові лопаті роторно-плівкового випарника створюють у плівці вихрові структури, що прискорюють у ній тепло - масообмінні процеси, забезпечують ефективний поділ рідкої й парової фаз при випарі. При цьому максимально гальмується утворення відкладень на внутрішній поверхні випарної труби.

Як наслідок більша частина води, стікає донизу по випарній трубі роторно-плівкового випарника, перетворюється у «вторинну» пару. «Вторинна» пара проходить через сепаратор, при цьому на пластинах сепаратора залишаються найбільш великі краплі вологи, захоплені парою, які містять концентрат речовини, що випарюється; вони стікають із пластин у піддон сепаратора. Концентрат, який утворився в результаті випарювання речовини, надходить із випарних труб у піддон сепаратора роторно-плівкового випарника. Далі він переміщається шнековим транспортером, вбудованим у сепаратор випарника або відкачується насосом у накопичувальну ємність для концентрату (З-9) звідки потім йде на подальшу обробку. "Вторинна" пара надходить у конденсатор, де конденсується. Конденсат "вторинної" пари подається в накопичувальну ємність. Випарювання розчину відбувається за температури 70°C протягом 15 хв за тиску 0,008-0,01 МПа.

ТП 9. Сушіння.

ТП 9.1. Розпилювальна сушка розчину тилозину.

Сконцентрований розчин тилозину подається з накопичувальної ємності (З-9) за допомогою відцентрового насосу (Н-10) у розпилювальну сушарку (РС-11) метою якої є отримання сухого порошку тилозину. Концентрат, що підлягає висушуванню, безперервно подається в апарат через отвір кришки. Через центр кришки проходить вал електродвигуна. Накінці валу закріплений диск діаметром 100... 400 мм зі спеціальним рельєфом. Диск обертається з даною швидкістю 5...40 тис.обертів/хв. Для досягнення такої швидкості між диском та валом встановлюється редуктор, який збільшує швидкість обертання вала електродвигуна. Іноді для обертання валу використовують парову турбіну.

Після того, як концентрат потрапляє до центра диска під дією відцентрової сили рідина починає заповнювати всі канали рельєфу диска, мікропотоки рухаються до його периферії, зриваються з краю диска і йдуть у верхню частину камери у вигляді мікрокрапель. Одночасно зверху подають потік гарячого газового повітря. Сушильний агент нагрівається попередньо в калориферах, які в свою чергу, обігріваються електроенергією, природним газом або парою.

Після контакту сушильного агента з мікрокрапельками вологого матеріалу вода випаровується, але температура на поверхні матеріалу дорівнює температурі мокрого термометра і ніколи не досягає температури теплоносія. У результаті сухий продукт виходить з нижньої частини апарату.

Параметр процесу: температура сушіння $85 \pm 1^{\circ}\text{C}$, швидкості подачі розчину $0,0001-0,0002 \text{ м}^3/\text{год}$ і швидкості потоку повітря $5 \text{ м}^3/\text{год}$. Кінцевий вміст вологи: $W = 5\%$

ПМВ 10. Пакування та маркування субстанції тилозину.

Субстанції тилозину фасують у поліетиленові пакети, з наступним пакуванням їх у картонні туби та нанесення на них етикетки, на якій вказана

наступна інформація: назва виробника, назва субстанції, вага, дата фасування та термін придатності.

Дані процеси здійснюються автоматично за допомогою фасувально-пакувальної машини (ФМП-12).

РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ

Основні показники, які контролюються упродовж виробничого процесу виділення та очищення тилозину є зовнішній вигляд субстанції, вміст домішок у субстанції тилозину, вміст вологи у субстанції та контроль якості субстанції тилозину за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ідентифікація).

Зовнішній вигляд субстанції. Субстанція тилозину має вигляд порошку від білого до світло-жовтого кольору зі специфічним запахом. Контроль проводиться візуально [114].

Визначення вмісту домішок у субстанції тилозину. Суть методу полягає у проведенні селективної обернено-фазової (RP) рідинної хроматографії (LC) у поєднанні з УФ для визначення тилозину та його споріднених речовин. У градієнтному методі використовується колонка Carcell pak C18 ACR (25 см 4,6 мм внутрішній діаметр, 5 мм), яка підтримується при температурі 60 °С. Рухомі фази складаються з ацетонітрилу, фосфатного буфера рН 5,5 і води: (А; 27,5:10:62,5 об./об.) і (В; 50:10:40 об./об.). Швидкість потоку становить 1,0 мл/хв, а УФ-детектування виконується при 280 нм. Це дозволяє відокремити всі відомі споріднені речовини (Z0,02%) від основної сполуки та одна від одної. Метод показує хорошу точність, чутливість, лінійність (від 0,2 мг/мл до 1,25 мг/мл) і стійкість. Межа кількісного визначення становить 0,2 мг/мл, що відповідає 0,020%.

Приготування стандартних розчинів. Для кількісного визначення домішок у зразках тилозину готують розчин 1,0 мг/мл тилозину у очищеній воді. Розчини готують та аналізують в трьох повторях.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата		Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Гвоздь К.С.			РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ		142	88
Перевір.		Воронцов О.О.						
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ 90		

Прилади. Обладнання рідинного хроматографа (LaChrom, Merck Hitachi, Дармштадт, Німеччина) складається з насоса L-7100, автосамплера L-7200, УФ-детектора L-7400, встановленого на довжину хвилі 280 нм, і інтерфейсу D-7000. Для збору даних використовують програмне забезпечення EZChrome Elite 4.0 (Merck Hitachi). Як стаціонарну фазу використовують колонку Carcell pak C18 ACR (25 см 4,6 мм внутрішній діаметр, 5 мм) (Shiseido, Токіо, Японія). Колонку зберігають на водяній бані при 60°C і температуру контролюють за допомогою термостата EC Julabo (Seelbach, Німеччина). Швидкість потоку становить 1,0 мл/хв, а об'єм ін'єкції становить 20 мл.

Для дослідження проміжної точності аналізу проводять з використанням іншої колонки Carcell pak C18 ACR (25 см 4,6 мм внутрішній діаметр, 5 мм) та обладнання LC II (LaChrom Elite, Merck Hitachi), що складається з насоса L-2130, L-2200 автосамплер і УФ-детектор L-2400. Інші умови ідентичні.

Рухомі фази. Оскільки застосовується градієнтне елюювання, використовують дві рухомі фази. Рухома фаза А складається з 27,5 об'ємів ACN, 10 об'ємів фосфатного буфера рН 5,5 і 62,5 об'ємів води. Рухома фаза В складається з 50 об'ємів ACN, 10 об'ємів фосфатного буфера рН 5,5 і 40 об'ємів води. Фосфатний буфер рН 5,5 готують шляхом розчинення 27,22 г дигідрофосфату калію в 1000 мл очищеної води та доведення рН до 5,5 розчином гідрофосфату калію (34,84 г в 1000 мл очищеної води) [115].

Визначення вмісту вологи у субстанції тилозину. Визначення масової частки вологи проводять за використання приладу Чижової.

Для швидкого видалення вологи використовують сушіння в інфрачервоних променях, які сприймаються не тільки поверхнею, але й проникають в продукт на глибину до 2...3 мм, що зумовлює його інтенсивне прогрівання. Одним з джерел інфрачервоних променів можуть бути нагріті металеві поверхні, які дають опромінення в діапазоні довжин хвиль 0,76...343 нм. На цьому принципі працює прилад Чижової (рис. 5), що складається із двох масивних металевих плит (сплав алюмінію і чавуну)

круглої форми, між якими розміщується тонкий шар матеріалу, що висушується. Плити з'єднані між собою шарніром і нагріваються електричними елементами, розміщеними зовні сторін приладу, що забезпечує швидке зневоднення продукту. Під час роботи відстань між плитами складає 2 мм, температура контролюється двома ртутними термометрами. Нагрівання плит може бути сильним і слабим. Сильне нагрівання використовується у випадку першопочаткового нагрівання, а слабке – для підтримання необхідної температури (для перемикавання режиму нагрівання є спеціальний перемикач). Контактний термометр забезпечує сталість заданої температури в межах $\pm 1^{\circ}\text{C}$ [116].



Рис. 5. Прилад Чижової

Висушують об'єкт в пакетах трикутної (для приладу круглої форми) або прямокутної форми (для приладу прямокутної форми). Для приладів Чижової старого зразку паперові пакети необхідно виготовити самостійно. Для виготовлення пакетів прямокутної форми лист паперу (газетного) форматом 20×14 згинають навпіл, а відкриті з трьох боків краї пакету загинають на 1,5 см (рис. 6). Розмір готових пакетів $8,5 \times 11$ см. Для виготовлення пакетів трикутної форми папір форматом 15×15 см згинають по діагоналі і відкриті краї загинають на 1,5 см [116].

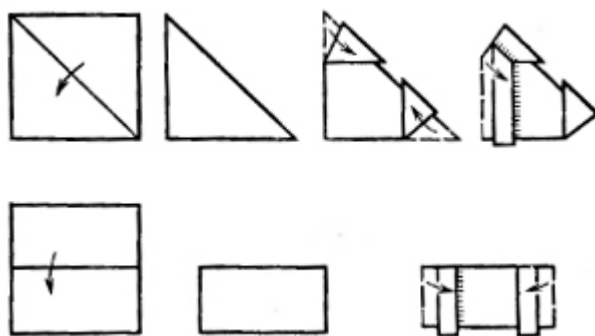


Рис. 6. Виготовлення паперових пакетів для приладу Чижової.

Для визначення масової частки вологи в продукті за допомогою експрес методу попередньо виготовляють 2 паперові пакети, які просушують у приладі Чижової за температури 160 °С протягом 3 хв., охолоджують в ексикаторі 3 хв. та зважують. Далі їх розкривають та поміщають в них наважки субстанції тилозину (проводять два паралельних визначення). Пакети закривають та розміщують у приладі для висушування за температури 160 °С на 4 хв. Після висушування пакети охолоджують в ексикаторі, зважують і за різницею мас наважки до та після висушування розраховують масову частку вологи [116].

Контроль якості субстанції тилозину за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ідентифікація). Суть методу полягає у хроматографічному розділенні на колонці Agilent C18 (250 мм, 4,6 мм, 5 мкм) при 35°C з використанням 100% метанолу якості ВЕРХ як рухомої фази зі швидкістю потоку 1,8 мл/хв та УФ-детектуванням при 280 нм.

Реактиви: субстанція тилозину, еталонний стандарт USP і метанол ($\geq 99,9\%$) за ВЕРХ.

Обладнання та умови ВЕРХ: система ВЕРХ складається з насосу, модель 1200, автоматичного інжектора для відбору проб і детектора UV-Vis (Agilent). Детектор був встановлений на 280 нм, а площі піків були автоматично інтегровані комп'ютером за допомогою програмного забезпечення. Сполуки розділяли на попередньо упакованій колонці LiChrospher C18 розміром 250 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм і розміром

частинок 5 мкм від Agilent. Рухома фаза 100% метанол; швидкість потоку 1,8 мл/хв. Об'єм ін'єкції становив 10 мкл. Колонку проводили при температурі (35°C). Весь аналіз проводили в трьох повторах. Рухому фазу фільтрують через нейлоновий мембранний фільтр 0,45 мкм і дегазують за допомогою ультразвукової ванни протягом 15 хв. Кількісний аналіз проводиться та розраховується за площею під кривими, автоматично екстрапольованим програмним забезпеченням.

Приготування стандартного основного розчину: Субстанцію тилозину (10 мг) точно зважують і розчиняють в 10 мл метанолу, щоб отримати концентрацію 1000 мкг/мл. 1 мл цього розчину переносять в мірну колбу на 10 мл і розбавляють до об'єму метанолом, отримуючи проміжний розчин 100 мкг/мл.

Приготування робочого стандартного розчину: робочі стандартні розчини тилозину готують шляхом точного перенесення (0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0 і 2 мл) проміжного розчину в серію з шести мірних колб на 10 мл. Об'єм доводили до мітки метанолом, щоб отримати діапазон концентрацій 0,5, 1, 2, 5, 10,20 мкг/мл.

Стандартні розчини стабільні при (-20°C) протягом кількох тижнів у темряві [117].

Таблиця 12

Карта постадійного контролю виробництва тилозину

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
Кт, Кх 5.1 <i>Фільтрування культуральної рідини на рамному фільтр-пресі</i>	Обладнання Тиск, час, вміст сухих речовин	Годинник, манометр	Тиск визначаються безперервно під час процесу випарювання	P = 0,7 МПа, CP = 40%

Продовження Таблиця 12

Кт 6.1 <i>Очищення розчину на мікрофільтраційній установці</i>	Обладнання Тиск, час, вміст сухих речовин	Годинник, манометр	Тиск визначаються безперервно під час процесу випарювання	$\tau = 40-60$ хв, $P = 0,05 - 0,06$ атм, $d = 0,22$ мкм
Кт 7.1 <i>Очищення тилозину іонообмінною сорбцією</i>	Обладнання Катіони Очищення тилозину іонообмінною сорбцією Температура	Термометр	Кожну операцію	$t = 12-18$ °С
Кт 8.1 <i>Концентрування у роторно-плівковому апараті.</i>	Обладнання Концентрування у роторно-плівковому апараті.	Термометр технічний, годинник	Температура і тиск визначається безперервно під час процесу	$t = 70$ °С $\tau = 15$ хв за тиску $P = 0,008-0,01$ МПа.
Кт 9.1 <i>Розпилювальна сушка розчину тилозину</i>	Обладнання Швидкість подачі розчину та повітря, температура процесу	термометр технічний	Швидкість подачі розчину та повітря, а також температура визначаються безперервно під час сушіння	$t = 85 \pm 1$ °С, $v_{p-ny} = 0,0001-0,0002$ м ³ /год $v_{повітря} = 5$ м ³ /год, $W = 5\%$
Кт 10 <i>Пакування та маркування субстанції тилозину</i>	Пакет, картонна туба Маса запакованого продукту	Ваги електронні, туби	Після процесу пакування	$m = 20$ кг

РОЗДІЛ 7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ.

7.1. Розрахунок річної потужності виробництва лз та кількості серій на рік

Річна потужність біосинтезу тилозину складає **2060,64** кг (2060640 г).

Вміст тилозину в 100 мл препарату дорівнює 5 г. Тоді:

$$100 \text{ мл} - 5 \text{ г}$$

$$x \text{ мл} - 2060640 \text{ г}$$

Отже, на рік необхідно виготовити $x = (2060640 \text{ г} \cdot 100 \text{ мл}) / 5 \text{ г} = 41212800$ мл розчину для ін'єкцій.

Планується випускати флакони з вмістом у ньому розчину для ін'єкцій 50 мл. Продуктивність наповнювальної машини складає 2000 флаконів на годину. Прийемо час роботи машини 8 годин. Отже, за один цикл наповнюється $2000 \cdot 8 = 16000$ флаконів або у перерахунку на об'єм розчину для ін'єкцій у флаконі: $16000 \text{ флаконів} \cdot 50 \text{ мл} = 800000$ мл розчину.

Тоді кількість серій на рік складає $41212800 / 800000 = \approx 52$ серії.

7.2. Обґрунтування класів чистоти виробничих приміщень

До виробництва стерильної продукції пред'являють особливі вимоги, щоб звести до мінімуму ризик контамінації мікроорганізмами, частками та пірогенами. При цьому багато чого залежить від кваліфікації, навчання та виробничої дисципліни працюючого персоналу. Особливо важливе значення має забезпечення якості; при цьому типі виробництва необхідно ретельно дотримуватися способів приготування та методик, які чітко встановлені та пройшли валідацію. Ніяка кінцева стадія процесу або випробування готової продукції не можуть розглядатися як єдиний чинник, що засвідчує стерильність або інші сторони якості.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	94
Консультант					РОЗДІЛ 7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ. Кафедра БТМ ⁹⁶		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

Стерильну продукцію необхідно виробляти в чистих зонах, доступ у які персоналу та/або надходження обладнання та матеріалів має здійснюватися через повітряні шлюзи. Чисті зони слід обслуговувати таким чином, щоб вони відповідали стандарту чистоти; в них необхідно постачати повітря, що пройшло через фільтри відповідної ефективності.

Різні операції з підготовки компонентів, приготування продукції та наповнення слід здійснювати в окремих зонах усередині чистої зони. Виробничі операції діляться на дві категорії: по-перше, коли продукцію піддають кінцевій стерилізації (в остаточному первинному пакуванні), і, по-друге, коли операції на декількох або всіх стадіях виконують в асептичних умовах.

Чисті зони для виробництва стерильної продукції класифікують відповідно до необхідних характеристик навколишнього середовища. Кожна виробнича операція вимагає відповідного рівня чистоти навколишнього середовища в експлуатованому стані для зведення до мінімуму ризику контамінації частками або мікроорганізмами продукції чи оброблюваних матеріалів.

Для відповідності вимогам в умовах «експлуатації» ці зони мають бути спроектовані так, щоб забезпечити точно визначений рівень чистоти повітря в «оснащеному» стані. «Оснащений» стан – це умова, за якої система чистого приміщення цілком підготовлена, виробниче обладнання цілком встановлене і готове до роботи, але персонал відсутній. «Експлуатований» стан – це умова, за якої система чистого приміщення й обладнання функціонують у встановленому режимі з визначеною кількістю працюючого персоналу.

«Експлуатований» стан та «оснащений» стан мають бути встановлені для кожного чистого приміщення або комплексу чистих приміщень.

Для виробництва стерильних лікарських засобів виділяють чотири класи.

Клас А: Локальна зона для операцій, що становлять високий ризик для якості продукції, наприклад: зони дозування, закупорювання ємностей,

відкривання ампул і флаконів, змішування в асептичних умовах. Як правило, такі умови забезпечуються ламінарним потоком повітря на робочому місці. Системи ламінарного потоку повітря мають забезпечувати рівномірну швидкість повітря в діапазоні 0,36-0,54 м/с (керівний норматив), що застосовне до відкритого робочого місця в чистій кімнаті. Підтримування ламінарності має бути доказаним та валідованим. У закритих ізоляторах та боксах із рукавичками можна використовувати односпрямований потік повітря із меншими швидкостями.

Клас В: Навколишнє середовище для зони класу А у разі виготовлення і наповнення в асептичних умовах.

Класи С і D: Чисті зони для здійснення менш критичних стадій виробництва стерильної продукції.

Технологія BFS (Blow-Fill-Seal). Пристрої для видування / дозування / герметизації – це спеціально сконструйовані машини, де в одному автоматичному комплексі протягом одного безупинного процесу з термопластичного гранулята формують контейнери (первинні пакування), які наповнюють та герметизують. Обладнання для технології видування / дозування / герметизації, що використовується для виробництва в асептичних умовах, з ефективним потоком повітря класу А може бути встановлене в навколишньому середовищі принаймні класу С за умови використання одягу для класів А/В. Навколишнє середовище в оснащеному стані має відповідати нормам як за кількістю часток, так і за кількістю життєздатних мікроорганізмів, а у експлуатованому стані – тільки за кількістю життєздатних мікроорганізмів [118].

7.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Фасування рідких стерильних та асептично виготовлених ліків здійснюється в скляні ампули, флакони або герметичні полімерні контейнери різної ємкості. Ампули та флакони виготовляють зі скла НС-1 та НС-3. Скло типу НС-2 використовують для виготовлення флаконів ємністю 100, 250 та 450 мл. Зважаючи на те що скло є ламким та має велику

тоннажність, а склянки потребують закупорки гумовими пробками, до складу яких входить значна кількість силікатів, кальцію карбонат, теурам, сірка, що негативно впливають на якість розчинів, ведеться пошук більш прогресивних матеріалів, напр., полімерних, які не є крихкими (ламкими), хімічно інертні та нейтральні до агресивних середовищ (лугів, кислот, окиснювачів, відновлювачів). Крім того, полімерні матеріали дають можливість виготовляти упаковку складних конфігурацій, а їх еластичність дозволяє створювати принципово нові конструкції пакувальних засобів різної місткості (від 50 до 1000 мл).

Використання полімерних упаковок дозволяє отримувати стерильні ЛП у безперервному автоматизованому комплексі (за асептичних умов, протягом одного технологічного циклу), а саме: формування первинної упаковки із термопластичного гранулята, дозування розчину, герметизація упаковки, нанесення необхідного маркування. Досягається також належний захист як самої упаковки, так і розчину від мікробного забруднення, збереження стерильності та апірогенності в процесі виготовлення та зберігання. Найбільш перспективними для використання тарозакупорювальних засобів стерильних розчинів є: поліетилен низького, середнього та високого тиску, поліпропілен, полістирол, фторопласт, полікарбонат та їх комбінації, а також поліетилен та полівінілхлорид. Полімерна упаковка може мати форму туби, флакона, пакета, шприц-туби [119].

Отже, у ролі первинної упаковки для розчину для ін'єкцій «Тилозин-50» обрано полімерну упаковку у формі флакона місткістю 50 мл. Даний вид упаковки має ряд переваг над флаконами зі скла (з якого найчастіше виготовлені флакони), а саме:

- полімерні флакони не є крихкими (ламкими), хімічно інертні та нейтральні до агресивних середовищ (лугів, кислот, окиснювачів, відновлювачів);

- використання полімерних упаковок дозволяє отримувати стерильні ЛП у безперервному автоматизованому комплексі (за асептичних умов, протягом одного технологічного циклу);
- досягається також належний захист як самої упаковки, так і розчину від мікробного забруднення, збереження стерильності та апірогенності в процесі виготовлення та зберігання.

Вибору, кваліфікації, затвердженню постачальників первинних і друкованих пакувальних матеріалів та підтримуванню відносин з ними слід приділяти таку ж увагу, як і постачальникам вихідної сировини.

Особливу увагу необхідно приділяти друкованим матеріалам. Їх необхідно зберігати в достатньо безпечних умовах, що виключають доступ сторонніх осіб. Розрізані етикетки й інші розрізнені друковані матеріали слід зберігати і транспортувати окремо в закритій тарі для запобігання плутанині. Пакувальні матеріали можна видавати для використання тільки уповноваженому на це персоналу відповідно до затвердженої та документованої методики.

Кожному постачанню або серії друкованого чи первинного пакувального матеріалу має бути наданий спеціальний номер або ідентифікаційний знак.

Прострочений або той, що вийшов із ужитку, первинний або друкований пакувальний матеріал необхідно знищити, а факт знищення запротоколювати.

Обробку стерильної вихідної сировини і компонентів, якщо в подальшому не передбачена стерилізація або стерилізуюча фільтрація, слід здійснювати в робочій зоні класу А з навколишнім середовищем класу В [1].

На виробництво гранули термопластичного полімеру, з якого будуть формуватися флакони для розчину для ін'єкцій, поставляються стерильними та запакованими у герметичну упаковку, тому не потребують подальшої обробки.

Після надходження на склад виробництва мішків з гранулами термопластичного полімеру, гранули проходять вхідний контроль, в тому числі мікробіологічний контроль. Після отримання задовільних результатів контролю, вони транспортуються у приміщення класів чистоти C/D. Перед переміщенням їх до класифікованих приміщень, поверхня мішків у передаточному шлюзі проходить обробку 76%-вим розчином спирту етилового. З приміщень класу C/D гранули пневматично транспортуються по трубопроводах до бункера машини BFS.

7.4. Обґрунтування вибору підготовки води для ін'єкцій

Вода для ін'єкцій (ДФУ) – вода, яка використовується як розчинник при приготуванні ЛП для парентерального застосування (вода для ін'єкцій *in bulk*) або для розчинення чи розведення діючих речовин безпосередньо перед парентеральним застосуванням (вода для ін'єкцій стерильна). За органолептичними показниками вона являє собою прозору, безбарвну рідину без смаку та запаху. Згідно з ДФУ вода для ін'єкцій повинна відповідати вимогам, що висуваються до води дистильованої, й бути апірогенною. Вода для ін'єкцій *in bulk* одержують із води питної або води очищеної шляхом дистиляції згідно з валідованими методиками та процедурами при регулярному контролі її питомої електропровідності та мікробіологічної чистоти в процесі виробництва. Одержання води для ін'єкцій здійснюється в асептичних приміщеннях, де категорично забороняється виконувати будь-які роботи, не пов'язані з процесом дистиляції, перегонкою питної або знесоленої води. Для цього використовують термокомпресійні аквадистилятори, частини яких, що контактують із водою, виготовлені з нейтрального скла, кварцу або підходячого металу. Проблемою при одержанні води для ін'єкцій є забруднення дистилляту пірогенними речовинами, що відбувається шляхом перенесення дрібних крапель води або винесення їх потоком пари в конденсатор. Тому обладнання має бути забезпечене ефективним пристроєм для запобігання захопленню крапель, а також

належне утримування й технічне обслуговування обладнання. Першу порцію води, одержану на початку роботи, відкидають, потім дистилат збирають.

Під час виробництва води для ін'єкцій і подальшого її зберігання контролюють і відстежують загальну кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів. Для простежування несприятливих тенденцій установлюють відповідну попереджувальну межу і відповідну межу, яка вимагає вживання заходів (10 життєздатних аеробних мікроорганізмів у 100 мл). При необхідності можуть бути встановлені більш жорсткі попереджувальні межі. Крім того, вода для ін'єкцій *in bulk* має витримувати випробування на нітрати — не більше 0,00002% (0,2 мм рт. ст.), важкі метали — не більше 0,00001% (0,1 мм рт. ст.) та бактеріальні ендотоксини — менше 0,25 МО/мл. Воду для ін'єкцій *in bulk* зберігають і використовують в умовах, що дозволяють запобігти росту мікроорганізмів й уникнути будь-яких інших забруднень. Надійність гарантується в спеціальних системах з інертного матеріалу, де вода знаходиться при високій температурі та в постійному русі. Система складається з двох ємностей з паровим підігрівом та стерилізуючим повітряним фільтром і насоса, який перекачує воду з однієї ємності в другу з постійною швидкістю 1–3 м/с. Температура циркулюючої води підтримується теплообмінниками в межах 80–95 °С. З'єднуючі труби мають нахил 2–3° для забезпечення можливості повного змиву води при промиванні системи. Резервуари для зберігання води, трубопроводи та арматуру виготовляють із стійких до хімічної дії матеріалів спеціальних марок нержавіючої сталі, титану або скла. Максимальний термін зберігання — 24 год в асептичних умовах [120].

7.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

7.5.1. Отримання води для ін'єкцій

Найбільш поширеним методом отримання води для ін'єкцій є дистиляція, тобто процес випаровування з подальшою конденсацією пари.

При цьому відбувається фазове перетворення рідини на пару, а потім знову в рідину при конденсації.

У виробництві планується використовувати дистилятор STILMAS MS 4007 HPS [121] (рис. 7) продуктивністю до 8,3 м³/год.



Рис. 7. Дистилятор компанії «STILMAS»

Модель STILMAS MS 4007 HPS для отримання води для ін'єкцій (ВДІ) складається з семи колон і не потребує охолоджуючої води. Крім того, для отримання 1 л ВДІ витрачається не більше 0,2 кг промислової пари. Така висока енергоефективність обладнання STILMAS дозволяє до мінімуму знизити собівартість ВДІ.

Семиколонні моделі дистиляторів STILMAS не потребують подачі охолоджуючої води, оскільки для них немає необхідності в кінцевому теплообміннику-охолоджувачі. Ця перевага стає можливою завдяки більш високій ефективності використання енергії гріючої пари. Основними відмінностями дистиляторів STILMAS є унікальний дизайн і конструкція колон з випарником у верхній частині колони, що працює за принципом тонкоплівкового випаровування, а також базове використання допоміжних теплообмінників.

Всі частини, що контактують з водою, виготовлені з нержавіючої сталі марки AISI 316L - з внутрішнім поліруванням $Ra < 0,6$ мкм і зварені за допомогою орбітального зварювання.

Дистилятор STILMAS має сучасну автоматичну систему керування на базі PLC Siemens S7 з панеллю керування Siemens TP 1200 COMFORT, що дозволяє повністю автоматизувати роботу обладнання [121].

7.5.2. Змішування компонентів препарату

Для процесу приготування розчину для ін'єкцій на виробництві планується використовувати реактори-змішувачі від компанії «Тесніох» [122] (рис. 8).



Рис. 8. Реактор-змішувач компанії «Тесніох»

Матеріали, які використовуються для виробництва реакторів є нержавіюча сталь 316L для деталей, які безпосередньо контактують із продуктом, і нержавіюча сталь 304 для інших.

Реактори вертикальної та горизонтальної орієнтації можуть бути встановлені як стаціонарний блок або бути рухомими. Вони можуть бути

виконані в одно-, дво- або тристінних варіантах; конусоподібне, плоске або торосферичне дно реактора.

Обробка поверхні може бути: шліфувана всередині і зовні; скотч-брайт; механічне полірування; пасивований; шорсткість електрополірованої поверхні до $Ra < 0,4$ мкм; вміст дельта-фериту: $< 1\%$ матеріалу, $< 3\%$ зварних швів.

Ємність може бути частково або повністю утеплена мінеральною ватою, ізоляція покрита зварною зовнішньою ізоляційною оболонкою.

Реактор використовується при атмосферному тиску; бак під тиском (від -1 до 10 бар) виготовляється відповідно до Директиви PED 2014/68/EU, стандарту AD Merkblatt або EN 13445, Asme, Selo [122].

7.5.3. Фільтрація розчину для ін'єкцій та його розлив у флакони

Процес фільтрації розчину для ін'єкцій та одночасно процес його розливу у флакони ємністю 50 мл буде здійснюватися за використання обладнання SYFPAC[®] LVP компанії «Angela brevetti», яка працює за використання технології BFS (видування-наповнення-запаювання) [123] (рис. 9).



Рис. 9. Обладнання SYFPAC[®] LVP компанії «Angela brevetti»

SYFPAC[®] LVP призначений для асептичної первинної упаковки парентеральних препаратів у пластикові флакони об'ємом від 50 до 1000 мл. Він підходить для виробництва самозбірних флаконів і для наповнення різних рецептур, з конструкціями до 2500 мл для спеціальних застосувань.

Чисте приміщення. Компактний розмір машини дозволяє зменшити розмір чистого приміщення лише до 36 м², де потрібен лише клас чистоти С або D. Також є опція для технології Ultraclean, яка розділяє чорні та білі зони приміщення, щоб ще більше зменшити вимоги до розмірів.

Продуктивність. Машина SYFPAC® LVP може досягати до 2000 флаконів на годину. Підходить для масового виробництва, машина може працювати 24/7 і забезпечує одну з найчистіших технологій для пакування внутрішньовенних рідин. Міцна конструкція машини разом із розумною програмою профілактичного обслуговування запобігає поломкам і несподівано дорогому техобслуговуванню.

Висока гнучкість. Форми можуть працювати з PP, PE або HDPE, без заміни деталей. Цей широкий вибір матеріалів, доступних у всьому світі, дає змогу пакувати різноманітні склади з низькою в'язкістю та температурою від 4°C до 30°C. Флакони BFS мають оптимальну стійкість до кінцевої стерилізації, а також чудову стабільність продукту та термін придатності. Товщину стінки заготовки легко контролювати, щоб виробляти контейнери від прозорих до непрозорих, від дуже жорстких до легких, і особливо здатних до самозгортання, щоб імітувати гнучкі пакети. Пластикові флакони, що самозгортаються, мають усі переваги гнучких мішків, крім того, вони не потребують вентиляційного отвору під час введення та є фактично більш економічними [123].

7.5.4. Стерилізація розчину

На даному етапі проводять стерилізацію розчину в первинній упаковці за використання парового стерилізатора MST-H компанії «Belimed» [124] (рис. 10).



Рис. 10. Паровий стерилізатор MST-H

Парові стерилізатори MST-H з горизонтальними розсувними дверцятами забезпечують високу продуктивність, ефективність використання ресурсів і економічну ефективність.

Особливості:

- ✓ Удосконалена технологія процесу для зменшення споживання води та швидких циклів;
- ✓ Системи подовженого терміну служби дверних ущільнювачів завдяки високоточному фрезеруванню ущільнювального отвору;
- ✓ Малошумний вакуумний насос, інтегрований парогенератор і труби з нержавіючої сталі з мінімальною кількістю фланцевих з'єднань;
- ✓ Легкий і великий доступ до послуг;
- ✓ Широкий вибір опцій, таких як зовнішній вакуумний насос, вбудований тест Боуї-Діка та перемикання пари для високої гнучкості;
- ✓ Запатентований дисплей стану зі світлодіодною технологією [124].

7.5.5. Пакування флаконів у вторинне пакування

На етапі пакування флаконів у вторинну упаковку (картонну коробку) планується використовувати картонажну машину Topload Cartoning Machine IWK TL [125] (рис. 11).



Рис. 11. Картонажна машина Topload Cartoning Machine IWK TL.

Особливості:

Високоєфективне виробництво

- Автоматична зміна формату
- Швидка зміна формату
- Неперевершена компактність
- Сучасне управління

Чудова універсальність

- Модульна конструкція
- «Розумна» транспортна система
- Можливість універсального компонування
- Підходить для всіх дизайнів упаковки

Повна відповідність вимогам GMP

- Сучасний дизайн
- Сучасні методи очищення лінії
- Високі стандарти гігієни

Параметри форматів залежно від типу пачки/продукту:

Довжина пеналу (A): 90-180 мм

Ширина пеналу (B): 50-150 мм

Висота пеналу (H): 15 - 80 мм

Продуктивність: 80-210 пач/хв

Рама машини та корпус шафи керування виготовлені зі сталі покриті порошковою фарбою, дверцята шафи керування та передні панелі у видимій області виконані з матової нержавіючої сталі. Шафи керування машини інтегровані як у верхню, так і нижню частину рами модуля. Кабелі та шланги, як правило, захищені всередину рами.

Прозорі захисні огороження виконані з полікарбонату, що дозволяє зберігати чітку видимість робочих зон. Великі захисні двері, оснащені кінцевими вимикачами, забезпечують зручний доступ до робочих зон при зміні формату та усунення несправностей. Захисні двері блокуються відповідно до принципу розриву ланцюга, двері автоматично розблоковуються після повної зупинки лінії [125].

РОЗДІЛ 8. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, яке зображене на апаратурній схемі, наведена в табл. 13.

Таблиця 13

Специфікація обладнання ділянки виготовлення ЛЗ

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ-1	Повірозабірник	1	Пристрій забірний, обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень. Фірма: ООО «НПЦ Вектор-Кондвент». Виробник: Україна[1].
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр першого ступеня очистки типу ФЯП, Фільтруючий матеріал – мати зі скловолокна, Е = 80 %, продуктивність – 1530 м ³ /год[2].
В-3	Вентилятор	1	Відцентровий вентилятор Ostberg TKS 300 А, Швеція [3].
Ф-4	Головний фільтр очистки повітря	1	Модель фільтра FMW. Ступінь очищення повітря 99%. Продуктивність фільтра складає 3400 м ³ /год.[4].
Т-5	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник-охолоджувач серії Swegon фірми «Parasol», (Німеччина) продуктивність 63 м ³ /год [5].

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	108
Консультант					Кафедра БТМ 110		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					РОЗДІЛ 8. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		

Продовження Таблиця 13

T-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Теплообмінник нагрівач серії NP70 фірми "DEFRO NP ", потік повітря 8268 м ³ /год, потужність 500 Вт, виготовлений з високоякісної котлової сталі [6].
H-7, H-18	Насос відцентровий	2	Насос відцентровий DAB KPF (Україна). Потужність двигуна – 0,370 кВт; Продуктивність – 0,06 м ³ /год; Висота подачі – 25 м [7].
УФ-8	Ультрафіолетова установка	1	В установці Electro Steriliser UV-C E-PP-55 використовується далекий короткохвильовий ультрафіолет типу С (УФ-С). із довжиною хвилі 254 нм [8].
ГФ-9	Грубий фільтр для очищення води	1	Raifil HMS-10B - магістральний фільтр Slim 10" з нержавіючої сталі для холодної води. Використовуються для видалення забруднень (мул, пісок, окислене залізо, суспензії) [9].
ПВ-10	Промислова система пом'якшення води	1	Продуктивність одного фільтру Ecosoft FU 2472CE15 складає 11,7 м ³ очищеної води за годину. Система працює в автоматичному режимі, а її обслуговування полягає лише в своєчасному додаванні таблетованої солі в ємність [10].
УФУ-11	Ультрафільтраційна установка	1	Система ультрафільтрації Toray UFS 1672T-S. <ul style="list-style-type: none"> ✓ Продуктивність: до 96 м³/год ✓ Кількість та типорозмір мембран: 16 x HFU - 2020N ✓ Площа фільтрації: 1152 м² ✓ Споживання води при зворотному промиванні: 1,28 м³ ✓ Піковий скидання води при зворотному промиванні: 106 м³/год ✓ Вихідний тиск: 1,0 - 7,0 атм [11].

30-12	Система зворотнього осмосу	1	Система зворотнього осмосу Aquarum AMRO-18K. Базова комплектація установки наступна: <ul style="list-style-type: none"> ✓ сталева рама, покрита емаллю; ✓ насос високого тиску; ✓ мембраноутримувачі з нержавіючої сталі AISI304; ✓ префільтр тонкої очистки з фільтроелементом 5 мкм; ✓ трубна обв'язка PPR (FV-plast, Чехія); ✓ електрична шафа управління з промисловим контролером і ручним режимом управління [12].
CE-13	Система електродеіонізації	1	Наша лінійка EDI включає 14 стандартних модулів з продуктивністю до 60 м ³ /год. кожна серія розроблена з використанням високоякісних компонентів, що забезпечують максимальну надійність і простоту обслуговування [13].
3-14	Збірник	1	Збірник об'ємом 1 м ³ , виготовлений із нержавіючої сталі AISI 304. Виробник: ТОВ «Метал сервіс груп», Україна [14].
CD-15	Семиколонний дистилятор	1	Дистилятор STILMAS MS 4007 HPS продуктивністю до 8,3 м ³ /год.
Д-16	Дозатор об'ємно-ваговий	1	Дозатор VD1-V8 (Україна). Обсяг дозуючої речовини - 0,2-400 кг [15].
РЗ-17	Реактор-змішувач для приготування розчину для ін'єкцій	1	Реактор об'ємом 630 л фірми «Діоніс» (Україна), оснащений перемішувачем. Загальна швидкість перемішування 100 об/хв [16].

РП-19	Установка для розливу у полімерні флакони SYFPAC	1	SYFPAC® LVP призначений для асептичної первинної упаковки парентеральних препаратів у пластикові флакони об'ємом від 50 до 1000 мл. Він підходить для виробництва самозбірних флаконів і для наповнення різних рецептур, з конструкціями до 2500 мл для спеціальних застосувань.
ПС-20	Паровий стерилізатор	1	Парові стерилізатори MST-H з горизонтальними розсувними дверцятами забезпечують високу продуктивність, ефективність використання ресурсів і економічну ефективність.
КМ-21	Картонажна машина	1	Картонажна машина Topload Cartoning Machine IWK TL. Продуктивність: 80-210 пач/хв.

Примітка:

1. <https://www.c-o-k.ru> (Пристрій забірний).
2. <http://www.airpol.com.ua> (Фільтр першого ступеня очистки).
3. <https://bioclimat.com.ua> (Вентилятор).
4. <http://www.airpol.com.ua> (Модель фільтра FMW).
5. <https://promvit.com.ua> (Теплообмінник-охолоджувач серії Swegon фірми «Parasol»).
6. <http://defro.ua> (Теплообмінник нагрівач).
7. <http://www.dabpump.com.ua> (Відцентровий насос).
8. <https://aquapolis.ua> (Ультрафіолетова установка).
9. <https://aquapure.com.ua> (Грубий фільтр).
10. <https://prom.ua> (Промислова система пом'якшення води).
11. <https://prom.ua> (Ультрафільтраційна установка).
12. <https://www.aqua-room.com.ua> (Система зворотного осмосу).
13. <https://www.eurowater.com> (Система електродеіонізації).
14. <https://odessa.flagma.ua/> (Збірник).
15. <https://prom.ua> (Дозатор об'ємно-ваговий).
16. <https://odessa.flagma.ua> (Реактор-змішувач для приготування розчину).

РОЗДІЛ 9. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема виготовлення розчину для ін'єкцій, що містить тилозин, включає допоміжні роботи (підготовка вентиляційного повітря та підготовка води для ін'єкцій) та технологічний процес (приготування розчину для ін'єкцій, фільтрація розчину та розлив у флакони, стерилізація розчину у первинному пакуванні, а також пакування та маркування у вторинну упаковку).

Технологічну схему наведено у графічній частині.

ДР 1. Підготовка вентиляційного повітря.

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

При визначенні місця забору зовнішнього повітря необхідно враховувати існуючі та можливі джерела аерозольних і газоподібних забруднень (димарі, автотранспорт, газоподібні промислові викиди, квітучі рослини та ін). Забір повітря проводиться за допомогою повітрозабірника (ПЗ-1). Забір атмосферного повітря відбувається на висоті близько 20 – 30 м.

ДР 1.2. Грубе очищення повітря

На стадії попереднього очищення повітря видаляється основна маса великих частинок пилу діаметром понад 10 мкм. В якості фільтрів попереднього очищення використовують – фільтри грубої очистки G 3 (Ф-2), злегка змащене пружне скловолокно спеціального плетіння. Всередині фільтра розташовані дві решітки, між якими поміщають фільтруючий матеріал. Ступінь очищення становить $E = 80\%$.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Гвоздь К.С.			РОЗДІЛ 9. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.					142	112
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		114

ДР 1.3. Попередня фільтрація на фільтрах тонкої очистки

Попередня фільтрація відбувається на фільтрі F 6 (Ф-3), який призначений для попередньої очистки повітря від великодисперсних часток розміром більше 5 мкм (великий пил, продукти корозії), а також для захисту більш ефективного фільтру тонкої очистки. Ступінь очищення повітря 98%.

ДР 1.4. Стабілізація термодинамічних показників

Повітря за допомогою вентилятора (В-4) подається до кожухотрубного теплообмінника (Т-5), охолоджується за допомогою хладагенту фреону або підігрівається до 21–23⁰ С за допомогою теплообмінника-нагрівача (Т-6) в залежності від пори року, коли проводиться забір повітря. Вологість повітря повинна перебувати в межах 30-60%. Після цього повітря направляється до виробничих приміщень класу чистоти С/D.

ДР 2. Отримання води для ін'єкцій.

ДР 2.1. Обробка в установці UV-знезараження.

Вода з міського водопроводу за допомогою відцентрового насоса (Н-7) подається до установки UV-знезараження (УФ-8). Руйнування органічних елементів відбувається на клітинному рівні завдяки УФ-С-опроміненню з довжиною хвилі 254 нм. Вплив ультрафіолету такої сили запобігає росту та розвитку мікробів.

ДР 2.2. Очищення на грубому фільтрі.

Після установки UV-знезараження (УФ-8) вода поступає на фільтр грубої очистки (ГФ-9). Даний етап забезпечує видалення з води таких забруднень, як мул, пісок, окислене залізо, зависі.

ДР 2.3. Пом'якшення води.

Вода після фільтр грубої очистки (ГФ-9) поступає в установу для пом'якшення води (ПВ-10). Система складається всього з двох модулів — балону з йонообмінною смолою та бака-солерозчинника. Балон (колона) виготовляється з стійкого до корозії полімерного композиційного матеріалу. Всередині знаходиться йонообмінна смола Dowex®, виробництва компанії

Dow Chemical (США). Пом'якшення води здійснюється в один етап. Попередньо очищена від механічних домішок вода подається в корпус фільтру, заповненої іонообмінною смолою. Вода пропускається через шар смоли, при цьому йони жорсткості затримуються на смолі, а очищена вода через центральну трубу корпусу подається споживачеві.

Завдяки здатності іонообмінної смоли до регенерації, термін її експлуатації може складати до 5 років. Відновлення робочих характеристик матеріалу здійснюється шляхом промивки розчином таблетованої солі, який готується в окремому баці-солерзчиннику. Як і очищення води, процес регенерації фільтруючого матеріалу здійснюється в автоматичному режимі.

ДР 2.4. Очищення в ультрафільтраційній установці.

Після установки для пом'якшення води (ПВ-10) вода поступає до ультрафільтраційної установки (УФУ-11). Дана система мембранної очистки води дає змогу відділити частинки розміром до 0,01 мкм.

ДР 2.5. Очищення в системі зворотного осмосу.

Вода, яка пройшла процес ультрафільтрації, далі надходить до системи зворотного осмосу (ЗО-12). Зворотний осмос видаляє забруднення і небажані молекули з води коли тиск проштовхує її через напівпроникну мембрану. В результаті цього розчинена речовина залишається на боці мембрани, а чистий розчинник може переходити на іншу сторону. Фільтр для води зі зворотним осмосом видаляє шкідливі домішки, солі важких металів, включаючи мідь, цинк, кадмій, нікель, залізо, а також хлор, пестициди і гербіциди, суспензії, фтор, миш'як. Ступінь очищення води на даному етапі складає 99%.

ДР 2.6. Електродеіонізація води.

Після системи зворотного осмосу (ЗО-12) вода направляється до наступної системи очищення, а саме системи електродеіонізації (СЕ-13). Електродеіонізація (EDI) використовується після зворотного осмосу для доочищення демінералізованої води з метою отримання низьких рівнів електропровідності і діоксиду кремнію. Чистота води на даному етапі вже дорівнює 99,99999991 %, а питомий опір становить 18 МОм·см. Після

процесу електродеіонізації вода очищена поступає в збірник (З-14) для подальшої її очищення.

ДР 2.7. Дистиляція води.

Зі збірника для води очищеної (З-14) вода поступає до семиколонного дистилятора (СД-15) для здійснення власне процесу дистиляції. Отримана на цьому етапі вода для ін'єкцій далі використовується для приготування розчину для ін'єкцій, що містить тилозин.

ТП 12. Приготування розчину для ін'єкцій.

ТП 12.1. Змішування компонентів препарату.

У реактор-змішувач (РЗ-17) завантажують воду для ін'єкцій (від ДР 2.7), вносять за допомогою дозатора (Д-16) субстанцію тилозину, пропіленгліколь та спирт бензиловий, перемішують до повного розчинення. Для інтенсифікації процесу розчин підігрівають до температури 40–60 °С.

ТП 13. Фільтрація розчину та розлив у флакони.

ТП 13.1. Фільтрація розчину для ін'єкцій.

Отриманий на попередньому етапі розчин за допомогою насоса (Н-18) направляється до установки для розливу у полімерні флакони SYFPAC (РП-19), яка працює за технологією BFS. Розчин спочатку потрапляє в бак-накопичувач даного устаткування, а потім з нього вже надходить на лінію BFS. На вході в BFS-лінію розчин стерилізується за допомогою фільтрації, після чого потрапляє в систему розливу, яка розташована в чистій зоні, яке відповідає асептичним умовам класу 100-ISO 5 - Тип А для зони наповнення.

ТП 13.2. Розлив профільтрованого розчину у флакони.

Процес розливу розчину в установці для розливу у полімерні флакони SYFPAC (РП-19) відбувається за технологією BFS та складається з наступних етапів:

- ✓ Перший етап починається з екструзії заготовки – розплавленого «рукава», виготовленого з полімерного матеріалу. Під впливом повітря або вакууму (або комбінації цих двох способів) заготовка, приймаючи форму гнізда прес-форми, перетворюється на ємність.

Верхня частина виготовленої ємності відкрита і знаходиться в напіврозплавленому стані доти, доки ємність не буде заповнена та запаяна;

- ✓ Наступний етап – наповнення ємності, яке виконується зверху (верхня частина пластмасової ємності все ще знаходиться у напіврозплавленому стані). Заливальні форсунки входять у верхню частину ємності та заповнюють її. Конструкція форсунок дозволяє їх автоматичне чищення та стерилізацію. Крім того, форсунки використовуються для видування флаконів і в них передбачена віддушину, через яку виходить повітря під час заповнення ємностей. Процес наповнення може супроводжуватися подачею стерильного фільтрованого повітря, щоб уникнути забруднення. Повітряний компресор автоматично регулює тиск стерильного повітря, що подається, забезпечуючи однакову швидкість його подачі в різних умовах. Автоматичний пристрій керування підтримує тиск потоку стерильного повітря на встановленому значенні;
- ✓ На наступному етапі відбувається запаявання верхньої частини ємності, яка залишалася відкритою, поки полімерна маса в цій частині перебувала у напіврозплавленому стані. Шийка ємності пресується головками прес-форм і одночасно охолоджується, в результаті чого відбувається формування верхньої частини ємності і виходить герметично закрита ємність;
- ✓ Кінцевим етапом є видалення залишків полімерного матеріалу з ємності та її виведення з машини.

ТП 14. Стерилізація.

ТП 14.1. Стерилізація розчину у первинному пакуванні.

Отримані на попередньому етапі флакони з розчином для ін'єкцій персоналом виробництва вкладаються в спеціальні касети, які потім поміщають до парового стерилізатора (ПС-20). У паровому стерилізаторі

(ПС-20) розчин у флаконах стерилізується за температури 121°C протягом 15 хв. Простерилізовані флакони з розчином далі направляються на стадію пакування у вторинну упаковку.

ПМВ 15. Пакування та маркування флаконів.

ПМВ 15.1. Пакування та маркування флаконів у вторинну упаковку.

Флакони з розчином для ін'єкцій, які пройшли стерилізацію, надходять до картонажної машини (КМ-21) де відбувається пакування флаконів у вторинну упаковку. Під час даного процесу 1 флакон вкладається в картонну коробку, а також одночасно вкладається інструкція щодо застосування. Також відбувається маркування упаковки, шляхом нанесення номеру серії, а також термін придатності. Правильність пакування та маркування контролюється безпосередньо в процесі персоналом виробництва.

РОЗДІЛ 10. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД)

Препарат тилозину у Анатомарно – терапевтичній системі класифікації у ветеринарії (АТСvet) займає наступне місце [126]:

QJ Протимікробні препарати для системного використання

QJ01 Антибактеріальні засоби для системного застосування

QJ01F Макроліди, лінкозаміди і стрептограміни

QJ01FA Макроліди

QJ01FA90 Тилозин

Характеристика кінцевої продукції виробництва. Цільовим продуктом є препарат для ветеринарної медицини «Тилозин-50», що містить 50 мг тилозину, виробництва компанії «Bazalt» (Україна) [127].

Фармакологічні властивості: Тилозин – макролідний антибіотик, протимікробна дія якого базується на пригніченні бактеріального синтезу протеїнів внаслідок зв'язування активної речовини з рибосомами. Препарат активний проти грам позитивних і грам негативних бактерій, а також мікоплазм.

Застосування: ВРХ, кози і вівці: лікування пневмонії, маститу, пневмоентериту, отитів, артритів, вторинних інфекцій при вірусних захворюваннях. Свині: лікування ензоотичної пневмонії, артрити, дизентерії, вторинних інфекцій при вірусних захворюваннях, атрофічного риніту. Собаки та коти: лікування захворювань шлунково – кишкового тракту та органів дихання.

Дозування: два рази на день у дозі (табл.14):

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	118
Консультант					РОЗДІЛ 10. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД (ПРОЕКТ АНД)		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					Кафедра БТМ 120		

Таблиця 14

Вид тварин	Тілозин – 50, мл/кг	Тілозин – 200, мл/кг
ВРХ	8-20 мл/100 кг	2-5 мл/100 кг
Вівці, кози	10 мл/50 кг	2-5 мл/50 кг
Телята	10 мл/50 кг	2-5 мл/50 кг
Коні	10 мл/50 кг	2-5 мл/100 кг
Поросята	2 мл/10 кг	2-5 мл/50 кг
Собаки, коти	2 мл/10 кг	-

Курс лікування 3-5 днів.

Застереження: Забій тварин на м'ясо дозволяється: через 8 днів (ВРХ) та 4 дні (свині, кози, вівці) після останнього введення препарату. Споживання молока дозволяється через три дні після останнього введення препарату. До зазначеного терміну м'ясо та молоко згодують непродуктивним тваринам або утилізують (залежно від висновку ветлікаря).

Протипоказання: підвищена чутливість до препарату.

Форма випуску: у герметично закритих флаконах по 50 см³.

Зберігання: сухе темне місце при температурі від +5 до +25°C.

Термін придатності: препарату 3 роки [127].

СПЕЦИФІКАЦІЯ

на Тилозин-50 (розчин для ін'єкцій)

Таблиця 15

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю [128]
<i>Опис</i>	Прозора світло-жовта рідина	За п.1 СП, візуально
<i>Ідентифікація</i>	На хроматограмі випробуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відповідні їм за розміром і забарвленням.	За п.2 СП, ДФУ 2.2.27
<i>Вміст одного флакону</i>	Не менше від заявленого об'єму	За п.3 СП
<i>pH</i>	Від 5,5 до 7,0	За п.4 СП, ДФУ 2.2.3

Супровідні домішки	Сума будь-яких додаткових домішок: не більше 8.0 %; Не враховують: пік бензилового спирту	За п.5 СП, ДФУ 2.2.29
Стерильність	Має витримувати випробування на стерильність	За п.6 СП, ДФУ 2.6.1
Кількісне визначення	Вміст тилозину в 1 мл розчину має бути від 45 мг до 55 мг.	За п.7 СП, ДФУ 2.2.29
Бактеріальні ендотоксини	Менше 0.6 МО/мг тилозину	За п.8 СП, ДФУ 2.6.14
Механічні включення: невидимі частинки	Середня кількість частинок у випробовуваних одиницях не перевищує 6000 в 1 контейнері для частинок розміром 10 мкм або більше і не перевищує 600 в 1 контейнері для частинок розміром 25 мкм або більше	За п.9 СП, ДФУ 2.9.19
Упаковка	У герметично закритих флаконах по 50 см ³ . По 1 флакону разом з інструкцією для застосування поміщають у пачку із картону для споживчої тари.	
Маркування	Згідно затвердженого тексту маркування	
Термін придатності	3 роки	
Умови зберігання	Сухе темне місце при температурі від +5 до +25°C.	

1. Опис. Прозора світло-жовта рідина.

2. Ідентифікація.

А. Тонкошарова хроматографія.

Випробовуваний розчин. Об'єм розчину для ін'єкцій розводять метанолом Р до одержання розчину з концентрацією 5 мг/мл тилозину.

Розчин порівняння. Готують розчин ФСЗ тилозину тартрату у воді Р з концентрацією 5 мг/мл тилозину тартрату.

Тонкий шар: силікагель GF₂₅₄Р.

Рухома фаза: аміаку розчин концентрований Р – толуол Р – метанол Р (1.5:30:70).

Об'єм проб: 10 мкл.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 3/4 довжини пластинки.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують калію йодовісмутату розчином розведеним Р.

Результати: на хроматограмі випробуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відповідні їм за розміром і забарвленням.

3. Вміст одного флакону.

Відбирають 30 флаконів.

Струшують вміст кожного з 10 флаконів, обережно, щоб уникнути утворення повітряних бульбашок, виливають вміст кожного флакону в окремі сухі мірні, калібровані циліндри, місткість яких не більше ніж в 2,5 рази більше вимірюваного об'єму. Вмісту кожного флакону дають стікати протягом не більше 30 хв для недозованих препаратів. Після зникнення повітряних бульбашок вимірюють об'єм рідини в кожному циліндрі.

Лікарський препарат вважається таким, що витримує випробування, якщо середнє значення об'єму вмісту 10 флаконів не менше 100% (50 мл), і жоден з флаконів не повинен мати об'єм менш 95% (47,5 мл) від зазначеного на етикетці.

Якщо середнє значення об'єму вмісту 10 флаконів менше 100% (50 мл) від зазначеного на етикетці, але жоден з флаконів не має об'єм менше 95% (47,5 мл) або середнє значення об'єму вмісту 10 флаконів становить 100% (50 мл) і обсяг не більше ніж одного флакону менше 95% (47,5 мл), але не менше 90% (45 мл) від зазначеного на етикетці, то виконують випробування на 20 додаткових флаконах.

Середнє значення об'єму вмісту 30 флаконів повинна становити не менше 100% (50 мл) від об'єму, зазначеного на етикетці, і об'єм не більше ніж одного з 30 флаконів може бути менше 95% (47,5 мл), але не менше 90% (45 мл) від зазначеного на етикетці.

4. рН. рН — число, яке умовно характеризує концентрацію іонів водню у водних розчинах. На практиці рН визначають експериментально. рН випробовуваного розчину пов'язане з рН стандартного розчину (pH_s) таким рівнянням:

$$pH = pH_S - \frac{E - E_S}{k},$$

де:

E - потенціал електрода у випробовуваному розчині, у вольтах;

E_S - потенціал того ж електрода в розчині з відомим рН (pH_S), у вольтах;

k - температурний коефіцієнт, що дорівнює зміні потенціалу при зміні значення рН на одиницю, виражений у вольтах, який розраховують за рівнянням Нернста (табл.16).

Таблиця 16

Значення k при різних температурах

Температура (°C)	k (V)
15	0.0572
20	0.0582
25	0.0592
30	0.0601
35	0.0611

Потенціометричне визначення рН проводять шляхом вимірювання різниці потенціалів між двома відповідними електродами, зануреними у випробовуваний розчин: один з електродів чутливий до іонів водню (звичайно скляний електрод), другий - електрод порівняння (наприклад, насичений каломельний електрод).

Методика. Усі вимірювання проводять при тій самій температурі в інтервалі від 20 °С до 25 °С, якщо немає інших зазначень в монографії. Якщо необхідно, враховують температурні поправки відповідно до інструкції виробника. Прилад калібрують за допомогою буферного розчину калію гідрофталату (первинний стандарт) і одного з буферних розчинів з іншим значенням рН. Показання приладу для третього буферного розчину з проміжним значенням рН не мають відрізнятись більше як на 0.05 одиниць рН від табличного значення рН цього розчину. Електроди занурюють у випробовуваний розчин і вимірюють рН у тих самих умовах, що і для буферних розчинів.

Якщо прилад використовують часто, його калібрування проводять регулярно. У протилежному разі калібрування приладу має проводитися перед кожним вимірюванням.

Усі випробовувані розчини і стандартні буферні розчини мають бути приготовані на воді, вільній від вуглецю діоксиду, Р.

5. Супровідні домішки (рідинна хроматографія).

Випробуваний розчин. Об'єм розчину для ін'єкцій розводять рухомою фазою до одержання розчину з концентрацією 3 мг/мл тилозину.

Розчин порівняння. Готують розчин, що містить ФЗС лінкоміцину гідрохлориду, ФЗС тилозину тартрату і бензиловий спирт Р, у рухомій фазі з концентрацією 0,12 мг/мл лінкоміцину гідрохлориду, 0,24 мг/мл тилозину тартрату і бензилового спирту (0,0015 %, об./об.).

Інжекції: 20 мкл.

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння: лінкоміцину гідрохлорид, тилозину тартрат і бензиловий спирт.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

- ступінь розділення: не менше 7,7 між піками лінкоміцину гідрохлориду та тилозину тартрату.

Розраховують вміст супровідних домішок методом внутрішньої нормалізації на хроматограмі випробуваного розчину.

Нормування:

- Сума будь-яких додаткових домішок: не більше 8.0 %;
- Не враховують: пік бензилового спирту.

6. Стерильність.

Випробування методом мембранної фільтрації. Використовують мембранні фільтри з номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм, здатні ефективно затримувати мікроорганізми. Для водних, розведених спиртових розчинів та розчинів в оліях використовують, наприклад, целюлозно-нітратні мембранні фільтри, а для концентрованих спиртових розчинів — целюлозно-

ацетатні мембранні фільтри. Якщо необхідно, для деяких лікарських засобів, наприклад для антибіотиків, можуть бути використані спеціальні мембранні фільтри.

Використовують мембранні фільтри діаметром близько 50 мм. При використанні мембранних фільтрів іншого діаметра об'єм розчинника та промивної рідини змінюють відповідним чином. Фільтраційну установку та мембранні фільтри стерилізують підходящим способом. Конструкція фільтраційної установки має забезпечувати асептичні умови при внесенні та фільтрації лікарського засобу, а також при видаленні мембранного фільтра для переносу його у живильне середовище або має дозволяти проводити інкубацію посівів безпосередньо у самій установці після додавання в неї живильного середовища.

Перед початком випробування рекомендується пропустити крізь мембранний фільтр невелику кількість підходящого стерильного розчинника, наприклад нейтрального розчину 1 г/л м'ясного або казеїнового пептону із значенням рН $7,1 \pm 0,2$. Розчинник може містити відповідні нейтралізатори та/або відповідні інактиватори, наприклад, при випробуванні антибіотиків.

Вміст контейнера(ів) із випробуваним зразком переносять на мембранний фільтр або мембранні фільтри. Якщо необхідно, попередньо доводять об'єм зразка відповідним стерильним розчинником до того самого об'єму, що і при перевірці придатності методики. Відразу фільтрують. Якщо лікарський засіб має антимікробну активність в умовах випробування, мембранний фільтр відмивають не менше трьох разів, пропускаючи крізь нього при кожному відмиванні той самий об'єм обраного стерильного розчинника, що і при перевірці придатності методики. Загальний об'єм промивної рідини не має перевищувати п'яти порцій по 100 мл на один мембранний фільтр, навіть у тому разі, коли при перевірці придатності методики встановлено, що такий режим відмивання мембранних фільтрів не дозволяє повністю усунути антимікробну активність лікарського засобу. Після відмивання мембранний фільтр переносять у живильне середовище або

розрізають його, дотримуючись правил асептики, на дві рівні частини, кожен з яких поміщають у відповідне живильне середовище. Використовують ті самі кількості живильного середовища, що і при перевірці придатності методики. При використанні установки закритого типу живильне середовище вносять безпосередньо в установку. Посіви інкубують не менше 14 діб.

7. Кількісне визначення.

Рідинна хроматографія.

Випробуваний розчин. Точно вимірний об'єм розчину для ін'єкцій розводять рухомою фазою до одержання розчину з концентрацією 0,15 мг/мл тилозину тартрату.

Розчин порівняння (а). Готують розчин ФЗС тилозину тартрату у рухомій фазі з концентрацією 0,18 мг/мл тилозину тартрату.

Розчин порівняння (b). Готують розчин, що містить ФЗС лінкоміцину гідрохлориду, ФЗС тилозину тартрату і бензиловий спирт Р, у рухомій фазі з концентрацією 0,12 мг/мл лінкоміцину гідрохлориду, 0,24 мг/мл тилозину тартрату і бензинового спирту (0,0015 %, об./об.).

Колонка:

—розмір: 0.20 м x 4.6 мм;

— нерухома фаза: силікагель для хроматографії, октилсилільний Р (10 мкм).

Рухома фаза: ацетонітрил Р1 - розчин 13.6 г/л калію дигідрофосфату Р, рН якого доведено до 2.5 фосфорною кислотою Р, (25:75).

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 210 нм.

Інжекції: 20 мкл.

Час хроматографування: у 3 рази більше часу утримування тилозину.

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння (b): лінкоміцину гідрохлорид, тилозину тартрат і бензиловий спирт.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

- ступінь розділення: не менше 7,7 між піками лінкоміцину гідрохлориду та тилозину тартрату.

8. Бактеріальні ендотоксини.

Випробування на бактеріальні ендотоксини (БЕТ - бактеріальні ендотоксини, тест) з використанням лізату амебоцитів мечохвоста (*Limulus polyphemus* або *Tachypleus tridentatus*) призначене для виявлення або кількісного визначення ендотоксинів, джерелом яких є грамнегативні бактерії. Існують три основні методологічні підходи проведення даного випробування: гель-тромб метод, заснований на утворенні гелю; турбідиметричний метод, заснований на появі каламутності після розщеплення ендогенного субстрату; хромогенний метод, заснований на появі забарвлення після розщеплення синтетичного пептид-хромогенного комплексу.

Випробування проводять будь-яким із шести наведених методів. При сумнівах або розбіжностях остаточний висновок ухвалюють на підставі результатів, одержаних при проведенні випробування методом А, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Випробування проводять за методикою, що дозволяє уникнути забруднення ендотоксинами.

9. Механічні включення: невидимі частинки.

Випробування необхідно здійснювати в умовах, що обмежують попадання механічних включень, найкраще в зоні ламінарного потоку повітря.

Дуже ретельно промивають використовуваний скляний посуд і фільтраційне обладнання, крім мембранних фільтрів, теплим розчином миючого засобу з подальшим обполіскуванням необхідною кількістю води для видалення слідів миючого засобу, безпосередньо перед випробуванням обполіскують обладнання від верху до низу, зовні і потім всередині собою, вільною від частинок, Р.

Необхідно виключити виникнення бульбашок повітря у випробовуваному зразку, особливо під час перенесення проби до посудини, в якій буде проводитися вимірювання.

Для того, щоб переконатися у відповідності умов проведення випробування необхідним вимогам і належній якості очищення скляного посуду і води, необхідно виконати таке випробування. Визначають наявність механічних включень у п'яти пробах води, вільної від частинок, Р (кожна по 5 мл) згідно з методикою, описаною нижче. Якщо у 25 мл об'єднаної проби кількість частинок розміром 10 мкм або більше перевищує 25, прийняті запобіжні заходи для проведення випробувань недостатні. Повторюють підготовчі стадії, доки обладнання, скляний посуд і вода не стануть придатними для проведення випробування.

Методика. Перемішують вміст зразка, повільно та безперервно перевертаючи контейнер 20 разів. Якщо необхідно обережно видаляють упаковку. Зовнішні поверхні контейнера, що розкривають, очищають струменем води, вільної від частинок, Р і розкривають контейнер, уникаючи внесення будь-якого забруднення. Для видалення бульбашок повітря використовують підходящу процедуру, наприклад відстоюють розчин протягом 2 хв або обробляють ультразвуком.

Для лікарських засобів для парентерального застосування великих об'ємів випробовують окремі дозовані одиниці. Для лікарських засобів для парентерального застосування малих об'ємів менше 25 мл об'єднують 10 або більше дозованих одиниць у чистому контейнері для одержання об'єму не менше 25 мл; в обґрунтованих і дозволених випадках випробовуваний розчин може бути приготований за допомогою змішування вмісту підходящої кількості флаконів і розведення до об'єму 25 мл водою, вільною від частинок, Р, або підходящим розчинником, вільним від механічних частинок, якщо вода, вільна від частинок, Р непридатна. Випробування лікарських засобів для парентерального застосування малих об'ємів із вмістом 25 мл або більше можуть бути проведені індивідуально.

Кількість випробовуваних зразків має бути достатньою для забезпечення статистично обґрунтованої оцінки. Для лікарських засобів для парентерального застосування великих об'ємів або малих об'ємів і вмістом 25 мл або більше можуть бути випробувані менше 10 дозованих одиниць із використанням підходящого плану відбору проб.

Препарат витримує випробування, якщо середня кількість частинок у випробовуваних одиницях не перевищує 6000 в 1 контейнері для частинок розміром 10 мкм або більше і не перевищує 600 в 1 контейнері для частинок розміром 25 мкм або більше.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:

1. Антибіотики у тваринництві: альтернатива чи загроза? [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://poultry.tekro.ua/health/item/50-antibiotiki-u-tvarinnictvi-alternativa-chi-zagroza.html>
2. Гаврилов А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов: учеб. для студентов учреждений высшего профессионального образования / А.С Гаврилов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.- 624 с.
3. Головей О.П. Конспект лекцій з дисципліни «Технологія антибіотиків та лікарських препаратів» - Кам'янське, 2017. -121с.
4. Грязнева Т.Н. Биологически активные вещества, продуцируемые бактериями рода Bacillus / Т.Н. Грязнева // Пробиотики для животных. - Electr. Дан. - Режим доступу: <http://probiotic-plus.ru/blog/biologicheski-aktivnyie-veshhestva-produtsiruemyie-bakteriyami-roda-bacillus> (дата звернення: 26.04.2020). - Загол. з екрана.
5. Мікробіологія: практикум, тести : навч. посіб. : [для студ. вищ. навч. закл.] / Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Білінська І. С. - Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2012. - 228 с.
6. Фармацевтическая биотехнология: Производство биологически активных веществ: учеб. пособие: в 2 ч.-Ч. 1 / Ю. М. Краснопольский, Н. Ф. Клещев - Харьков : НТУ: «ХПИ», 2013. - 304С.

					НУХТ БТЕК 02.02.03 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Гвоздь К.С.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О.О.				142	129
Консультант					Кафедра БТМ ³¹		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ							

7. Краснопольский Ю.М., Звягинцева О.В. Фармацевтическая биотехнология. Аспекты фармацевтической химии. Ю.М. Краснопольский, О.В. Звягинцева. - Харьков: НТУ «ХПИ», 2018. - 248 с.
8. Кузнецов, И. Н. Технология микробного синтеза антибиотиков, витаминов и ферментов. Лабораторный практикум : учебно-методическое пособие для студентов вузов по специальности 1-48 02 02 "Технология лекарственных препаратов" специализации 1-48 02 02 02 "Промышленная технология лекарственных препаратов" / И. Н. Кузнецов. - Минск : БГТУ, 2018. - 87 с.
9. Лич, І. В. Промислова технологія лікарських засобів : конспект лекцій для студ. освіт. ступ. "Бакалавр" спец. 162 "Біотехнології та біоінженерія" ден. форм навч. / І. В. Лич ; уклад. І. В. Лич; Нац. ун-т харч. технол. - К. : НУХТ, 2017. - 323 с.
10. Луканин, А. В. Инженерная биотехнология: основы технологии микробиологических производств : учебное пособие / А. В. Луканин. — Москва : ИНФРА-М, 2020. - 304 с.
11. Никольский Б. П. Справочник химика. Том 6. Сырье и продукты промышленности органических веществ / Б. П. Никольский - М.: Книга по Требованию, 2013. - 915 с.
12. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. - 2-е вид., доп. і перероб. - К.: НУХТ, 2010. - 632 с.
13. [Пирог Т.П., Пенчук Ю.М. Біохімічні основи мікробного синтезу: підручник – К.: Видавництво Ліра-К, 2019. – 304 с.](#)
14. Мікробні біотехнології: Навчальний посібник / Ямборко Г.В., Іваниця В.О.- Одеса: ОНУ імені І. І. Мечникова, 2014. - 128 с.
15. Abrioeul H., Franz C. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocin // FEMS Microbiol Rev. - 2011. - V. 35. - P. 201-232.

16. Avtsinov I. A., Sukhanova N., Kozhevnikov Yu. Modeling of Periodic Process of Cultivation of Microorganisms // Vestnik Tambovskogo gosudarstvennogo tehniceskogo universiteta. - 2018. - 24(1). - P. 116-123.
17. Babasaki, K.; Takao, T.; Shimonishi, Y.; Kurahashi, K.; Subtilosin, A. A new antibiotic peptide produced by *Bacillus subtilis* 168: isolation, structural analysis, and biogenesis // J. Bio Chem. - 2017. - V. 98(3). - P. 585-603.
18. Balouiri M., Bouhdid S., Harki E. Antifungal activity of *Bacillus* spp. isolated from *Calotropis procera* AIT. Rhizosphere against *Candida albicans* // Asian J. Pham. Clin. Res. - 2015. - V. 8. - P. 213-217
19. Barbosa J., Caetano T., Mendo S. Class I and Class II Lanthipeptides Produced by *Bacillus* spp. // J. Nat. Prod. - 2015. - V. 78(11). - P. 2850-2866.
20. Berdy J. Bioactive microbial metabolites // J. Antibiot. - 2005. - V. 58. - P. 1-26.
21. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* В СТРУКТУРЕ БЕЗОТХОДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ Н.В.Ширшиков, Ю.В. Редикульцев, Е.Н.Музафаров, А.Б. Гаврилов,-2016 file:///C:/Users/hvozd/Downloads/kultivirovanie-bacillus-subtilis-v-strukture-bezothodnoy-tehnologii-polucheniya-probioticheskogo-preparata-veterinarnogo-naznacheniya.pdf
22. Berhanu M., Abegaz Henok H. Kinfе R. Secondary metabolites, their structural diversity, bioactivity, and ecological functions: An overview // Physical Sciences Reviews. - 2019. - V. 4(6). - P. 1-2.
23. Bode H. B. Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites // Curr Opin Chem Biol. - 2009. - V.4. - P. 230.
24. Butler M.S., Cooper M.A. Antibiotics in the clinical pipeline in 2011 // J. Antibiot. - 2011. - V. 64, № 6. - P. 413-425.

25. Carrera E, Peterson S. N. Isolation and Screening of Antibiotic-Producing *Bacillus* and *Pseudomonas* Species // *Faseb.* - 2020. - V. 34(1). - 1 P.
26. Challinor V.L., Bode H.B. Bioactive natural products from novel microbial sources // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 2015. - V. 1354. - P. 82-97.
27. Chandra DS, Byng WY. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics // *J. of Microbiol.* - 2015. - V. 61 (2). - P. 93 - 103.
28. Cockerill A., Franklin R. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically // *Approved Standard.* - 2012. - V. 9. - 12 P.
29. García-Bayona L., Comstock L. Bacterial antagonism in host-associated microbial communities // *Science.* - 2018. - V. 361(6408). - 11 P.
30. Geoffry W., Hanlon A., Norman A. HODGES A. Bacitracin and Protease Production in Relation to Sporulation During Exponential Growth of *Bacillus licheniformis* on Poorly Utilized Carbon and Nitrogen Sources // *JOURNAL OF BACTERIOLOGY.* - 1981. - V. 147(2). - P. 427-431.
31. Guoqing N., Huarong T. Nucleoside antibiotics: biosynthesis, regulation, and biotechnology // *Trends in Microbiology.* - 2019. - V. 23(2). - P. 110-119.
32. Harwood C. R., Mouillon J.M., Pohl S., Arnau J. Secondary metabolite production and the safety of industrially important members of the *Bacillus subtilis* group // *FEMS Microbiology Reviews.* - 2018. - V. 42. - P. 721-738.
33. Hussein, A., and Al-Janabi, S. Identification of bacitracin produced by local isolate of *Bacillus licheniformis* // *Afr. J. Biotechnol.* - 2016. - V.5. - P. 161.
34. Hutchings M., Truman A., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future // *Current Opinion in Microbiology.* - 2019. - V. 51. - 72-80 P.

35. Parisot Judicaël, Sarah Carey, Eefjan Breukink, Weng C. Chan, Arjan Narbad, Boyan Bonev. Molecular Mechanism of Target Recognition by Subtilin, a Class I Lanthionine Antibiotic // *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*. - 2008. - V. 52(2). - 612-618 P.
36. Kaspar F., Neubauer P., Gimpel M. Bioactive Secondary Metabolites from *Bacillus subtilis*: A Comprehensive Review // *J. Nat. Prod.* - 2019. - V. 82(7). - 2038-2053 P.
37. Kiesevalter H., Lozano-Andrade C. N., Strube M. L., Kovács T. Secondary metabolites of *Bacillus subtilis* impact the assembly of soil-derived semisynthetic bacterial communities // *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. - 2020. - V. 16. - P. 2983-2998.
38. Lang C, Staiger C: Tyrothricin--An underrated agent for the treatment of bacterial skin infections and superficial wounds? // *Pharmazie*. - 2016. - V. 71(6). - P. 299-05.
39. Magaldi S., Mata-Essayag S., Hartung de Capriles C. Well diffusion for antifungal susceptibility testing // *J. Infect. Dis.* - 2004. - V. 2- P. 39-45
40. Meyers A., Furtmann C., Jose J. Direct optical density determination of bacterial cultures in microplates for high-throughput screening applications // *Enzyme Microb Technol.* - 2018. - V. 118. - P. 1-5.
41. Nordenfjäll E. Isolation of antibiotic producing microorganisms by screening for antibiotic resistance / Nordenfjäll Emma; Swedish University of Agricultural Sciences. - Uppsala, 2014. - P. 40.
42. Perez-Valdespino A., Li Y., Setlow B., Ghosh S., Pan D., Korza G., Feeherry F.E., Doona CJ, Li YQ, Hao B., Setlow P. Function of the SpoVAEa and SpoVAF proteins of *Bacillus subtilis* spores // *J Bacteriol.* - V. 196(11). - P. 2077-2088.
43. Ruiz-Villafán B., Cruz-Bautista R., Manzo-Ruiz M., Kumar Passari A., Villarreal-Gómez K., Rodríguez-Sanoja R., Sánchez R. Carbon catabolite regulation of secondary metabolite formation, an old but not well-

- established regulatory system // *Microbial Biotechnology*. - 2021. - V. 18. - P. 2-3.
44. Ruiz B., Chávez, A., Forero, A., García-Huante, Y., Romero, A., Sánchez, M. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source // *Crit. Rev. Microbiol.* - 2010. - V. 36. - P. 146-167.
45. Rukmini M., Debasish Sahoo, Jikasmitha Dalei, Ravitosh Ray. Production, purification and characterization of bacitracin from *Bacillus subtilis* / *The Pharma Innovation Journal*. - 2015. - V. 3(12). - P. 77-82.
46. Sajitha K. L., Suma A. D. Identification and Characterization of Lipopeptides from *Bacillus subtilis* B1 Against Sapstain Fungus of Rubberwood Through MALDI-TOF-MS and RT-PCR // *Current Microbiology*. - 2016. - V.73. - P. 46-53.
47. Sanchez S., Demain A.L. Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. *Microb Biotechnol.* - 2008. -V.1(4). - 319 P.
48. Singh B. P. , Rateb ME, Rodriguez-Couto S, Polizeli M., Li W-J. Editorial: Microbial Secondary Metabolites: Recent Developments and Technological Challenges // *Front. Microbiol.* - 2019. - V. 10. - 914 P.
49. Schallme M., Singh A., Ward O. P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production // *Canadian Journal of Microbiology* . - 2004. - V. 50. - P. 1-17.
50. Steinke K., Omkar S. Mohite, Tilmann Weber, Ákos T. Kovács. Phylogenetic Distribution of Secondary Metabolites in the *Bacillus subtilis* Species Complex // *mSystems*. - 2021. - V. 6 (2). - 15 P.
51. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: 3-d Ed.* / ed. by J. Swarbrick. - New York; London: Informa Healthcare, 2007. - 4128 P.
52. Sumi C.D., Yang B.W., Yeo I.C., Hahm Y.T. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics // *Can. J. Microbiol.* - 2015. - V. 61(2). - P. 93-103.

53. Temilade P., Ilesanmi F. Antimicrobial Activity of *Bacillus Subtilis* Against Some Selected Food Borne Pathogens // ACTA SCIENTIFIC MICROBIOLOGY. - 2019. - V. 2(7). - P. 89.
54. C. Valgas, S.M. De Souza, E.F.A. Smânia. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products // J. Microbiol. - 2017. - V. 38. - P. 369-380.
55. Wang T, Liang Y, Wu M, Chen Z, Lin J, Yang L. Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties // Chinese J Chem Eng. - 2015. - V. 23(3). - P. 754.
56. Zhenxiang LU, Weina GUO, and Chang LIU. Isolation, identification and characterization of novel *Bacillus subtilis* // Vet Med Sci. - 2018. - V. 80(3). - 427-433 P.
57. Стецько Т. І. Бактеріальні інфекції дихальних шляхів у великої рогатої худоби // Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. - 2020. – Том 21, №1. – С. 189-214.
58. USDA. 2012. Dairy Heifer Raiser, 2011 USDA–APHIS–VS, CEAH, National Animal Health Monitoring System (NAHMS), Fort Collins, CO #613.1012.
59. Baptista A.L., Rezende A.L., Fonseca P.A., Massi R.P., Nogueira G.M., Magalhães, L.Q. et al. Bovine respiratory disease complex associated mortality and morbidity rates in feedlot cattle from southeastern Brazil // *J Infect Dev Ctries*. - 2017. – Vol.11, N10. – P. 791-9.
60. Karle B.M., Maier G.U., Love W.J., Dubrovsky S.A., Williams D.R., Anderson R.J. et al. Regional management practices and prevalence of bovine respiratory disease in California's preweaned dairy calves // *J. Dairy Sci*. – 2019. – Vol. 102, N8. – P. 7583-96.

61. Windeyer M.C., Timsit E., Barkema H. Bovine respiratory disease in preweaned dairy calves: Are current preventative strategies good enough? // *Vet. J.* – 2017. – Vol. 224. – P. 16–17.
62. Barnes T., Hay K., Morton J., Schibrowski M., Ambrose R., Fowler E. et al. Epidemiology and management of bovine respiratory disease in feedlot cattle - final report (in press). *Meat and Livestock Australia Limited.* – 2014.
63. Lorenz I., Earley B., Gilmore J., Hogan I., Kennedy E., More S.J. Calf health from birth to weaning. III. Housing and management of calf pneumonia // *Ir Vet J.* – 2011. – Vol. 64, N1. – P. 14.
64. Zinka M. and Maid R. Mycoplasmas isolated from the respiratory tract of cattle in Bosnia and Herzegovina // *Anim. Vet.* – 2012. – Vol. 28. – P. 79-83.
65. Стефаник В. Ю. Мастит у нетелів і корів-первісток / В. Ю. Стефаник, М. О. Шпак // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Ґжицького.* - 2012. - Т. 14, № 2(1). - С. 318-329.
66. Korol, S.A.. Osnovni zakhvoriuvannia VRKh na molochnykh fermakh Ukrainy. Ch. 2. Profilaktyka mastytu koriv // *Suchasna veterynarna medytsyna.* - 2013. - Vol. 6. – P. 56–58 (in Ukrainian).
67. Vakkamäki J., Taponen S., Heikkilä A.M. et al. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds // *Acta Vet Scand.* – 2017. – Vol. 59. - P. 33.
68. Ayshpur O. Y. Mycoplasmal (enzootic) pneumonia of pigs // *The Animal Biology.* - 2014. - Vol. 16, N 2. – P. 9-17.
69. Тілозін-50 50 мл [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://basalt.net.ua/ua/tilozin-50/>
70. Tylosin tartrate [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.medchemexpress.com/Tylosin-tartrate.html>

71. Papich M. G. Tylosin // *Saunders Handbook of Veterinary Drugs*. - (2016). – P. 826–827.
72. Zakon Ukrainu “Pro Veterynarny Medycynu” iz zminamy zhidno iz Zakonamy (2020). – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/2498-12/page>
73. Pro zatverdzhennya Polozhen pro derzhavnu reestraciyu veterynarnykh preparative, kormovykh dobavok, premiksiv ta hotovykh kormiv. Postanova Kabinetu Ministriv Ukrainy No 1349 vid 21 Lystopada 2007 (st. 27). – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/1349-2007-%D0%BF> [in Ukrainian].
74. Косенко Ю. М., Остапів Н. В., Зарума Л. Є. Обіг протимікробних ветеринарних лікарських засобів в Україні, як чинник раціонального їх використання при лікуванні інфекційних захворювань тварин // *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*. – 2020. – Вип. 21, №1. – С. 88-97.
75. Rozporyadzhennya Kabinetu Ministriv Ukrainy N 116-r of 06.03.2019 “Pro zatverdzhennya Natsionalnogo planu dij zhodo borotby iz stijkistuy do protymicrobnykh preparative. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/116-2019-%D1%2019> [in Ukrainian].
76. Тилозин тартрат субстанція [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://vetfarm.kiev.ua/product/tilozin-tartrat-substancziya/>
77. Тілозину тартрат (гранулят), 15 кг (Huvepharma) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://vettorg.info/ua/atcvet/qj/qj01/tilozina-tartrat-granulyat-15-kg-huvepharma>
78. Тилозина тартрат [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.all.biz/tilozina-tartrat-g819360>
79. Тилозина тартрат субстанція [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.all.biz/tilozina-tartrat-substanciya-g21387590>

80. Тилозин тартрат [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.all.biz/tilozin-tartrat-g12847399>
81. Тилоциклинвет (тилозин, доксициклін) 1 г комплексний антибіотик для курчат, бройлерів, індиченят, поросят і ВРХ [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p36641055-tilotsiklinvet-tilozin-doksitsiklin.html>
82. Тилозин-50 (ДЛЯ ТВАРИН) розчин для ін'єкцій, 10 мл [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/Тилозин/1044293/>
83. Тилозин 20% 100 мл бровафарма [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zoovetbaza.com.ua/p640644078-tilozin-100-brovafarma.html>
84. Докситил [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://biopharm.vet/catalog/doksitilr>
85. Тилотрин [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://biopharm.vet/catalog/tilotrnr>
86. Фосфомакс [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://biopharm.vet/catalog/fosfomaksr>
87. Макролан ВП [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.invet.ua/product/macrolan-ws/>
88. Фармазин 50 (Pharmasin 50) 50мл-антибіотик тилозин (Huverpharma) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://shinshilka.ua/p175686560-farmazin-pharmasin-50ml.html>
89. Тілозомікол [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.farmaton.com.ua/uk/tilozomikolr>
90. Реатил-50(Тилозин 5%) 50мл [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://reagent.dp.ua/p297260662-reatil-50tilozin-50ml.html>
91. *Лич І.В.* Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр

спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.

92. Тара (контейнери), закупорювальні засоби, пакувальні матеріали для фармацевтичної та парафармацевтичної продукції [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tovaroved.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2020/06/Tara.pdf>
93. Упаковка [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/464/upakovka>
94. Фасування [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/340/fasuvannya>
95. Фармацевтична упаковка [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ubi-pack.com/upakovka-dlya-farmatsevtiki-uk/>
96. *Стецько Т. І., Музика В. П., Падовський В. Н. та ін.* Новий антимікробний препарат на основі тилозину тартрату при лікуванні респіраторних захворювань у телят [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.lekhim.ua/sites/default/files/tilotar.pdf>
97. *Papich M. G.* Tylosin // *Saunders Handbook of Veterinary Drugs.* - 2016. – P. 826–827. doi:10.1016/b978-0-323-24485-5.00579-9
98. *Vakkamäki J., Taponen S., Heikkilä A.M. et al.* Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds // *Acta Vet Scand.* – 2017. – Vol. 59. - P. 33.
99. *Ayshpur O. Y.* Mycoplasmal (enzootic) pneumonia of pigs // *The Animal Biology.* - 2014. - Vol. 16, N 2. – P. 9-17.
100. Реатил-50(Тилозин 5%) 50мл [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://reagent.dp.ua/p297260662-reatil-50tilozin-50ml.html>
101. *Жовнір О.М., Андріяшук В.О., Гаркавенко Т.О. та ін.* Моніторинг інфекційних хвороб тварин бактеріальної етіології на території України // *Ветеринарна біотехнологія.* – 2019. – Вип. 35. – С. 45-53.

102. Нутч-фільтри. Виробники фільтруючого обладнання. ENCE GmbH, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://oil-filters.ru/nutsche_filters/
103. Друк-фільтр, принцип роботи, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ostwest.su/instrumenty/druk-filtr-princip-raboty.php/>
104. What is a filter press and how does it work. Micronics, Engineered Filtration Group, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.micronicsinc.com/filtration-news/filter-press-information/>
105. Рамні фільтр-преси. ГК «Ансер», 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ansergm.ru/services/filtr-pressy/filtr-pressy-ramnye/>
106. Визначення фільтр-преса. Компонентм и системи, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://composyst.ru/filtration/filter-press/?pg=fp2>
107. Plate and frame filter press vs. recessed chamber filter press. M.W. Watermark, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://mwwatermark.com/articles/plate-frame-vs-recessed-chamber-filter-press/>
108. Види мембранної фільтрації. JSC Ion exchange technologies, 2015. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://translate.google.com/translate?hl=uk&sl=ru&u=http://ioteh.ru/products/osmosis&prev=search&pto=aue>
109. Характеристики катіоніту КУ-02. «Система Оптимум», товари для лабораторії та виробництва, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.systopt.com.ua/item-kationit-ku-02>
110. Іонообмінна хроматографія, 2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/biofiziki/Library/ion-chrom_lek3.pdf

111. Карлаш Ю.В., Омельчук Є.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання /Ю.В. Карлаш, Є.О.Омельчук - К: НУХТ, 2019. – 252 с.
112. Ірклієвський Д.С., Зінченко М.Г. Застосування роторно-плівкових апаратів для теплової обробки термолабільних розчинів. XII Міжнародна науково-практична конференція магістрантів та аспірантів, 2018.
113. Виділення та очищення продуктів біотехнології. Методичний посібник/авт.: Д.А. Новіков - Мінськ.: БДУ, 2014. - 256 с.
114. Pharmasin 500 powder (Tylosin tartrate) 100g [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://en.loopyvet.com/product/tylosin-packet-powder-100g-tylosin-tartrate/>
115. Ashenafi D., Hoogmartens J., Adams E. An improved liquid chromatographic method for the analysis of tylosin and its impurities. *J Sep Sci.* 2011; 34(19):2631-8.
116. Визначення масової частки вологи в харчових продуктах та сировині [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://spo.stu.cn.ua/Oksana/harch_himia_lab_prakt/80.html
117. Maha, S. Abd-Elhafeez and Hanan, A. Azoz. New method for determination of tylosin tartrate using high performance liquid chromatography. *Animal Health Research Journal.* 2018; 6 (2): 32-41.
118. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 Лікарські засоби. Належна виробнича практика.
119. Фасування [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/340/fasuvannya>

120. Вода для ін'єкцій [Електронний ресурс] - Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1784/voda-dlya-in-yekcij>
121. MS-HPS [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.stilmas.com/product/ms-hps/>
122. Processing tank [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.tecninox.it/en/product/processing-tank>
123. SYFPAC® LVP [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.brevettiangela.com/products-ba/syfpac-lvp/#toggle-id-1-closed>
124. MST-H [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.belimed.com/en/products/sterilizers/mst-h>
125. Packaging marvel for the highest demands [Електронний ресурс].
Режим доступу: <https://iwk.de/en/products-solutions/machinery/topload-cartoner-iwk-tl/>
126. ATCvet Index [Електронний ресурс]. Режим доступу:
https://www.whooc.no/atcvet/atcvet_index/?code=QJ01FA90
127. Тілозін-50 50 мл [Електронний ресурс] / Режим доступу:
<https://basalt.net.ua/ua/tilozin-50/>
128. Державна Фармакопея України, 2-е видання (ДФУ 2.0).