

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

**Факультет Біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології та мікробіології**

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

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

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

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності

162 Біотехнології та біоінженерія  
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми

на тему: Біотехнологія карбапенемів з підвищеною стійкістю до  $\beta$ -лактамаз

Виконав: здобувач 2 курсу, групи ЗФБ-2-2

СВИТЕЛЬСЬКА (ПАВЛЕНКО) Вікторія Олександрівна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник ПЕНЧУК Юрій Миколайович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Рецензент Лариса ГРАБЧУК  
(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 – 2023  
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**

Світельська(Павленко) Вікторія Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біотехнологія карбапенемів з підвищеною стійкістю до  $\beta$ -  
лактамаз

керівник роботи Пенчук Юрій Миколайович, доц.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 782-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 03.02.2022

3. Вихідні дані до роботи \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити). Підібрати і охарактеризувати продуцент для виробництва антибіотичного препарату; провести аналіз методів створення високопродуктивних промислових продуцентів; обґрунтувати схему отримання продуценту, що використовується у проєкті; визначити основні характеристики кінцевого продукту та біохімічні основи його виробництва; скласти матеріальний баланс виробництва, розробити технологічну і апаратурну схему

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 1 арк. А1.

## 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
	Узгодження змісту кваліфікаційної роботи з керівником	02.11-15.11.22р	
	Підбір літератури та наукових матеріалів за темою кваліфікаційної роботи	16.11-25.11.23р	
	Написання основної частини дипломної роботи	26.11-30.12.22р	
	Оформлення дипломної роботи	31.12.22-05.01.23р	
	Перевірка дипломної роботи керівником	06.01-15.01.23	
	Виправлення недоліків	16.01-30.01.23р	
	Захист дипломної роботи	14.02.23р	

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Вікторія СВИТЕЛЬСЬКА  
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
(підпис)

Юрій ПЕНЧУК  
(ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота: 123с., 11 рис., 3 табл., 2 схеми, 39 посилань. У дипломному проєкті наведено опис технології виробництва біотехнологічного препарату на основі грам негативних бактерій на прикладі антибіотику Мепенам.

Запропоновано поєднання апробованих промислових продуцентів водному пробіотичному препараті, що дозволяє підвищити його ефективність та розширити корисний потенціал продукту.

Обґрунтовано вибір штамів-продуцентів, отриманих шляхом спрямованої селекції видів, виділених з природних джерел існування, та володіють пробіотичними властивостями і є високотехнологічними.

Розраховано яка кількість препарату в середньому потрібна у рік для використання. Описано технологічні схеми приготування ЛЗ, його виділення та очищення.

В роботі обґрунтовані та подані технологічна та апаратурна схеми виробництва.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП.....</b>	<b>7</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1. Історія відкриття карбапенемів.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2. Карбапенеми: Фармакокінетика.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. Основні механізми антибактеріальної дії карбапенемів .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Класифікація бета-лактамаз.....</b>	<b>16</b>
<b>1.5. Характеристика мікроорганізмів <i>A. baumannii</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>K. pneumoniae</i> .....</b>	<b>29</b>
<b>1.5.1. Мікробіологічна характеристика .....</b>	<b>29</b>
<b><i>A. baumannii</i> .....</b>	<b>29</b>
<b><i>K. pneumoniae</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>1.6. Механізми формування резистентності до АМП .....</b>	<b>37</b>
<b>1.7. Аналіз чутливості до карбапенемів грамнегативних мікроорганізмів – збудників нозокоміальних інфекцій.....</b>	<b>40</b>
<b>1.8. Особливості формування резистентності до АМП у штамів <i>A. baumannii</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>K. pneumoniae</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>1.9. Шляхи подолання антибіотикорезистентності .....</b>	<b>43</b>
<b>2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ) .....</b>	<b>46</b>
<b><u>2.1</u> Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу ...</b>	<b>46</b>
<b>2.2. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ.....</b>	<b>47</b>
<b>2.3 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу .....</b>	<b>53</b>
<b>2.3.1 Обґрунтування форми випуску ЛЗ.....</b>	<b>53</b>

2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ.....	53
2.4 Обґрунтування вибору біологічного агента .....	54
3. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	58
4. Специфікація обладнання (етапи виділення та очищення, отримання ЛЗ) .....	67
6. Опис технологічної схеми (отримання ЛЗ).....	78
7. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ.....	103
8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ. ....	104
8.1. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря). .....	104
8.2. Розрахунок річної потужності виробництва.....	110
8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	112
8.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	113
8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	114
9.Контроль виробництва субстанції для ЛЗ.....	118
10. Опис лікарського засобу згідно АНД .....	121
ВИСНОВКИ.....	122
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	124

## ВСТУП

З моменту впровадження у середині 40-х років минулого століття у клінічну практику пеніциліну,  $\beta$ -лактамі антибіотики становлять основу етіотропної терапії більшості бактеріальних інфекцій, проте формування та поширення стійкості різко обмежує ефективність цих антибіотиків. Одним із провідних механізмів стійкості бактерій до  $\beta$ -лактамічних антибіотиків є ферментативний гідроліз.

На сьогодні описано більше 1000  $\beta$ -лактамаз, які різняться за субстратною специфічністю, чутливістю до дії інгібіторів та локалізації генів. Поява та поширення серед клінічно значущих бактерій нових  $\beta$ -лактамаз багато в чому визначала весь перебіг розвитку цієї групи антибіотиків.

Усі відомі нині  $\beta$ -лактамази можна розділити на дві групи: серинові бета-лактамази, в активному центрі яких знаходиться амінокислота та метало-бета-лактамази, в активному центрі яких є атом цинку [1].

Негативні ефекти перших з поширених бета-лактамаз (стафілококових  $\beta$ -лактамаз та  $\beta$ -лактамаз широкого спектру грамнегативних бактерій) були досить легко подолані завдяки розробці та впровадженню цефалоспоринів II-IV поколінь, а також захищених пеніцилінів. Основною загрозою для перерахованих препаратів виявилися описані в 1983 році  $\beta$ -лактамази розширеного спектру (БЛРС) [2]. Стійкість, пов'язану з продукцією БЛРС успішно долали  $\beta$ -лактами з групи карбапенемів. Перший карбапенемний антибіотик – іміпенем – був впроваджений у медичну практику на початку 80-х

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Світельська			Літ.	Арк.	Акруцієв
Перевіриє		Пенчук Ю.М.				5	3
Затвердив		Стадніков			Кафедра БТМ		
					ВСТУП		

років. Протягом перших 20 років клінічного застосування карбапенемів стійкість до них описували дуже рідко.

Ситуація з резистентністю до карбапенемів принципово змінилася після появи карбапенемазів, гени яких локалізовані на мобільних елементах. Ферменти, що мають карбапенемазну активність, описані переважно серед класів А, В і D. Кількість відомих карбапенемаз лавиноподібно наростає, однак глобальне поширення в даний час набули небагато представників класу В – IMP-тип, VIM-тип та NDM-тип; а також класу А – BPH-тип та класу D – OXA-тип.

Мета дослідження – розглянути біотехнологію карбапенемів з підвищеною стійкістю до бета-лактамаз.

Завдання дослідження:

- Визначити основні механізми антибактеріальної дії карбапенемів;
- Навести класифікація бета-лактамаз;
- Розглянути характеристику мікроорганізмів, використаних у роботі;
- Провести фенотипові тести на наявність бета-лактамаз;
- Проаналізувати чутливості до карбапенемів грамнегативних мікроорганізмів – збудників нозокоміальних інфекцій.

У роботі була використана комбінація цефтазидим/клавуланат для детекції бета-лактамаз розширеного спектру методом серійних мікророзведень бульйоні Мюллера-Хінтона (BBL, США) згідно з рекомендаціями та критеріям CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institution, 2007). Для детекції бета-лактамаз AmpC був використаний тривимірний AmpC-тест, який був адаптацією методів, описаних раніше для детекції бета-лактамаз класу А та С (P.E. Coudron, 2000; V. Manchanda, 2003). Ізоляти з підвищеною



стійкістю до карбапенемів були тестовані напродукцію метало-бета-лактамаз. Для визначення присутності металобіту-лактамаз був використаний метод подвійних дисків зетилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА) (О.В. Шевченка, 2007).

## РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1. Історія відкриття карбапенемів

Наприкінці 1960-х років, коли були відкриті бактеріальні  $\beta$ -лактамази, які перешкоджали поширеному й ефективному застосуванню пеніцилінів, пошук інгібіторів  $\beta$ -лактамази розпочався всерйоз. До 1976 року були відкриті перші інгібітори  $\beta$ -лактамази; ці оліванові кислоти були природними продуктами, виробленими грампозитивною бактерією *Streptomyces clavuligerus*.

Оліванові кислоти мають “карбапенемовий каркас” і діють як  $\beta$ -лактами широкого спектру. Через хімічну нестабільність та погане проникнення в бактеріальну клітину оліванові кислоти далі не вивчались. Незабаром після цього було виявлено два чудових інгібітори  $\beta$ -лактамази: клавуланова кислота, виділена з мікроорганізму *S. clavuligerus*, перший клінічно доступний інгібітор  $\beta$ -лактамази, та тієнаміцин, отриманий від *Streptomyces* крупної рогатої худоби. Тієнаміцин був першим отриманим карбапенемом і, зрештою, слугував вихідним або модельним з'єднанням для всіх карбапенемів.

Як і інші  $\beta$ -лактами, тієнаміцин зв'язується з білками, що зв'язують пеніцилін (РВР). З часом ентузіазм до цієї сполуки швидко зростав, оскільки тієнаміцин проявляв гальмівну мікробіологічну активність щодо грамнегативних бактерій, включаючи ізоляти синьогнійної палички, а також анаероби, такі як *Bacteroides fragilis*, і грампозитивні бактерії, такі як метицилін- або оксацилін-сприйнятливий золотистий стафілокок та стрептококи.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Світельська			Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевірів		Пенчк Ю.М.				8	32 <sup>10</sup>
Затвердив		Стадніков			РОЗДІЛ 1. Огляд літератури		Кафедра БТМ

На жаль, з часом було виявлено, що тієнаміцин є нестійким у водному розчині, чутливим до гідролізу за рН вище 8,0) і дуже реактивним до нуклеофілів, таких як гідроксиламін, цистеїн і навіть власний первинний амін тієнаміцину. Хімічна нестабільність тієнаміцину стимулювала пошук аналогічних похідних із підвищеною стабільністю. Через триваючу еволюцію цефалоспоринорезистентних грамнегативних та грампозитивних збудників, сподівання, отримані з тієнаміцину, мали з часом ще більше значення.

Першим розробленим було похідне N-формимідоїлу, імепенем. Імпенем та близькоспоріднений йому карбапенем, паніпенем, були виявлені пізніше. Вони є більш стабільними похідними тієнаміцину та менш чутливими до лужного гідролізу у розчині. У 1985 році імепенем (спочатку названий МК0787) став першим карбапенемом, доступним для лікування складних мікробних інфекцій. Імпенем, як і його батьківська речовина тієнаміцин, продемонстрував високу спорідненість до РВР та стабільність щодо  $\beta$ -лактамаз .

Згодом були розроблені інші сполуки, що доступні в даний час, імепенем, біапенем, ертапенем і доріпенем, і було створено кілька нових карбапенемів. Основним прогресом стало додавання метильної групи до положення 1- $\beta$ , адже було встановлено, що ця модифікація захищає від гідролізу DHP-I. Кілька карбапенемів були ідентифіковані з цією модифікацією протягом наступних 2 десятиліть; багато з них були схожі на наявні в даний час карбапенеми, маючи 1- $\beta$ -метильний залишок та піролідінове кільце при C-2. Ці нові карбапенеми включали антисиньогнійні карбапенеми, антиметицилінорезистентні *S. aureus* (MRSA) карбапенеми (тобто катіонні та дитіокарбаматні карбапенеми), перорально

доступні карбапенеми, тринем карбапенеми, подвійний хінолоніл-карбапенем та інші.

## **1.2. Карбапенеми: Фармакокінетика**

Карбапенеми вводять парентерально шляхом внутрішньовенної інфузії. Карбапенеми добре і швидко проникають у всі тканинні середовища організму та інтерстиціальні рідини. Вони метаболізуються нирковою дигідропептидазою-1. Отже, імепенем слід вводити одночасно з інгібітором дигідропептидази-1. Інші карбапенеми, імепенем, ертапенем та доріпенем, є більш стійкими до цього ферменту.

Карбапенеми в основному виводяться через нирки, саме тому необхідна корекція дози у пацієнтів з нирковою недостатністю. Період напіввиведення більшості карбапенемів становить близько 1 години, за винятком ертапенему, з періодом напіввиведення 3,8 години, що дозволяє застосовувати його раз на добу.

Карбапенеми – це група антибіотиків із залежним від часу ефектом. Їх типовою фармацевтичною властивістю є обмежена стабільність розчину після розведення. Введення тривалої інфузії представляється зручною стратегією для досягнення більш високої ефективності. Фармакокінетичні параметри карбапенемів можуть змінюватися в індивідуальному порядку, особливо у важких хворих та тих, хто перебуває на замісній нирковій терапії. Тому індивідуалізація режимів дозування на основі знань про фармакокінетичні параметри окремих пацієнтів може бути корисною.

### 1.3. Основні механізми антибактеріальної дії карбапенемів

Карбапенеми – це група напівсинтетичних антибіотиків, що містять у структурі молекули чотиричленне  $\beta$ -лактамне кільце (рис. 1.1).

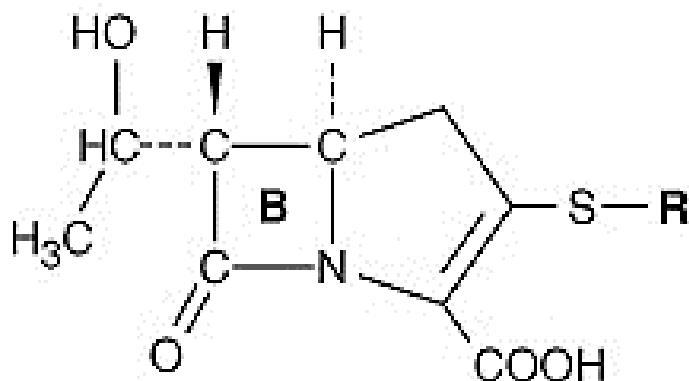


Рис. 1.1. Структура молекули карбапенемів

Механізм дії, як і в інших  $\beta$ -лактамних антибіотиків, пов'язаний з порушенням утворення клітинної стінки бактерій, що супроводжується розвитком бактерицидного ефекту щодо чутливих мікроорганізмів.

Порівняно з пеніцилінами і цефалоспоринами, карбапенеми більш стійкі до дії  $\beta$ -лактамаз і мають ширший спектр протимікробної дії.

Карбапенеми включають:

- Доріпенем;
- Ертапенем;
- Іміпенем;
- Імепенем.

Карбапенеми є парентеральними бактерицидними бета-лактамними антибіотиками, що мають надзвичайно широкий спектр дії. Вони активні проти:

- *Haemophilus influenzae*;
- Анаеробів;
- Більшості ентеробактерій (включаючи ті, які продукують ampC бета-лактамазу та бета-лактамазу розширеного спектру дії, хоча у *Proteus mirabilis* є тенденція до вищої мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) імпенему);
- Метицилін-чутливі стафілококи та стрептококи, у тому числі *Streptococcus pneumoniae* (за винятком можливих штамів зі зниженою чутливістю до пеніциліну).

Більшість *Enterococcus faecalis* і *Pseudomonas aeruginosa*, у тому числі мікроорганізми, резистентні до пеніцилінів широкого спектру і цефалоспоринів, є сприйнятливими до імпенему, імепенему та доріпенему, але резистентні до ерта. Тим не менш, імепенем і доріпенем менш ефективні по відношенню до *E. faecalis* ніж імпенем. Карбапенеми є активними в синергізмі з аміноглікозидами проти *P. aeruginosa*. Однак, *E. faecium*, *Stenotrophomonas maltophilia*, і метицилін-резистентні стафілококи є резистентними.

Багато резистентних до великої кількості препаратів внутрішньолікарняних бактерій сприйнятливі тільки до карбапенемів.

Імпенем та імепенем проникають у спинномозкову рідину, коли спостерігається запалення м'яких мозкових оболонок. Імепенем призначається при грамнегативному бацилярному менінгіті; імпенем не призначається при менінгіті, тому що це може спричинити напад судом. Більшість нападів відбуваються у пацієнтів, які мають порушення центральної нервової системи або ниркову недостатність та у тих, кому призначають неадекватно високі дози.

Інструкція до доріпенему має застереження у чорній рамці про те, що його використання для лікування пацієнтів з вентилятор-асоційованою

бактеріальною пневмонією може зумовити підвищений ризик смерті порівняно з імпенемом. Крім цього, клінічні показники відповіді були нижчими для доріпенему. Доріпенем не затверджено для лікування пневмонії.

Карбапенеми проникають всередину грамнегативних бактерій через порини, спеціальні білки зовнішньої мембрани (OMPs). Після перетину периплазматичного простору карбапенеми, подібно до інших  $\beta$ -лактамів, з'єднуються з білками, що зв'язують пеніцилін (PBP).

Особливістю даного класу антибіотиків є їх здатність зв'язуватися одразу з декількома різними PBP. Карбапенеми інгібують пептидазну активність PBP, порушуючи утворення ними пептидоглікану клітинної стінки.

Зрештою, пептидоглікан слабшає, а бактеріальні клітини руйнуються через осмотичний тиск [3].

Карбапенеми порівняно з іншими  $\beta$ -лактамними антибіотиками мають більш широкий антимікробний спектр, що включає грампозитивні й грамнегативні бактерії. Серед аеробних патогенів він охоплює: ентеробактерії, стрептококи (включно з пеніцилін-резистентними *S.pneumoniae*), ентерококи (за винятком *E.faecium* і пеніцилін-резистентних штамів, що не продукують бета-лактамазу), чутливі до метициліну стафілококи (MSSA), *H.influenzae*, *Listeria* та більшість штамів *Pseudomonas* і *Acinetobacter*. Є декілька важливих аеробних патогенів, що мають природну стійкість до карбапенемів, зокрема *S.maltophilia*, метицилін-резистентні стафілококи (MRSA) й *E.faecium*.

Препарати даної групи також мають високу активність проти анаеробів, включаючи навіть такі традиційно полірезистентні штами, як *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. та ентерококи [4, 5].

Різні карбапенеми мають відносно схожий спектр активності проти різних бактеріальних патогенів.

Проте існують деякі розбіжності, які слід враховувати при виборі антибактеріальної терапії. Зокрема, імепенем порівняно з імепенемом має вищу активність щодо грамнегативних бактерій, таких як *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter spp.* і *Pseudomonas aeruginosa*, проте імепенем має вищу активність щодо метицилін-чутливих стафілококів і пеніцилін-чутливих пневмококів. Імепенем є єдиним карбапенемом, рекомендованим для застосування при менінгітах, через його здатність створювати високу концентрацію в цереброспінальній рідині. Дорипенем порівняно з імепенемом і імепенемом має дещо вищу хімічну стабільність і сильнішу активність проти грам негативних організмів. Ертапенем відрізняється тривалим періодом напіввиведення, що дозволяє застосовувати його один раз на день. Водночас, на відміну від імепенему, імепенему й дорипенему, ертапенем неактивний щодо *P.aeruginosa* [3].

#### **1.4. Класифікація бета-лактамаз**

До теперішнього часу описано понад 500 різних бета-лактамаз і ця кількість стрімко зростає з кожним роком. Саме сімейство цих ферментів цілком може називатися суперсімейством, оскільки воно об'єднує кілька величезних груп або підродин, що різняться за властивостями ферментів. Об'єднує їх здатність гідролізувати бета-лактамі антибіотики, а відмінності включають походження ферментів, структуру амінокислотних послідовностей, спектр субстратної специфічності, каталітичні параметри, чутливість до інгібіторів. Неодноразово робилися спроби класифікації цих ферментів.



Перші методи класифікації ґрунтувалися на порівнянні функціональної активності – здатності ферментів розщеплювати різні класи бета-лактамних сполук (пеніциліни, цефалоспорини, монобактами, карбапенеми), чутливості до дії інгібіторів та відмінності у біохімічних параметрах [14-16]. В результаті була створена схема класифікації бета-лактамаз за кількома функціональним групам [17]. Також було запропоновано інший спосіб класифікації бета-лактамаз – молекулярна класифікація на основі спільності структурних особливостей [18]. На підставі визначення рівня гомології, наявності консервативних ділянок у первинній структурі ферментів та будови активного центру виділяють чотири молекулярні класи. Кожен із способів класифікації має свої переваги та недоліки, але жоден із них не є вичерпним, тому часто використовуються разом.

На сьогоднішній день  $\beta$ -лактамази були класифіковані на основі класифікації молекулярної структури Амблера [16] і функціональної класифікації Буша-Якобі-Медейроса (рис. 1.2) [17, 18].

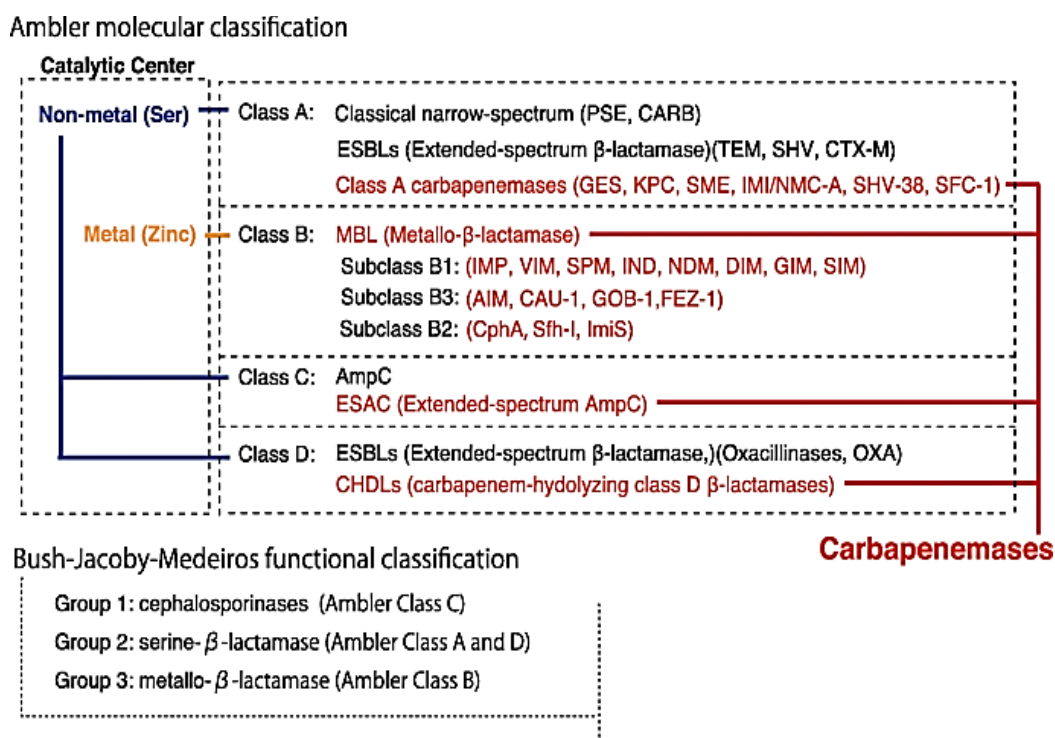


Рис. 1.2. Класифікація бета-лактамаз

У класифікації Амблера  $\beta$ -лактамази згруповані в чотири класи А, В, С і D відповідно до мотивів, які складаються з первинних компонентів, що містять білкові молекули.

$\beta$ -лактамази класів А, С і D вибирають серин як активний центр ферменту, потім як  $\beta$ -лактамази класу В вибирають металевий цинк. У функціональній класифікації Буша-Якобі-Медейроса  $\beta$ -лактамази класифікуються на групи 1-3 залежно від деградації  $\beta$ -лактамних субстратів та ефектів інгібіторів. До групи 1 входять цефалоспориноми, які класифікуються як клас С на основі молекулярної структурної класифікації, а залучений ген спочатку був хромосомним.

Група 2 містить  $\beta$ -лактамази, відмінні від тих, що в групі 1, які містять серин в активному центрі, і включає обидва класи А і D відповідно до класифікації молекулярної структури.

Група 3 включає метало- $\beta$ -лактамази (MBLs) і відповідає класу В класифікації молекулярної структури. У геномі *P. aeruginosa* PAO1, стандартний штам *P. aeruginosa* та перший штам, підданий повногеному аналізу хвороби, клас А P1B-1 (PA5542), клас С AmpC (PA 4410) і клас D PoxB (OXA-50, PA5541) кодуються  $\beta$ -лактамази (рис. 1.3).

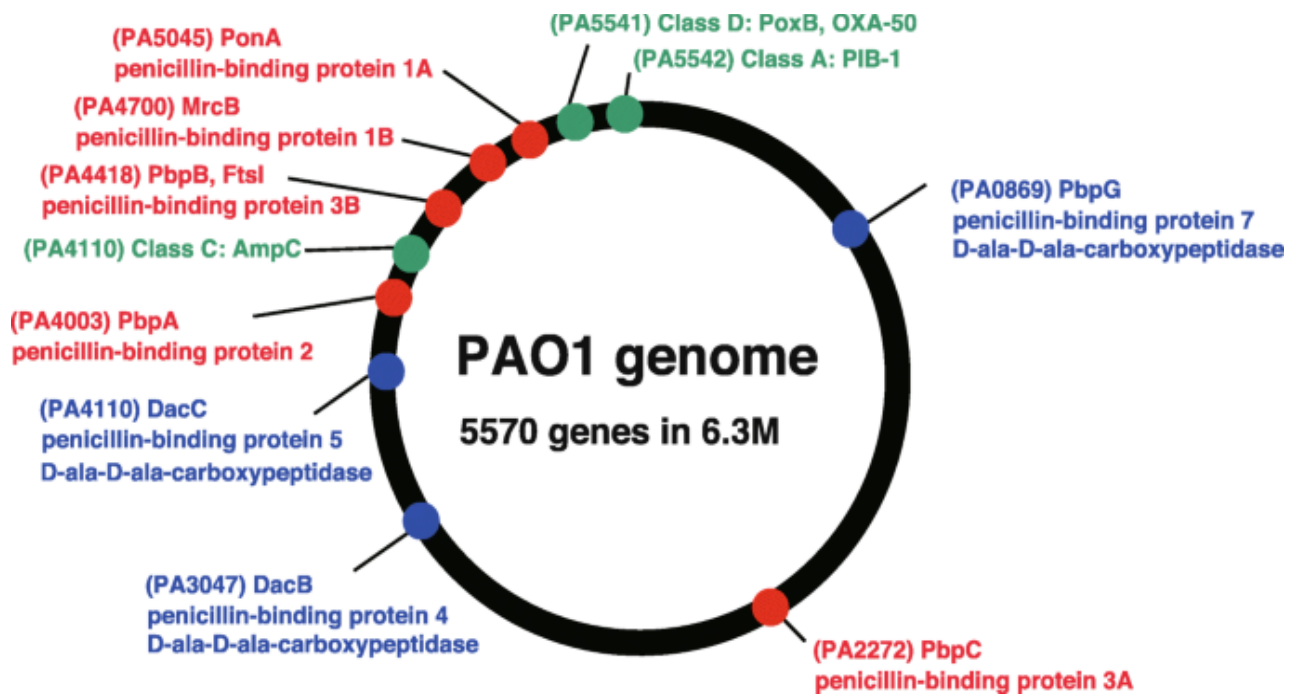


Рис. 1.3. Гени, що кодують пеніцилінзв'язувальні білки в *P. aeruginosa* PAO1

Природна здатність до продукування  $\beta$ -лактамаз характерна для багатьох видів мікроорганізмів. Однак найбільшої значимості останнім часом набуває значне поширення кодованих плазмідами  $\beta$ -лактамаз, що є факторами вторинної (набутої) резистентності у початково чутливих мікроорганізмів [3; 4; 11].

Відповідно до визначення Комітету з номенклатури Міжнародного біохімічного товариства,  $\beta$ -лактамази класифікуються як «ферменти, що здійснюють гідроліз амідів, амідинів і інших С–N зв'язків ..., виділені на підставі субстрату – ... циклічних амідів» [5].

Термін « $\beta$ -лактамази» є, таким чином, функціональним і поєднує різні бактеріальні ферменти, здатні розщеплювати  $\beta$ -лактамні антибіотики, що містять у своїй структурі циклічний амідний зв'язок.

Більшість відомих  $\beta$ -лактамаз проявляє виражену структурну гомологію з ПЗБ, що свідчить про еволюційний взаємозв'язок між ферментами цих груп [1; 4; 6].

Подібно ПЗБ  $\beta$ -лактамази, що містять залишок серину в активному центрі, взаємодіють із  $\beta$ -лактамами антибіотиками з утворенням ефірного комплексу. Однак у випадку  $\beta$ -лактамаз цей комплекс швидко розщеплюється з вивільненням нативного ферменту й інактивованої молекули субстрату.

Із моменту відкриття  $\beta$ -лактамаз у 1940 році, коли E. P. Abraham і E. Chain описали процес інактивації пеніциліну у безклітинному екстракті культури кишкової палички, і дотепер різними дослідниками виявлено не менше 300 ферментів, що відрізняються структурно й функціонально, здатних здійснювати гідроліз  $\beta$ -лактамного кільця. За винятком декількох видів клінічно значимих мікроорганізмів, серед яких слід відзначити *Streptococcus pneumoniae* і *Helicobacter pylori*,  $\beta$ -лактамази трапляються в переважній більшості бактеріальних збудників інфекцій [2; 7].

Найважливішими властивостями  $\beta$ -лактамаз, що визначають їх різноманітність, є:

- субстратна специфічність (здатність до переважного гідролізу  $\beta$ -лактамів визначених груп – пеніцилінів, цефалоспоринів, монобактамів, карбапенемів);

- чутливість до дії інгібіторів;

- локалізація генів (хромосомна або плазмідна) і характер їх експресії (конститутивний або індукцибельний) [5].

Зазначені функціональні особливості стали основою створення різних систем класифікації  $\beta$ -лактамаз. Актуальність диференціації ферментів, що переважно гідролізують пеніциліни (пеніциліназ) або цефалоспорини (цефалоспориназ), уперше відзначили Р. С. Fleming зі співавторами у 1963 році. Система класифікації, запропонована Т. Sawai зі співавторами у 1968 році, передбачала використання імунних сироваток як додатковий критерій диференціації пеніциліназ, цефалоспориназ і ферментів із широким субстратним спектром.

М. Н. Richmond і Р. В. Sykes поділили всі відомі на початку 1970-х років  $\beta$ -лактамази грамнегативних мікроорганізмів на п'ять груп з урахуванням субстратного спектра, чутливості до інгібіторів і частково локалізації кодувальних генів. У 1976 році Р. В. Sykes і М. Matthew розширили цю класифікацію, підкресливши роль плаз мідних  $\beta$ -лактамаз, які могли бути диференційовані на підставі даних ізоелектричного фокусування. У функціональній схемі S. Mitsuhashi і M. Inoue (1981) виділено додаткову групу «цефуроксим-гідролізувальних» ферментів [9].

Паралельно з розвитком функціональних підходів у класифікації Р. Ambler в 1980 році використовував результати порівняння первинної структури  $\beta$ -лактамаз для опису молекулярних класів: серинових ферментів (клас А), включаючи пеніциліназу *Staphylococcus aureus*, і метало- $\beta$ -лактамаз (клас В) *Bacillus cereus* [10].

Прообразом сучасної класифікації стала запропонована К. Bush в 1989 році система поділу  $\beta$ -лактамаз на три основні групи, у якій уперше зроблено спробу провести кореляцію між функціональними особливостями (спектром активності, чутливістю до інгібіторів) і молекулярною структурою

ферментів, що продукуються різними видами мікроорганізмів. Ця система уточнена й доповнена в 1995 році.

К. Bush, G. Jacoby і A. Medeiros з урахуванням нових ферментів, описаних у ентеробактерій, і в цей час прийнята більшістю дослідників [8].

Група перша у функціональній класифікації К. Bush, G. Jacoby і A. Medeiros включає ферменти грамнегативних бактерій, що відповідають молекулярному класу С.

Кращі субстрати для них – цефалоспорини. Клавуланова кислота, сульбактам і тазобактам володіють незначною інгібувальною активністю відносно  $\beta$ -лактамаз даного типу [7].

Цефалоспориноми, як правило, кодується хромосоною й поширені серед багатьох видів родини Enterobacteriaceae, а також у окремих неферментувальних грамнегативних мікроорганізмів, включаючи *Pseudomonas aeruginosa* [7; 10; 11].

Друга група – найбільша, поєднує ферменти, що належать до молекулярних класів А і D. На підставі субстратних розходжень  $\beta$ -лактамази, що входять у цю групу, поділені на 8 функціональних категорій.

Перша категорія (група 2a) включає в основному плазмідні пеніцилінази грамполозитивних мікроорганізмів *Staphylococcus spp.* і *Bacillus spp.* Стафілококові  $\beta$ -лактамази ефективно руйнують природні й напівсинтетичні пеніциліни, крім групи оксациліну, їх функція пригнічується інгібіторами – клавулановою кислотою, сульбактамом і тазобактамом.

До другої категорії (група 2b) належить найпоширеніші серед штамів *E. coli*, *Proteus mirabilis* і *K. pneumoniae* плазмідні  $\beta$ -лактамази TEM-1, TEM-2 і SHV-1. Кращі субстрати для них – пеніциліни, включаючи ампіцилін,

амоксицилін, тикарцилін і карбеніцилін. Цефалоспорини I покоління й цефоперазон розщеплюються ферментами даної групи з меншою ефективністю. Тому TEM-1, TEM-2 і SHV-1 часто описують як пеніцилінази широкого спектра.

Третя група (2be) поєднує понад 80 похідних TEM-1, TEM-2 і SHV-1, відомих як  $\beta$ -лактамази розширеного спектра (extended-spectrum  $\beta$ -lactamases – ESBL), які мають здатність розщеплювати цефалоспорини III–IV поколінь і монобактами поряд із ранніми цефалоспоринами й пеніцилінами.

Крім того, до цієї ж функціональної групи можуть бути віднесені плазмідні цефотаксимази Toho-1, CTX-M-1 – CTX-M-16, що належать до молекулярного класу A і проявляють найвиразнішу гомологію з хромосомними  $\beta$ -лактамазами, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris* і *Citrobacter diversus*. У той же час у Східній Європі описане поширення клонально-родинних штамів *Salmonella typhimurium*, які продукують фермент CTX-M-4. Відповідно до останніх молекулярно-епідеміологічних досліджень, проведених у різних географічних зонах, спостерігається досить чіткий характер поширення БЛРС CTX-типу.

Серед різних представників третьої категорії відзначається виражена субстратна перевага до окремих цефалоспоринів розширеного спектра, наприклад цефтазидиму або цефотаксиму, однак продукція переважної більшості ESBL може викликати резистентність до всіх оксिमіно- $\beta$ -лактамів. Карбапенеми й цефаміцини не входять у спектр антибіотиків, що руйнуються ESBL. Ферменти цієї групи також проявляють чутливість до інгібіторів.

Четверта категорія (2br), уперше виділена в системі класифікації K. Bush, G. Jacoby і A. Medeiros, представлена в основному похідними TEM  $\beta$ -

лактамаз, відмінною рисою яких є стійкість до інгібіторів. Більшість інгібіторорезистентних TEM (IRT) ферментів, а також єдина  $\beta$ -лактамаза SHV-типу (SHV-10), що входить у четверту категорію, виявлені в клінічних штамів *E. coli*.

П'ята категорія (2c) об'єднує карбеніцилінази грамнегативних бактерій, що належать до молекулярного класу А. Ферменти PSE-1, PSE-3 і PSE-4, що відносяться до цієї групи, мають вищу швидкість гідролізу карбеніциліну, ніж бензилпеніциліну, і пригнічуються клавулановою кислотою. Подібні властивості проявляють також  $\beta$ -лактамази BRO-1 і BRO-2 *Moraxella catarrhalis* і  $\beta$ -лактамаза SAR-1 *Vibrio cholerae*.

Оксацилінази – шоста категорія (2d) – OXA-1 – OXA-9, OXA-10 (PSE-2) і OXA-11 найбільш ефективно розщеплюють клоксацилін і оксацилін. Їх активність слабо пригнічується інгібіторами, внаслідок чого оксацилінази можуть викликати стійкість ентеробактерій до амоксициліну/клавуланової кислоти.

Сьома категорія (2e) включає цефалоспоринази, що характеризуються активністю відносно оксिमіноцефалоспоринів і високою чутливістю до клавуланової кислоти. Представники цієї групи ферментів – індукцибельні хромосомні  $\beta$ -лактамази (цефуроксимази) *P. vulgaris* і *C. diversus*, а також хромосомні  $\beta$ -лактамази *Bacteroides* spp. і L2 *Stenotrophomonas maltophilia*.

Рідкісні  $\beta$ -лактамази молекулярного класу А (2f), які гідролізують карбапенеми та проявляють чутливість до клавуланату NMC-A, Imi-1 *Enterobacter cloacae* і Sme-1 *Serratia marcescens*, об'єднані у восьму категорію [14].



$\beta$ -лактамази, що містять цинк, відносяться до молекулярного класу В і функціональної групи 3, виявляють гідролітичну активність відносно більшості  $\beta$ -лактамів (включаючи карбапенеми), не активні відносно монобактамів (азтреонаму). Ці ферменти не чутливі до інгібіторів серинових  $\beta$ -лактамаз (клавуланат, сульбактам, тазобактам).

Особливе значення має продукція набутих метало- $\beta$ -лактамаз у грам негативних бактерій. За останнє десятиліття описано 6 генетичних груп набутих MBL: VIM, IMP, SPM, GIM, SIM і AIM. Найбільше поширення одержали ферменти VIM- і IMP-типів.

На сьогодні охарактеризовано 18 варіантів VIM і 23 ферменти IMP-типу. Ці ферменти виявлені у багатьох країнах, але найчастіше трапляються в Європі та Південно-Східній Азії. Гени набутих MBL (за винятком SPM) звичайно входять до складу інтегронів.

У свою чергу, плазмідна локалізація багатьох інтегронів, що несе гени MBL, забезпечує можливість їх поширення між різними видами мікроорганізмів [10; 15]

Класифікація  $\beta$ -лактамаз із зазначенням їх субстратної специфічності та інгібіторів

Група	Мол. клас	Підкласи	Приклади $\beta$ -лактамаз	Основний субстрат	Інгібування		
					Клавуланова кислота	Тазобактам	ЕДТА
1	C		AmpC	Цефалоспорини	Не інгібуються	Не інгібуються	Не інгібуються
2	A	2a, 2b, 2e, 2br, 2ber, 2f	TEM, SHV, CTX- M, GES, KPC	Пенициліни, цефалоспорини	Інгібуються	Інгібуються	Не інгібуються
	D	2c, 2d, 2de, 2df	OXA	Пенициліни	Інгібуються/ Не інгібуються (2 df)	Інгібуються	Не інгібуються
3	B	B1, B2, B3	VIM, IMP, NDM, SPM	Карбапенеми	Не інгібуються		Інгібуються

У першу групу входять плазмідно-кодовані ферменти, що відносяться до молекулярного класу (типу AmpC). Також їх ще називають цефалоспоринази за їхню активність щодо цефалоспоринів. Вони малочутливі до дії інгібіторів, таких як клавуланова кислота, тазобактам та сульбактам, а їх ключовою відмінністю є висока афінність до азтреону. Слід також відзначити таку якість цієї групи, як підвищення клінічно значимої резистентності до АМП (карбапенемів) у вигляді підвищення МПК, якщо поруч із виробленням ферменту відбуваються мутації в пориновому каналі.

Друга група є однією з найбільших, до неї входять  $\beta$ -лактамази молекулярних класів А і D. Вони є плазмідно кодованими, внаслідок чого можна говорити про їхню здатність до швидкого розповсюдження. Ця група розділена на підгрупи: 2a, 2b, 2be, 2br, 2ber, 2c, 2d, 2de, 2df, 2e, 2f.

Підгрупа 2a являє собою невелику групу ферментів, до неї відносяться лактамази грампозитивних мікроорганізмів (*Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp.),

які ефективно гідролізують пеніциліни, малоактивні щодо цефалоспоринів, карбапенемів і монобактамів, інгібуються клавулан. Виняток становить їхню здатність гідролізувати нітроцефін [22].

До групи 2b входять 9 видів TEM та 29 SHV. Найбільш широко відомими представниками підгрупи 2b-лактамаз є SHV-1, TEM-1,2 [23]. Вони ефективні щодо пеніцилінів (крім уреїдопеніцилінів) та малоактивні щодо цефалоспоринів. Широко відомі БЛРС належать до групи 2be. Їх об'єднує активність щодо пеніцилінів та цефалоспоринів I – IV поколінь. Найбільшу дієвість вони виявляють щодо цефотаксиму, цефтазидиму та азтреонаму. Основними представниками цієї групи є ферменти TEM, SHV, CTX-M. Вони плазмідно-кодовані, хоча їх попередники (SHV-1, TEM-1,2) є хромосомно-кодованими. Більшість ферментів групи CTX-M гідролізують цефотаксим сильніше, ніж цефтазидим, багато з них гідролізують цефепім. На відміну від TEM та SHV БЛРС-групи CTX-M-ферменти краще інгібуються тазобактамом, ніж клавулановою кислотою. Також до цієї підгрупи входять BEL-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, TLA-2, PER і VEB - лактамази.

Наступна підгрупа – 2 br. До неї відносяться лактамази, стійкі до дії інгібіторів (клавуланної кислоти, тазобактаму, сульбактаму), спектр їх активності відповідає групі 2b. До цієї підгрупи були віднесені 36 видів TEM (TEM-30,31) та 72 види SHV за функціональними характеристиками. Жоден вид CTX-M не відноситься до цієї підгрупи. У субгрупу 2 ber не входять ферменти групи TEM, які включають розширений спектр зі стійкістю до інгібування клавулановою кислотою.

Ферменти підгрупи 2c об'єднані за здатністю гідролізувати карбеніцилін або тикарцилін нарівні з пеніцилінами, клоксациліном та оксациліном. Ця підгрупа легко пригнічується клавулановою кислотою або тазобактамом [24].

Субгрупа 2d-лактамаз відрізняється здатністю гідролізувати клоксацилін або оксацилін, їх ще називають оксациліназами. Найвідомішим представником цієї групи є ферменти групи ОХА. Вони є другою за величиною підгрупою після БЛРС. До субгрупи 2de відносяться ферменти, що розщеплюють оксацилін, клоксацилін, окси-аміно-в-лактами, але не карбапенеми. До них відносяться ОХА-11,15. Вони найчастіше зустрічалися в Туреччині та Франції (у *P. aeruginosa*), у цьому випадку рівень резистентності вищий, ніж у *E. coli*. Резистентність до цефтазидиму зазвичай більш прогнозована, ніж цефотаксиму або азтреону. Однак мікроорганізми, які продукують деякі види оксациліназ (ОХА-1,31), можуть бути чутливі до цефтазидиму та стійкі до цефепіму. Оксацилінази з карбапенем-гідролізною активністю відносяться до підгрупи 2df. Вони часто зустрічаються у *Acinetobacter baumannii* і зазвичай локалізовані на хромосомах, хоча ОХА-23 та ОХА-48, виділені у *Enterobacteriaceae*, є плазмідними похідними. У даних оксациліназ гідролітична активність вище щодо іміпенему, ніж щодо імпенему. Вони нечутливі до дії клавуланової кислоти .

Підгрупа 2e характеризується цефалоспориноазами, які пригнічуються клавулановою кислотою та тазобактамом. Вони дуже подібні з пеніциліназ групи 1 AmpC або з БЛРС, т.к. можуть продукуватися в тих самих мікроорганізмів і визначати приблизно однаковий профіль стійкості до АМП. Їх основною відмінністю від перерахованих вище підгруп є низька афінність до азтреонаму.

Серинові карбапенемази молекулярного класу формують підгрупу 2f. Субстратом для них є карбапенеми, які пригнічуються тазобактамом, але не клавулановою кислотою. Найбільш «тривожними» плазмідно-кодовані в-лактамази цієї групи є КРС та GES [25].

Третя група карбапенемаз метало-в-лактамази (МБЛ) має унікальність, як у функціональному, так і в структурному відношенні. МБЛ зазвичай продукуються у комбінації з іншими ферментами, і є іншими або третіми факторами резистентності у клінічних ізолятах. Ця група відрізняється з інших тим, що у структурі активного центру ферменту присутній цинк. Функціонально вони відрізняються своєю здатністю гідролізувати карбапенеми, але таку властивість мають і серинові лактамази. МБЛ характеризується низькою афінністю або гідролітичною активністю щодо монобактамів і не пригнічуються ні тазобактамом, ні клавулановою кислотою. Навпаки, вони інгібуються ЕДТА та дипіколінової кислоти. Ці металоферменти поділяються на підгрупи відповідно до їх структури (В1, В2, В3) або функції (3а, 3б, 3с). Групи В1 і В3 дуже схожі функціонально. МБЛ спочатку були ідентифіковані як хромосомно-кодовані у грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів (*B. fragilis*, *S. maltophilia*), їхнє число залишалося постійним протягом тривалого часу. Коли МБЛ почали з'являтися на рухомих елементах, вони швидше поширювалися і стали предметом еволюційного відбору, у результаті з'явилося кілька десятків груп. До підгрупи 3а відносяться сімейства ферментів VІМ та ІМР, які мають глобальне поширення, найчастіше зустрічаються у неферментуючих грам-негативних бактерій, рідше - у *Enterobacteriaceae*, вони належать до молекулярного класу В1. Субгрупа 3б набагато менше за кількістю входять до нього сімейств МБЛ і має властивості, характерні для всієї третьої групи ферментів [24; 25; 23].

## **1.5. Характеристика мікроорганізмів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae***

### **1.5.1. Мікробіологічна характеристика**

#### ***A. baumannii***

Ацинетобактери відносяться до роду грамнегативних неферментуючих бактерій (НФБ) сімейства Moraxellaceae порядку Pseudomonadales класу Gammaproteobacteria (тип Proteobacteria). Згідно з класифікацією Bergey, до роду ацинетобактерів відноситься 16 видів. Найбільше медичне значення мають: *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. lwoffii*, *A. baylyi*, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. nosocomialis*. Ацинетобактери є нерухомими грамнегативними паличками (коккобацили), розташовуються парами або ланцюжками різної довжини. Є суворими аеробами, каталазопозитивними, оксидазонегативними нерухомими бактеріями-прототрофами, мають капсулу. Зростають на простих живильних середовищах, утворюючи гладкі опуклі колонії діаметром до 2-3 мм, деякі штами можуть продукувати слиз, блідо-жовтий та світло-сірий пігмент. Також *Acinetobacter* spp. дає характерне зростання на хромогенних агарах CHROMagar, UriSelect і т.д. [4].

### ***P. aeruginosa***

Синьогнійна паличка, *Pseudomonas aeruginosa*, входить до числа найбільш актуальних збудників у клініці опортуністичних інфекцій. Почавши своє «сходження» як соціально небезпечне нозокоміального патогену в 60-80-х роках ХХ століття, синьогнійна паличка не втрачає своєї ролі і продовжує прогресувати в шпитальній патології двадцять першого століття. Синьогнійна паличка вражає різноманітністю патології, що викликається, будучи причиною широкого кола захворювань - від інтоксикацій до великих гнійно-запальних процесів та септичного шоку. Логічно, що увага, що приділяється синьогнійній інфекції науково-медичним

спільнотою протягом багатьох років залишається високим: згідно статистиці ресурсу PubMed у 2013 році проблем, пов'язаних з *P. aeruginosa*, у світі було присвячено понад 2700 наукових публікацій. Обсяг інформації про

молекулярні механізми патогенності та антибіотикорезистентності синьогнійної палички розширюється стрімкими темпами. На основі цих даних створюються нові способи діагностики синьогнійної патології, розробляються методи оцінки чутливості *P. aeruginosa* до антимікробних препаратів та детекції механізмів резистентності.

*P. aeruginosa* – це аеробні неферментуючі каталазо- та оксидазопозитивні грамнегативні рухливі психрофільно-мезофільні бактерії-прототрофи, що мають пряму або злегка вигнуту паличкоподібну форму. Клітинна стінка та ЛПС зовнішньої мембрани мають типову для грамнегативних бактерій будову. На зовнішній мембрані синьогнійної палички присутні поверхневі білки (Outer Membrane Proteins, або Omp) [26].

Залежно від типу поверхневі білки виконують різноманітні функції, включаючи транспорт (порини), захоплення заліза (сидерофори), стабілізують зовнішню мембрану при фізіологічних та стресових станах. *P. aeruginosa* не утворює суперечку, формує полісахаридну капсули. Синьогнійна паличка рухлива, має один або два полярно розташованих джгутика. Має твітчинг-рухливість (twitching motility), що реалізується через скорочення-розслаблення пиліок IV типу. Багато штами утворюють слиз, основою якого є альгінат. До складу слизу можуть входити рамноліпіди, PIs-і Pel полісахариди, деривати клітинної ДНК, протеїни [15].

*P. aeruginosa* - це аеробні неферментуючі каталазо- та оксидазопозитивні грамнегативні рухливі психрофільно-мезофільні бактерії-прототрофи, що мають пряму або злегка вигнуту паличкоподібну форму. Клітинна стінка та ЛПС зовнішньої мембрани мають типову для грамнегативних бактерій будову. На зовнішній мембрані синьогнійної палички присутні поверхневі білки (Outer Membrane Proteins, або Omp) [26].

*P. aeruginosa* продукує багатий спектр пофарбованих речовин, які розцінюються як пігменти. Штами, продукуючі відразу два або три пігменти, нечисленні, більшість ізолятів продукують лише одну групу пігментів, трапляються також безпігментні форми. Багато штамів мають гемолітичну активність, вона відтворюється на 5%-ному кров'яному агарі (з еритроцитами барана). Зростання синьогнійної палички часто супроводжується специфічним ароматом, який автори описували по-різному, порівнюючи із запахом винограду, квітучої липи, жасмину та навіть гниючої картоплі. Ймовірно, що відмінності в оцінці ароматів пов'язані не тільки з суб'єктивним сприйняттям дослідників, але й індивідуальними особливостями штамів, що продукують різні спектри летких сполук, головними з яких є 2-аміноацетофенон, 2,4-диметилхіназолін і 4-метилхіназолін (Сох С.Д; 1979). Зустрічаються штами, які не синтезують пахучі речовини.

### ***K. pneumoniae***

*K. pneumoniae* є одним із найвідоміших представників грамнегативного сімейства Enterobacteriaceae нарівні з *Escherichia coli*, і разом вони широко поширені як у лікарнях, так і серед населення [96], і є найчастішими збудниками нозокоміальних інфекцій. У Росії *K. pneumoniae* третій за частотою грамнегативний збудник нозокоміальних інфекцій. У ряді стаціонарів *Klebsiella spp.* – превалюючий мікроорганізм, який становить 24,5% – 43,6% [22]. За даними багатоцентрового епідеміологічного дослідження Марафон у 2011-2012 рр. у 34% випадків ентеробактерії були причиною нозокоміальної інфекції, а *K. pneumoniae* склала 17% у загальній структурі збудників [26]. *K. pneumoniae* вперше була описана в 1875 р. Е. Клебсом, на честь якого й дістала свою назву. Рід Клебсієлл відноситься до сімейства Enterobacteriaceae, до якого входить понад 20 пологів. *K. pneumoniae* є короткі товсті грамнегативні, нерухомі, неспороутворюючі палички, що мають полісахаридну капсулу. Клебсієли є



факультативними анаеробами та хемоорганогетеротрофами, культивуються на простих поживних середовищах. На агаризованих живильних середовищах утворюють круглі слизові оболонки сірувато-білі колонії, в бульйоні – рівномірне помутніння середовища з утворенням тягучого слизового осаду та плівки. Розщеплюють лактозу, тому відносяться до групи коліформних бактерій, що не утворює індолу, оксидазонегативна [27].

### **1.5.2. Фактори патогенності**

Ацинетобактерії є ґрунтовими та водними сапрофітами, вони заселяють будь-які біотопи та контамінують найрізноманітніші об'єкти та матеріали. Природним резервуаром та джерелом інфекції є ґрунт та природні водойми, з якими частіше пов'язане інфікування ранової поверхні. У шпитальних умовах ацинетобактерії можуть бути виявлені на кухонних приладдя, в системах вентиляції та зволоження, на різному медичне обладнання, включаючи контури апаратів штучної вентиляції легень, на шкірі рук персоналу та ін.

Фактори патогенності, що визначають пошкодження тканин та виживання ацинетобактерій в організмі, що активно діють на всіх етапах інфекційного процесу - адгезії, інвазії, у разі дисемінації та персистенції, а також викликають пряму інтоксикацію та забезпечують вислизання від імунної відповіді.

Важливими факторами адгезії є пилки. Адгезія може бути зумовлена не тільки пилками, а й аморфним (полісахаридсодержащим) матеріалом, присутнім у місцях контакту адгезованих бактерій Ацинетобактерії можуть активно проникати через епітеліальні бар'єри. Механізми інвазії включають процеси, спрямовані на руйнування тканинних бар'єрів - клітин та міжклітинної речовини. Факторами інвазії є ферменти,

апоптозіндукуючі білки, сидерофори, ендотоксин (ЛПС) . До ферментів інвазії належать ліпази (в т.ч. фосфоліпази C і D), білки з ДНКазною (OmpA) активністю, серинова протеаза. Фосфоліпази забезпечують руйнування мембранних структур клітин людини.

Ацинетобактерії здатні до внутрішньоклітинної інвазії, персистенції всередині макрофагів та легеневих епітеліоцитів [28]. Серед факторів вислизання від імунних ефektorів найбільше 30 вивчені антифагоцитарні та антикомплементарні фактори. Ряд штамів *A. baumannii* має у складі капсули полісахарид K (його продукція знаходиться під контролем генів *ptk* та *epsA*), який забезпечує виживання мікроба в організмі господаря [32].

Особливе значення для стійкого виживання в організмі (навіть в умовах антибіотикотерапії) має здатність клінічних штамів ацинетобактерій формувати біоплівки [31].

Синьогнійна паличка має великий набір компонентів, які можуть відігравати роль факторів патогенності. При синьогнійній інфекції фактори активно діють на всіх етапах інфекційного процесу – адгезії, інвазії, у разі дисемінації та персистенції, а також викликають пряму інтоксикацію та забезпечують вислизання від відповіді.

Найважливішим чинником адгезії є пили (війки, фімбрії). Другим за значимістю адгезином є білки джгутиків, флагелярні протеїни. У сукупності пили та флагеллін вносять найбільший внесок у реалізацію адгезії на тканинах людини та абіотичних поверхнях [29]. У процесі адгезії може брати участь ліпід A, який ініціює закріплення ліпополісахариду (частиною якого він є) на поверхневих молекулах TLR 1-10 типів (від англ. "Toll-like receptors" - Толл

подібні рецептори) на клітинах легеневої тканини, рогівки. Білки, асоційовані з поверхневою мембраною, також роблять внесок у

адгезивний процес. Поверхневі протеїни із сімейств Omp (LptF), Opr (OprQ, OprF) забезпечували адгезію безпилкових штамів на багатьох субстратах, включаючи муцин, лактотрансферин, ламінін, фібронектин та ін. На поверхні клітини присутні адгезини розпізнаючі сіалові кислоти, гангліозиди, а також адгезивні лектини PA-II та PA-III.

Механізми інвазії включають процеси, спрямовані на руйнування тканинних бар'єрів – клітин та міжклітинної речовини. Як фактори інвазії можуть прямо чи опосередковано виступати ферменти, токсини дистантного та контактного типів, ендотокси (ЛПС), апоптоз-індукуючі білки, сидерофори, вторинні токсини синьогнійного та тканинного походження. Найважливішими протеолітичними ферментами інвазії є два варіанти еластази – LasA та LasB, лужна протеаза (ApgA), протеаза IV (PrpL).

Усі вони характеризуються активністю щодо широкого спектру субстратів. Еластази руйнують еластин, колаген та фібрин, викликаючи деструкцію сполучної тканини та порушуючи ранові бар'єри; вона може викликати деградацію імуноглобулінів класів G та A, інтерферонів . Лужна протеаза активна щодо фібрину, факторів комплементу. Протеаза IV викликає деструкцію еластину, факторів комплементу, молекул імуноглобуліну G і Fe зв'язують білків людини лактоферину та трансферину [30].

Синьогнійна паличка продукує два різні класи екзотоксинів. До першого класу відноситься екзотоксин A (ExoA), другому ЛПС (ендотоксин). Синьогнійна паличка має здатністю продукувати токсин синильну кислоту (гідроген ціанід), яка за рахунок місцевої та загальної інтоксикації

посилює перебіг хронічного бронхо-легеневого запалення при муковісцидозі, асоційованих із синьогнійною паличкою.

Пігменти також розцінюються як фактори інвазії: піоціанін викликає безпосереднє пошкодження епітеліальних тканин, піовердин і піоціанін мають здатність до прямого гемолізу еритроцитів.

Випадання від імунної відповіді реалізується за рахунок антифагоцитарних властивостей у капсульних полісахаридів, ЛПС, флагеліну, білків сімейств Omp та Opr, пігментів, альгінату. Самою досконалою та складною стратегією відходу бактерій від імунної атаки є утворення біоплівки.

Найчастіше *K. pneumoniae* є частиною сапрофітної флори в шлунково-кишковому тракті, вона є умовно-патогенною мікроорганізмом, тобто, за певних умов клебсієли можуть стати причиною різних запальних процесів: пневмонії, захворювання урогенітального тракту, ураження суглобів, гнійно-септичних захворювань, септицемії та менінгітів у новонароджених у відділенні реанімації. Такі умови можуть виникнути при знаходженні пацієнта у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (ОРІТ) на тлі зниження імунітету. Патогенез більшості вищезазначених захворювань найчастіше зумовлений факторами патогенності клебсієлл: продукція термостабільного та термолабільного ентеротоксину, здатність до адгезії (мають пиллями 3 типів), вироблення патогенних ферментів (нейрамінідазу, ДНКаза, фосфатаза) [33].

*K. pneumoniae* має О-ЛПС і К-(капсульні полісахариди) антигенами. Капсула клебсієлл має антифагоцитарні властивостями. Вона сформована двома шарами полісахаридних волокон, утворюючи у внутрішньому шарі щільні товсті пучки, які перпендикулярні до зовнішньої мембрани [34].

## 1.6. Механізми формування резистентності до АМП

Справжній переворот в історії світової медицини стався після відкриття Флемінгом у 1928 р. першого  $\beta$ -лактамного антибіотика пеніциліну. Активне використання АМП розпочалося з 1940 р., що призвело до збільшення середньої тривалості життя, принципово змінивши ставлення до інфекційних хвороб. На сьогодні складно уявити медицину без антибіотиків.

В даний час  $\beta$ -лактами займають лідируюче положення в структурі споживання АМП (60%) [2]. З початку 1980-х років, і до недавнього часу цефалоспорини III, а потім і IV покоління, а також захищені пеніциліни становили основу етіотропної терапії переважної більшості інфекційних хвороб людини [35].

Паралельно з впровадженням нових АМП почали з'являтися стійкі до них мікроорганізми. Так,  $\beta$ -лактамази розширеного спектра дії було виявлено у 1983 році, коли з'явилися перші дані про специфічні ферменти blaSHV, що руйнують природні та напівсинтетичні пеніциліни, цефалоспорини всіх поколінь. Масове застосування як емпірична терапія  $\beta$ -лактамів розширеного спектру призвело до селекції клонів, що продукують БЛРС. Локалізація генів БЛРС на рухомих генетичних елементах сприяло їхньому повсюдному поширенню [24; 26].

Проблема формування стійкості до відомих АМП стала настільки серйозною, що стимулювала почати розглядати антибіотикорезистентність як "нову інфекцію" [24]. Природна або первинна резистентність – це здатність бактерій зберігати життєздатність у присутності АМП у концентраціях, реально досяжних в організмі людини. Ця властивість зазвичай пов'язана з відсутністю у мікроорганізму мішені дії АМП або низьким спорідненістю до наявної мішені, а також є постійним видовим ознакою [25]. В умовах оцінки чутливості також

вказуються дані про природну стійкість до АМП. Наприклад, неферментуюча грамнегативна бактерія *Stenotrophomonas maltophilia* має природну стійкість до карбапенемів та аміноглікозидами. У *K. pneumoniae* відсутня ця властивість, але вона має здатність формувати набуту або вторинну резистентність до різних класів АМП [24]. Під цією властивістю розуміють здатність бактерій зберігати життєздатність при концентраціях АМП, що пригнічують основну частину мікробної популяції [32].

Лікування інфекцій, викликаних продуцентами БЛРС, виявилось складним завданням, оскільки такі бактерії не тільки стійкі до  $\beta$ -лактамів, але й виявляли стійкість до антибіотиків інших груп фторхінолонів та аміноглікозидів. В ситуації, що склалася єдиними ефективними препаратами стали карбапенеми. Протягом тривалого часу вони вважалися антибіотиками «резерву» та їх застосування було обмежене. Однак паралельно із зростанням частоти поширення БЛРС зростав і обсяг споживання карбапенемів, що призвело до формування стійкості та до цих антибіотиків.

Основну загрозу становлять карбапенемази, гени яких локалізовані на різних рухомих елементах, що визначає їх здатність до швидкого внутрішньо-і міжвидового поширення [2; 24].

*A. baumannii*, *P. aeruginosa* та *K. pneumoniae* мають декілька механізмів, що формують антибіотикорезистентність до  $\beta$ -лактамічних антибіотиків: модифікація мішені, зниження проникності зовнішніх структур, активне виведення (ефлюкс) та інактивація [2; 24; 25]. Мішенями дії  $\beta$ -лактамів є ферменти - пеніцилін-зв'язуючі білки (ПСБ), що беруть участь у синтезі клітинної стінки бактерій. В результаті модифікації у деяких ПСБ зменшується їх спорідненість до  $\beta$ -лактамів, що проявляється в підвищенні МПК цих препаратів та зниження клінічної ефективності. Зміна структури ПСБ має

значення для стійкості до  $\beta$ -лактамних антибіотиків серед стафілококів та пневмококів. Серед грамнегативних бактерій резистентність, пов'язана з модифікацією ПСБ, трапляється рідко.

Зовнішня мембрана грамнегативних мікроорганізмів є перешкодою для проникнення  $\beta$ -лактамів усередину клітини. Транспорт антибіотика через зовнішню мембрану до чутливих мішеней здійснюється через лікоподібні білкові структури, отримали назву «поріни» або «поринові канали» . Вони відіграють важливу роль у фізіології бактеріальної клітини для транспорту цукрів, амінокислот, фосфатів, двовалентних катіонів та сидерофорів. Певні гідрофільні антибіотики, такі як  $\beta$ -лактами, аміноглікозиди та фторхінолони, можуть потрапляти в клітину через поринові канали. Відомо, що втрата специфічного поринового каналу може знижувати чутливість до певних АМП [36]. Зазначений механізм стійкості зустрічається практично у всіх грамнегативних бактерій, зазвичай у поєднанні з іншими факторами [25].

У той час як втрата поріна є ефективним бар'єром для входу АМП в клітину, зниження накопичення та активний експорт АМП з клітини (ефлюкс) досягається за рахунок мембран-асоційованого насоса (Рисунок 2).

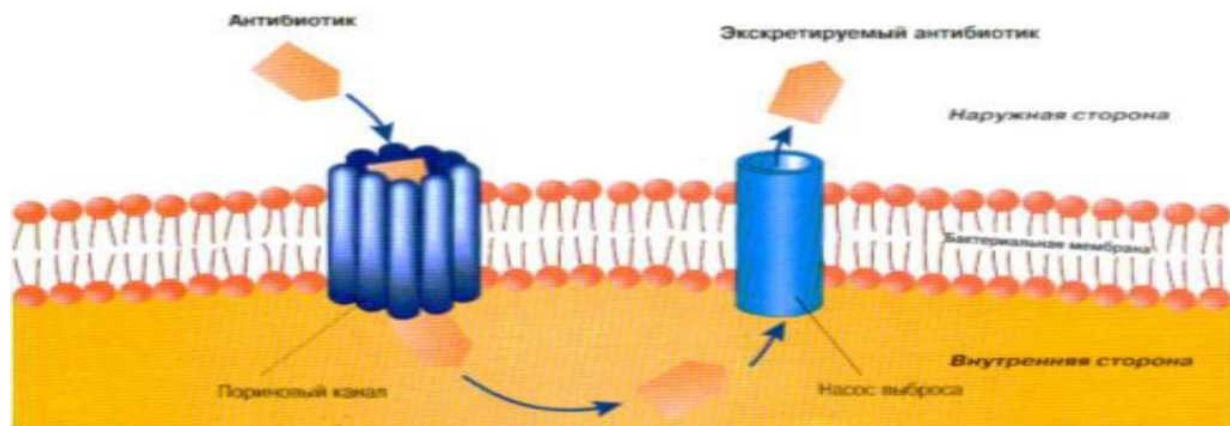


Рисунок 2. Будова ефлюксних систем.

Еффлюксні насоси поділяються на 5 суперсімейств, що розрізняються за амінокислотною послідовністю, енергетичними ресурсами, що витрачаються на експорт АМП, та за субстратною специфічністю. Перша суперродина – ABC – транспортери, друга – SMR (the Small Multidrug Resistance), третя – MFS (the Major Facilitator Superfamily), четверта – RND (Resistance)

Nodulation Division), і п'яте - MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion). Еффлюксна система четвертої суперродини (RND) найбільш поширена серед грамнегативних бактерій, зокрема, у *P. aeruginosa*. Даний механізм забезпечує природну стійкість ізолятів *P. aeruginosa* до цефотаксиму та цефтріаксону [14].

На рисунку 1 представлено схему будови еффлюксного насоса. RND - насос є потрійною системою. До складу системи входять: білок-транспортер, периплазматичний білок-адаптер та білок, що формує канал зовнішньої мембрани.

Інактивація або ферментативний гідроліз відноситься до основних механізмів стійкості бактерій до лактамних антибіотиків. До теперішнього часу описано понад 1000  $\beta$ -лактамаз, що відрізняються за субстратною специфічністю, чутливістю до дії інгібіторів, локалізації генів [2; 22,23,26].

## **1.7. Аналіз чутливості до карбапенемів грамнегативних мікроорганізмів – збудників нозокоміальних інфекцій**



Для визначення чутливості до карбапенемів було обрано *K. pneumoniae* та антибіотики, серед яких були карбапенеми. Чутливість до даних антибіотиків визначається за допомогою методів CLSI та EUCAST.

Відповідно до вимірювання МПК до цефотаксиму та цефтазидиму, всі ізоляти *K. pneumoniae* слід віднести до «не дикого» типу, тобто до тих, хто володіє деякими механізмами стійкості. У той же час, за рівнем чутливості до цефепіму частину ізолятів слід віднести до «дикого» типу, позбавленого механізмів стійкості.

### **1.8. Особливості формування резистентності до АМП у штамів *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae***

Одним із найпоширеніших механізмів придбання лікарської стійкості у *K. pneumoniae* є продукція БЛРС. В останнє десятиліття найчастіше зустрічається, епідемічно що поширився по всьому світу, став СТХ-М тип БЛРС, включає ферменти, що забезпечують стійкість до цефалоспорину розширеного спектра дії [19].

Одним з основних факторів ризику придбання штамів БЛРС у дорослих служить фекальна колонізація, що виникає внаслідок вживання м'яса фермерських тварин, роздрібних продуктів тваринного походження, нещодавнє лікування антибіотиками. Описано випадки широкого поширення БЛРС – носійства у сім'ях. У дітей основним фактором колонізації БЛРС – позитивними *K. pneumoniae* є перебування дитини на ВРІТ. Крім того, колонізації сприяє недоношеність, маловаговість, тривале перебування на апараті штучної вентиляції легень та лікування АМП. За результатами досліджень, що проводилися в Німеччині, ризик колонізації у дітей мікроорганізмами з БЛРС зростає у 6 разів, якщо мами були їх носіями [37].

Таким чином, представники сімейства *Enterobacteriaceae*, зокрема *K. pneumoniae*, є одними з найнебезпечніших збудників нозокоміальної інфекції, т.к. здатні швидко формувати стійкість до основних груп АМП. Ключовим механізмом є продукція  $\beta$ -лактамаз, групи яких різні залежно від регіону, країни та стаціонару.

В даний час доведено, що ацинетобактерії можуть продукувати  $\beta$ -лактамази, аміноглікозидази, тетрациклінази, хінолонази, активують ефлюксні механізми, здійснюють модифікацію мішені макролідів шляхом рибосомального метилювання рРНК. Найактуальнішими ферментами резистентності є  $\beta$ -лактамази. Ацинетобактерії здатні продукувати всі 3 молекулярні класи (А, С і D) серинових  $\beta$ -лактамаз, а також  $\beta$ -лактамази класу В. Ацинетобактерії можуть продукувати кілька типів ферменту КРС: ВРХ-2, ВРХ-3 і ВРХ-4. ВРХ найбільш активно гідролізує пеніциліни, цефалоспорини I-IV покоління, карбапенеми, азтреонам. Фермент GES-14 має аналогічний спектр субстратів, що включає пеніциліни цефалоспорини, карбапенеми, азтреонам [38]. Лактамази типу В (МБЛ) забезпечують гідроліз усіх  $\beta$ -лактамів (включаючи карбапенеми), окрім азтреонама. МБЛ виявляють у меншій кількості клінічних ізолятів, ніж ОХА-ферменти, але при цьому вони характеризуються дуже високої (у 100–1000 разів вище, ніж ОХА) гідролізуючої активністю щодо карбапенемів. МБЛ ацинетобактерій представлені сімействами IMP, VIM, SIM, NDM.

*P. aeruginosa* має природну резистентність до ряду АМП: ампіциліну, амоксицилін-клавуланату, цефазоліну, цефотаксиму, цефтріаксону, ертапенему, канаміцину, неоміцину, тетрацикліну, тигецикліну, триметоприму, триметоприму-сульфаметоксазолу. Для визначення чутливості до АМП, згідно з європейськими рекомендаціям, клінічні ізоляти *P. aeruginosa* слідують тестувати до: піперациліну, піперацилін-тазобактаму, тикарциліну, тикарцилін-

клавуланату, цефепіму, цефтазидиму, доріпенему, іміпенему, імепенему, азтреонаму, ципрофлоксацину, левофлоксацину, амікацину, гентаміцину, нетилміцину, тобраміцину, колістину.

Стійкість до  $\beta$ -лактамних антибіотиків у *P. aeruginos* формується за рахунок продукції  $\beta$ -лактамаз, яка може поєднуватися з іншими детермінантами резистентності. Продукція інактивуючих ферментів може забезпечувати стійкість до аміноглікозидів та карбапенемам, а хромосомні мутації в гені *gyrA* ДНК-гірази резистентності до фторхінолонів. Стійкість до  $\beta$ -лактамних антибіотиків може бути опосередкована порушенням проникності мікробної клітини для антибіотика внаслідок втрати поринового каналу *OprD*, активацією еффлюксних систем (*MexAB\_OprM*, *MexEF\_OprN*, *MexXY\_OprM*), продукцією  $\beta$ -лактамаз класів А, С та плазмідної чи хромосомної локалізації.

Хромосомні  $\beta$ -лактамази класу С (*AmpC*) гідролізують цефалоспорини III покоління та антисинегнійні пеніциліни, в т.ч. інгібіторзахищені, плазмідні  $\beta$ -лактамази розширеного спектру гідролізують цефалоспорини III та IV покоління та азтреонам [18].

### **1.9. Шляхи подолання антибіотикорезистентності**

Відповідно до стратегії ВООЗ, одним із шляхів подолання антибіотикорезистентності є покращення антимікробної терапії [46]. Препаратами резерву для лікування нозокоміальних інфекцій, спричинених полірезистентними *A. baumannii*, є

ампіцилін/сульбактам, поліміксини та тигециклін. Інгібітор сульбактам зберігає активність щодо карбапенем-стійких ізолятів. Поліміксини можуть бути використані для лікування нозокоміальних пневмоній, бактеріємії та

менінгітів, спричинених штамами *A. baumannii*. Тільки у разі відсутності чутливості до інших АМП рекомендується призначення тигецикліну. Однак, для боротьби з полірезистентними штамами *P. aeruginosa* тигециклін не рекомендований, АМП резерву є поліміксини та фосфоміцин [39].

АМП резерву для лікування інфекцій, викликаних карбапенем-стійкими штамами *K. pneumoniae*, є поліміксин В, колистин, фосфоміцин та тигециклін [76]. Однак у 2009 році в Америці було зареєстровано 5 випадків виявлення колістин-резистентних карбапенем-стійких ізолятів *K. pneumoniae*, трохи раніше у 2004 р. у Греції також виявлено подібні ізоляти. У 2010 році в Італії 36% ізолятів *K. pneumoniae* були стійкими до колистину та 20,4% тигецикліну. Тигециклін не рекомендований дітям до 18 років, його призначення в ВРІТ проводиться за відсутності альтернативи у вигляді інших АМП [39]. У 2014 році було запропоновано 7 нових АМП для лікування полірезистентних грамнегативних інфекцій (цефтазидим/авібактам, цефтаролін/авібактам, плазоміцин, еравациклін, азтреонам/авібактам, імipенем/релебактам, цефтолозан/тазобактам), але тільки один із них (цефтазидим/авібактам) був рекомендований для дітей [37]. Цефтазидим/авібактам та цефтралін/авібактам (цефалоспорини) спрямовані на лікування інфекцій, викликаних продуцентами карбапенемаз груп ОХА-48 та КРС; плазоміцин (аміноглікозиди) – КРС, еравациклін (тетрацикліни) – КРС.

Такі епідеміологічні заходи, як ізоляція пацієнтів, ретельна гігієна, персоніфікований медичний персонал та альтернативний антимікробний режим, працюють ефективно на шляху зниження поширення мікроорганізмів, що продукують лактамази. Проведення активного моніторингу виявлення носійства стійких мікроорганізмів також є частиною програми боротьби з поширенням резистентності. Згідно з дослідженням NICU, щотижневе виявлення БЛРС-продукуючих *K. pneumoniae* скоротило частку неонатальної колонізації на 52%.

Проте автори дослідження зазначають, що у періоди активної госпіталізації підвищення числа БЛРС-продукуючих бактерій було пов'язано зі зниженням моніторингу серед персоналу. Зниження споживання АМП у тваринництві та розробка навчальних програм з використання АМП у педіатрії також є одним із ефективних заходів боротьби з появою полірезистентних штамів [37].

Таким чином, проблема раціональної антибіотикотерапії ставить гостро питання виділення ізолятів, що мають множинну лікарську стійкість, а також визначення механізмів резистентності до АМП. Циркуляція подібних ізолятів істотно звужує спектр АМП, що застосовуються, і несе в собі загрозу повсюдного поширення. Тому одним із шляхів подолання антибіотикорезистентності може стати моніторинг стійких ізолятів, вивчення їх фенотипічних та генотипічних властивостей, що допоможе у виборі адекватної антибактеріальної терапії.

## Розділ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ)

Мепенам є синтетичним карбапенемним антибіотиком I покоління. Він має широкий спектр дії по відношенню до більшості грампозитивних і грамнегативних бактерій. Бактерицидна активність Мепенаму обумовлена інгібуванням синтезу клітинної стінки. Високоактивний по відношенню до грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, стійких до інших антибіотиків.

Мепенам використовується лише у вигляді розчину для ін'єкцій. виготовленого з порошку білого кольору з жовтуватим відтінком.

### 2.1 Потреба у цільовому продукті

Карбапенеми є одними із препаратів, що давно та широко застосовується в медичній практиці. Дослідження клінічної ефективності карбапенемів показало ефективність у 98,7 % випадків. Висока ефективність обумовлена тим, що для дослідження було обрано інфекції з найбільшою вірогідністю грампозитивної етіології захворювання, передусім пневмонії, включаючи госпітальну; інфекції сечовивідних шляхів. У 1,3 % випадків препарат виявився неефективним, що, імовірно, обумовлено нечутливістю етіологічного чинника до обраного антибіотика. Такими етіологічними чинниками можуть бути віруси, «атипові» збудники або деякі штами грамнегативної флори.

Карбапенеми для перорального застосування активно використовуються як засіб антибіотикотерапії при лікуванні дітей та дорослих пневмонії, включаючи госпітальну;

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Світельська			Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевірів		Пенчук Ю.М.				14	3
Затвердив		Стадніков			Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу		
					Кафедра БТМ		

В Україні щорічно близько 40 тис. дітей та дорослих захворюють пневмонією.

Карбапенем має бактерицидну дію: ефективний у разі інфекцій, викликаних стафіло- та стрептококами; стійкий до кислого середовища шлунка, швидко та практично повністю засвоюється в кишечнику, що мінімізує його вплив на кишкову мікрофлору та вірогідність розвитку дисбіозу. Близько 80-100 % препарату виводиться нирками в незміненому вигляді, тому він мало впливає на роботу печінки та може використовуватися як один з альтернативних антибактеріальних препаратів для лікування інфекцій. Згідно з даними лікарів загальної практики з Великобританії, ризик гострого ураження печінки при застосуванні препарату становив 2,0 випадки на 100000 хворих. Під час проведення контрольованого дослідження у канадській провінції Саскачеван не встановлено суттєвої залежності між гострою патологією печінки та прийомом карбапенемів . Ризик оцінено як 0,6 випадку на 10000 пацієнтів.

## **2.2. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ**

Імепенем є карбапенемовим антибіотик для парентерального застосування, відносно стабільний до впливу людської <sup>3</sup> ДГП-1, тому не потребує додавання інгібітору ДГП-1. <sup>а тому</sup>  
М .

Імепенем чинить бактерицидну дію шляхом втручання у життєво важливий синтез стінок бактеріальної клітини. Легкість, з якою він проникає у стінки бактеріальної клітини, високий рівень стабільності до всіх серинових

бета-лактамаз та виражена спорідненість з білками, що зв'язують пеніцилін (РВР), пояснюють сильну бактерицидну дію імепенему проти широкого спектра аеробних та анаеробних бактерій. Мінімальні бактерицидні концентрації (МВС) зазвичай є такими ж, як і мінімальні інгібуючі концентрації (МІС). Для 76 % бактерій співвідношення МВС : МІС становило 2 або менше. Імепенем є стабільним у тестах на чутливість. Тести *invitro* показують, що імепенем діє синергічно з різними антибіотиками. Імепенем має пост антибіотичний ефект.

Спираючись на фармакокінетику та співвідношення клінічних та мікробіологічних результатів щодо діаметра зони та мінімальних інгібуючих концентрацій (МІС) для мікро організмів, рекомендується єдиний комплекс критеріїв чутливості до імепенему.

Категоризація	Метод оцінки	
	Діаметр зони (мм)	Критичні точки МІС (мг/мл)
Чутливість	$\geq 14$	$\leq 4$
Проміжний рівень	12 – 13	8
Резистентність	$\leq 11$	$\geq 16$

Антибактеріальний спектр імепенему *invitro* включає більшість клінічно значимих грам-позитивних та грам негативних, аеробних та анаеробних штамів бактерій, як зазначено нижче.

Грам позитивні аероби:

*Bacillus* spp., *Corynebacterium diphtheriae*, *Enterococcus faecalis*,  
*Enterococcus liquifaciens*, *Enterococcus avium*, *Listeria monocytogenes*,



*Lactobacillus* spp., *Nocardia asteroides*, *Staphylococcus aureus* (позитивні та негативні до пеніцилін ази), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Streptococcus pneumoniae* (чутливі та резистентні до пеніциліну), *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus morbillorum*, *Streptococcus Group G*, *Streptococcus Group F*, *Rhodococcus equi*.

Грам негативні аероби:

*Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter anitratus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sorbria*, *Aeromonas caviae*, *Alcaligenes faecalis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Brucella melitensis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter (Pantoea) agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus influenzae* (включаючи позитивні до бета-лактамази та резистентні до ампіциліну штами), *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* (включаючи позитивні до бета-лактамаз, резистентні до пеніциліну та резистентні до спектиноміцину штами), *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Providencia alcalifaciens*, *Pasteurella multocida*,

*Plesiomonasshigelloides*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Pseudomonasputida*,  
*Pseudomonascaligenes*, *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia*,  
*Pseudomonasflourescens*, *Pseudomonasstutzeri*, *Pseudomonaspseudomallei*,  
*Pseudomonasacidovorans*, *Salmonellaspp.*, включаючи *Salmonellaenteritidis/typhi*,  
*Serratiamarcescens*, *Serratialiquefaciens*, *Serratiarubidaea*, *Shigellasonnei*,  
*Shigellaflexneri*, *Shigellaboydii*, *Shigelladysenteriae*, *Vibriocholerae*,  
*Vibrioparahaemolyticus*, *Vibriovulnificus*, *Yersiniaenterocolitica*.

#### Анаеробні бактерії:

*Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces meyeri*, *Bacteroides-Prevotella-*  
*Porphynomonas spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides*  
*variabilis*, *Bacteroides pneumosintes*, *Bacteroides coagulans*, *Bacteroides uniformis*,  
*Bacteroides distasonis*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides*  
*eggerthii*, *Bacteroides capsillosis*, *Prevotella buccalis*, *Prevotella corporis*, *Bacteroides*  
*gracilis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella bivia*, *Prevotella*  
*splanchnicus*, *Prevotella oralis*, *Prevotella disiens*, *Prevotella rumenicola*, *Bacteroides*  
*ureolyticus*, *Prevotella oris*, *Prevotella buccae*, *Prevotella denticola*, *Bacteroides levii*,  
*Porphyromonas asaccharolytica*, *Bifidobacterium spp.*, *Bilophila wadsworthia*,  
*Clostridium perfringens*, *Clostridium bifermentalis*, *Clostridium ramosum*,  
*Clostridium sporogenes*, *Clostridium cadaveris*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium*  
*butyricum*, *Clostridium clostridiiformis*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium*  
*subterminale*, *Clostridium tertium*, *Eubacterium lentum*, *Eubacterium aerofaciens*,  
*Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium nucleatum*,  
*Fusobacterium varium*, *Mobiluncus curtisii*, *Mobiluncus mulieris*, *Peptostreptococcus*  
*anaerobius*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus saccharolyticus*,  
*Peptococcus saccharolyticus*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus*,  
*Peptostreptococcus magnus*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Propionibacterium acnes*,  
*Propionibacterium aidum*, *Propionibacterium granulosum*.

*Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* та стафілококи, резистентні до метициліну, є резистентними до імепенему.

При виборі імепенему як засобу лікування слід брати до уваги доцільність застосування антибактеріального засобу групи карбапенемів, враховуючи такі фактори, як тяжкість інфекції, поширеність резистентності до інших відповідних антибактеріальних засобів, а також ризик вибору препарату щодо бактерій, стійких до карбапенемів.

Були зареєстровані, як і при застосуванні інших бета-лактамних антибіотиків, серйозні, а іноді летальні, реакції підвищеної чутливості.

Пацієнти, у яких в анамнезі зареєстровано випадки підвищеної чутливості до карбапенемів, пеніцилінів або інших бета-лактамних антибіотиків, можуть також мати підвищену чутливість до імепенему. Перед початком терапії імепенемом слід провести ретельне опитування щодо попередніх реакцій підвищеної чутливості до бета-лактамних антибіотиків.

При виникненні тяжкої алергічної реакції застосування препарату слід припинити та вдатися до відповідних заходів.

При застосуванні практично всіх антибактеріальних препаратів, у тому числі імепенему, були зареєстровані випадки коліту, пов'язаного із застосуванням антибіотиків, і випадки псевдомембранозного коліту, ступінь тяжкості яких може варіювати від легкого до такого, що становить загрозу життю. Тому важливо взяти до уваги можливість такого діагнозу у пацієнтів, у яких під час або після застосування імепенему виникла діарея. Слід розглянути

питання про припинення лікування імепенемом та застосування специфічного лікування, направлено проти *Clostridium difficile*. Не слід призначати лікарські засоби, які пригнічують перистальтику кишечника.

Під час лікування карбапенемами, у тому числі імепенемом, рідко повідомлялося про напади.

У зв'язку з ризиком розвитку печінкової токсичності (порушення функції печінки з холестазом і цитолізом) під час лікування імепенемом слід ретельно контролювати печінкові функції.

Застосування препарату пацієнтам із захворюваннями печінки: під час лікування імепенемом у пацієнтів з уже існуючими захворюванням печінки слід ретельно контролювати печінкові функції. Коригування дози препарату не потрібне.

Лікування імепенемом може спричинити розвиток позитивного прямого або непрямого тесту Кумбса.

Одночасне застосування імепенему і вальпроєвої кислоти/вальпроату натрію не рекомендується.

Мепенам містить близько 4,0 мЕкв натрію на 1 г дози препарату, що необхідно враховувати при призначенні препарату пацієнтам, які перебувають на дієті з контрольованим вмістом натрію.

## **2.3 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу**

### **2.3.1 Обґрунтування форми випуску ЛЗ**

Випускається у формі порошку для розчину для ін'єкцій. Така форма випуску має свої переваги, такі як: простота готування, точність дозування, універсальність складу, зручність збереження і транспортування.

### **2.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ**

Пакувальна система, де розміщується безпосередньо сам фармпрепарат, вважається частиною самої продукції, забезпечує її безпеку протягом усього зазначеного терміну придатності.

Флакони є зручною упаковкою для сипучих речовин. Адже в ньому зручно зберігати та транспортувати такий ЛЗ. Такий вид первинної упаковки є герметичним, отже препарат залишиться стерильним, що є важливим для здоров'я пацієнта.

Спеціалізоване пакування для ліків з ідентифікаційними даними, призначене для збереження вмісту, а також для здійснення належного обліку фармтовару в єдиній базі. Вона має більшу інформативність. Для її виготовлення може використовуватися картон, полімерні матеріали або термозбіжна поліетиленова плівка. До вторинної упаковки лікарських фармпрепаратів пред'являються такі вимоги: інформативність, повинні містити відомості про зберігання та прийом, чіткість надрукованої інформації та контроль першого розчину.

## 2.4 Обґрунтування вибору біологічного агента

Карбапенеми, порівняно з пеніцилінами і цефалоспоринами, більш стійкі до  $\beta$ -лактамаз і мають більш широкий спектр активності. Всі сучасні посібники з лікування НП (вітчизняні та зарубіжні) рекомендують усі три антисинегнійні карбапенеми як препарати першого ряду, маючи на увазі їхню однакову ефективність. Дійсно, значних відмінностей у клінічній та бактеріологічній ефективності імепенему, меропенему та доріпенему встановлено не було. Однак, за даними досліджень *in vitro*, імепенем має переваги: у нього вища активність щодо *P. aeruginosa*, штамів, стійких до інших карбапенемів, до нього рідше розвивається резистентність. Крім того, у кількох дослідженнях показано фармакоеконімічні переваги застосування доріпенему перед імепенемом та імепенемом. На жаль, кількість досліджень у цій галузі обмежена, особливо у РФ. Таким чином, питання вибору найбільш клінічно та економічно ефективного карбапенему при лікуванні НП залишається відкритим.

*Streptomyces catteleyae* грампозитивною бактерією, яка виробляє цефаміцин, пеніцилін і тіснаміцин. Бактерія експресує фермент фториназу, і організм був використаний для розуміння біосинтезу фторацетату та антибактеріального 4-фтор-L-треоніну .

Таблиця 2.4.1

Біологічний агент	Склад поживного середовища г/л(мл/л)	Концентрація цільового продукту, мг/л	Тривалість процесу, год	Використана література
<i>Streptomyces cattleya</i> NRRL 8057	Фруктоза – 30 Соеве молоко – 30 мл/л; CaCO <sub>3</sub> – 2	1530	144	<u>Valérie Barbe<sup>1</sup>, Madeleine Bouzon, Sophie Mangenot, Bernard Badet, Julie Poulain, Béatrice Segurens, David Vallenet, Philippe Marlière, Jean Weissenbach</u> <a href="#">Complete genome sequence of <i>Streptomyces cattleya</i> NRRL 8057, a producer of antibiotics and fluorometabolites</a> J Bacteriol. 2011 Sep;193(18):5055-6. doi: 10.1128/JB.05583-11.
<i>Streptomyces argenteolus</i> ATCC 11009	Соеве брошно – 10; фруктоза – 15; L-треонін – 1г/л; MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O - 0,5 г/л (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 0,5г/л	860	144	<u>Rongfeng Li<sup>1</sup>, Evan P Lloyd, Kristos Moshos, Craig A Townsend</u> <a href="#">Identification and characterization of the carbapenem MM 4550 and its gene cluster in <i>Streptomyces argenteolus</i> ATCC 11009</a>

	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 1,0 г/л ; NaCl – 3 г/л; CaCO <sub>3</sub> - 2 г/л.			Chembiochem. 2014 Jan 24;15(2):320-31. doi: 10.1002/cbic.201300319.
--	---	--	--	--

За результатами таблиці 2.1. можна зробити висновок, що біологічні агенти культивуються за однакових умов, але *S. cattleya* NRRL 8057 синтезує найбільше антибіотику 1530 мг/л.

Порівняння запропонованих штамів на цих поживних середовищах наводиться в (табл.2.4.2).

Таблиця 2.4.2.

#### Вартість компонентів поживного середовища для культивування

Біологічний агент	Концентрація кожного компонента поживного середовища, г/л (мл/л)	Ціна компонентів поживного середовища, грн/кг	Вартість компонентів (грн) для приготування 1 л середовища	Джерело інформації (1,2,3) *
<i>Streptomyces cattleya</i> NRRL 8057	<b>Середовище №1:</b> Фруктоза 30	115,94	2,32	4
	соєве молоко 30 мл/л	0,28	0,0084	1
	CaCO <sub>3</sub> 2	6,09	0,0121	4
	Вартість 1 л. середовища – 2,34 грн.			
<i>Streptomyces argenteolus</i> ATCC 11009	<b>Середовище №2:</b> соєве брошно 10	11,39	0,11	3
	фруктоза 15	115,94	1,739	4
	L-треонін 1	30,4	0,003	2
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,5	18,31	0,009	4

**Примітка:** Ціни наведено станом на грудень 2022р.



- 1) <http://soya.tekmash.ua/an-feed-ec.php>:
- 2) <http://otkorm.com/p12324969-lizin-treonin-meteonin.html>;
- 3) <http://www.agroru.com/doska/soevaya-muka-ljubaya-ot-proizvoditelya-dostavka-dmitrij-8-90-36978.htm>;
- 4) <http://www.labor.promzone.ua>.

За результатами таблиці 2.4.2. можна зробити висновок, що вартість 1л середовища для культивування не досить сильно відрізняється, проте концентрація цільового продукту за рахунок використання саме *S. cattleya* NRRL 8057 у середовищі 1 більша ніж у середовищі 2 за використання мікроорганізму *S. argenteolus* ATCC 11009. Проте, остаточні висновки робити зарано, тому пропоную для детальнішого пошуку найдоцільнішого продуценту розрахувати умовну вартість 1мг цільового продукту для вищезгаданих штамів даного мікроорганізму (табл.2.4.3).

Таблиця 2.4.3.

**Умовна вартість 1 мг цільового продукту при культивуванні *S. cattleya* NRRL 8057 та *S. argenteolus* ATCC 11009**

Біологічний агент	Вартість 1л середовища, грн	Концентрація цільового продукту, мг/л	Умовна вартість цільового продукту, грн/мг	Тривалість культивування, год	Концентрація цільового продукту, синтезованого за год, мг/год
<i>S. cattleya</i> NRRL 8057	2,34	1530	0,0015	144	10,6
<i>S. argenteolus</i> ATCC 11009	1,93	850	0,0023		5,9

Аналізуючи таблицю 2.4.3., можна зробити висновок про те, що перспективним мікроорганізмом для виробництва тієнаміцину є *S. cattleya* NRRL 805 7 за рахунок його високої біосинтетичної активності та єдиним недоліком цього мікроорганізму є дещо дорожче поживне середовище для культивуванні але умовна ціна на продукт менша

### 3. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

#### *Машина для миття флаконів*

Миття зовнішньої і внутрішньої поверхні флаконів здійснюється в основному із застосуванням шприцевого або ультразвукового методу або їх комбінацій.

Метод шприцювання оснований на обробці флаконів під тиском профільтрованими водою очищеною, паром, повітрям при положенні флакона горловиною вниз.

Ультразвуковий спосіб миття оснований на використанні коливань, що випромінюються магнітострикційними перетворювачами, вмонтованими у дно або кришку апарата. При даному способі миття флакони занурені у воду на певній відстані від випромінювачів.

На сьогоднішній день існує обладнання яке поєднує в собі два способи миття, до такого обладнання відноситься **Машина для миття флаконів CLQ** призначена для мийки флаконів місткістю 2...20 мл., відповідає вимогам GMP.

Принцип дії:

Флакони з спрямовуючого лотка шнековим транспортером подаються у закріплені на поворотному столі носії, в яких вони транспортуються по всіх стадіях технологічного процесу. Попереднє миття флаконів здійснюється з використанням ультразвукового генератора.

Внутрішня мийка виробляється шприцюванням очищеною водою. Подальше ополіскування проводиться ін'єкційною водою. На заключній стадії проводиться сушіння флаконів гарячим повітрям.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Світельська			Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	Лім.	Арк.	Акрушів
Перевіриє		Пенчк Ю.М.					53	6
Затвердиє		Стадніков				Кафедра БТМ		

Робочі поверхні виготовлені з високоякісної сталі AISI 316L. Проста переналадження на інший розмір флакона. Оптимізований витрата води. Тип CLQA-60 CLQA-80 CLQA-100

Продуктивність (флакон / ч):

1,2мл - 21000

5 мл - 16000

10мл -11000

20мл - 6000

споживання електрики 15.7кВт

Витяжка повітря 100м<sup>3</sup> / ч

поживання стисненого повітря: 0.6МПа 40м<sup>3</sup> / ч

Споживання W F I: 0.2-0.3МПа 0.5м<sup>3</sup> / год

Габаритні розміри 2400x2400x1500мм

Вага близько 2300кг



Рис 1. Машина для миття флаконів CLQ

### ***Обладнання для стерилізації флаконів***

На цьому етапі використовуються сушильно-стерилізаційні установки тунельного типу, де флакони проходять три зони: нагрів до температури стерилізації, витримка при цій температурі протягом заданого часу і охолодження. У всі зони тунеля подається профільтроване через фільтр

тонкого очищення стерильне повітря в ламінарному потоці. Температура стерилізації в зоні повинна підтримуватися в межах  $315 \pm 35$  °С, залежно від цього тривалість стерилізації складає від 5 до 30 хвилин.

Прикладом використовуваного устаткування для стерилізації може служити тунель сушильної стерилізації (камера Крупіна, Росія); установка сушильної стерилізації LAS (Данія); тунельний стерилізатор «Пірокленз» (Голландія) та ін.

**Стерилізаційний тунель SH-B** призначений для стерилізації скляних флаконів в безперервному режимі. Використовується в складі автоматичної лінії.

Принцип дії:

Флакони в тунелі переміщуються за допомогою сігчастого транспортера. Вони проходять три технологічні зони. У першій зоні відбувається попередній нагрів флаконів, у другій зоні - стерилізація, в третій - охолодження. Температура гарячого повітря автоматично регулюється і реєструється, що гарантує надійність процесу стерилізації. Тунель забезпечений оглядовими вікнами, що дозволяють вести візуальне спостереження за процесом. Внутрішні елементи виготовлені з високоякісної сталі AISI 316L. Управління за допомогою програмованого логічного контролера.

Продуктивність фл. / час 4500 ... 21000

Швидкість транспортера мм / хв 0 ... 400

Ширина транспортера мм 800

Встановлена потужність кВт 54

Температура нагріву повітря ° С 50 ... 350

Точність підтримки температури ° С  $\pm 5$

Габаритні розміри, ШхГхВ (з піднятою кришкою) мм 5000x1500x2250

Вага кг 2500



Рис 2. Стерилізаційний тунель SH-B

### ***Обладнання для миття гумових пробок і алюмінієвих ковпачків***

Миття пробок і ковпачків включає декілька операцій по чергової обробки миючими розчинами і обполіскування.

НТД регламентує наступну послідовність обробки пробок: відмивання гумової крихти й інших механічних забруднень, миття в розчині миючого засобу, дозволено до застосування, кип'ятіння в розчині натрію їдкого, соди кальцинованої або тринатрійфосфату, кип'ятіння в розчині кислоти хлороводневої.

Після кожної операції проводять обполіскування пробок проточною водою, потім очищеною.

Останнє обполіскування проводять проточною водою для ін'єкцій, профільтрованою через мембранний фільтр з порами розміром не більше 0,5 мкм.

**Машина для миття гумових пробок SC-4U** призначена для мийки, стерилізації, силіконування і сушки під вакуумом гумових пробок.

Принцип дії:

Гумові пробки спільно з миючими препаратами завантажуються в робочий барабан машини з боку підготовчого відділення. Весь робочий цикл відбувається в автоматичному режимі. Поточні дані по фактично виконуваної

операції, а також температурні режими роботи машини відображуються на операторській НМІ-панелі. Вивантаження пробок здійснюється з боку чистого приміщення. Поверхні, що контактують з продуктом, виготовлені з високоякісної сталі AISI 316L. Управління за допомогою програмованого контролера, через операторську НМІ-панель. Машина вбудовується в стіну чистого приміщення.

Використання такої машини для підготовки гумових пробок дозволить не лише ефективно його очистити, а й нанести покриття «Омніфлекс», що забезпечить високий ступінь закупорювання, завдяки відсутності хімічної взаємодії з препаратом.



Рис 3. Машина для миття гумових пробок SC-4U

#### Технічні характеристики

Разове завантаження	пробки (20мм) шт.	40000
Робочий об'єм 400	Л	400
Температура стерилізації	°С	121

Час циклу	годин	3-4
Тиск	пара МПа	0,14
Температура силіконування	° С	70 ... 90
Споживана потужність	кВт	24
Габаритні розміри	ШхГхВ мм	2350x1500x1900
Вага	кг	2500

### *Вибір машини для закриття флаконів*

**Машина для закриття флаконів ковпачком СН** застосовується для закриття флаконів ковпачком.

#### Принцип роботи:

У машині використана технологія з єдиним ножем, який рухається вздовж, що відповідає новітньої технології закриття. Рівномірна подача ковпачка і ексцентричне рух ножа закачування забезпечують найкраще закриття контейнера. Процес закриття складається з наступних фаз: подача контейнера, подача ковпачка, закриття і підрахунок кількості продукту.



Рис 4. Машина для закриття флаконів ковпачком СН



Технічні характеристики:

Тип CH250 CH400

Розмір контейнерів, мл 2-30

Продуктивність, шт / год 6000-15000

Відсоток браку, %  $\leq 0.1$

Потужність, кВт 2,5

Габаритні розміри, мм 2145x1750x1800

Вага, кг 900

### ***Машина для поверхневого миття флаконів***

Для безпеки персоналу, що контактує з даним продуктом під час стадій транспортування і упаковки, а також для виключення контамінації продуктів, дуже важливо очищати їх поверхню. Область застосування: в медичній промисловості: для виробництва антибіотиків, вітамінів, екстрактів і т.д. у хімічній промисловості для виробництва проміжних ланок при виробництві реактивів та інших небезпечних препаратів.

### **Мийка та сушка флаконів поверхнева VL-SW**

Машина призначена для:

- Очищення поверхні контейнерів після наповнення;
- Повне очищення контейнерів;
- Проста зміна формату; Точний контроль потоку і тиску води і повітря;
- Можливість виготовлення меню програми відповідно до вимог замовника;
- Чистий і висушений контейнер значно спрощує етикетування;
- Висока продуктивність;
- Низьке споживання, в якості води очистки може використовуватися рециркуляційна вода;

- Низький рівень шуму;
- Асептичний дизайн;

Технічні характеристики:

Модель: VL-SW100

Об'єм контейнерів: 0.5мл до 250мл;

Продуктивність: 500флаконов / хв;

Висота конвеєра:  $930 \pm 30$ мм;

Напруга: 50Гц;

Стиснене повітря: хв 6бар,

споживання 140-190м / чЗ;

Потужність: 1-18кВт, залежно від необхідної температури повітря та води; Тиск води: 2-4бар.



Рис 5. Автомат для миття та сушки флаконів поверхнева VL-SW

**4. Специфікація обладнання (етапи виділення та очищення, отримання ЛЗ)**

Позначення	Найменування	Кількість	Примітка
1	2	3	4
Р-8 Р-9 Р-10 Р-11	Реактори для дезінфікуючих розчинів	4	Реактор-змішувач для дезінфікуючих розчинів. Циліндричний апарат з сферичною кришкою і днищем, з нижнім спуском.
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Повітрязабірник. Обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень. Нестандартне обладнання
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр першого ступеня очистки комірковий повітряний. Продуктивність – 1540 м <sup>3</sup> /год. Площа робочого січення – 0,22 м <sup>2</sup> .
К-3	Компресор	1	Компресор, нагнітання повітря під тиском 0,25-0,3 МПа
Р-1	Ресивер	1	Ресивер (повітрязбірник). Вертикальний циліндричний апарат з еліптичним днищем. Об'єм 10 м <sup>3</sup> . Тиск 1,6 МПа. Розміри 2000×3600 мм.
Т-5	Теплообмінник кожухотрубний	1	Теплообмінник-охолоджувач кожухотрубний. Продуктивність 1 т/год. Потужність 0,02 Гкал/год. Діаметр корпусу 25 мм. Довжина 300 мм. Маса 3 кг
Т-6	Теплообмінник з електронагрівом	1	Теплонагрівач зі спуском конденсату Німеччина

НУХТ ВТЕК 02.03.06 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив		Світельська		
Перевірів		Пенчук Ю.М.		
Затвердив		Стадніков		

**Специфікація обладнання (етапи виділення та очищення, отримання ЛЗ)**

Літ.	Арк.	Акруціє
	61	6
<b>Кафедра БТМ</b>		

Ф-7	Фільтри тонкої очистки F5	1	Фільтр першого ступеня очистки карманний повітряний. Продуктивність – 2800 м <sup>3</sup> /год. Площа робочої зони – 1,4 м <sup>2</sup> .
Ф-8 Ф-15 Ф-16 Ф-17	Фільтр надтонкої очистки (HEPA14), із фторопласту	4	Фільтр для стерилізуючої фільтрації повітря. Продуктивність – 1550 м <sup>3</sup> /год.
Н-12 Н-13 Н-3 Н-5 Н-28	Насоси	5	Відцентровий, тип KRSH 32/160, продуктивність 30 м <sup>3</sup> /год, потужність двигуна 2,5 кВт, висота напору 40 м.
Р-2 Р-3 Р-4 Р-6 Р-7 Р-40	Збірники змішувачі-стерилізатори	5	Збірники. Циліндричний апарат з сферичною кришкою і днищем, з нижнім спуском.
Р-5	Стерилізатор з електронагрівачем	1	Збірник. Циліндричний апарат з сферичною кришкою і днищем, з нижнім спуском та електронагрівачем.
ФР-1 ФР-2	Інокулятори	2	Інокулятор. Циліндричний апарат з еліптичним днищем. Апарат з односекційною сорочкою, з трубою перетискування, з турбінною мішалкою. Розміри: Ємність 60 та 630 л. Має клапан для відбору проб.
ФР-3	Посівний апарат	1	Посівний апарат. Циліндричний апарат з еліптичним днищем. Апарат з односекційною сорочкою, з трубою перетискування, з турбінною мішалкою. Швидкість перемішування:

			250-350 Об/хв. Розміри: Ємність 6,3 м <sup>3</sup> . Має клапат для відбору проб.
Фр-4	Виробничий ферментер	1	Ферментер. Циліндричний апарат з еліптичним днищем місткістю 50 м <sup>3</sup> . З механічним перемішуванням, барботером, двосекційною рубашкою, турбінною мішалкою, клапаном для відбору проб. Швидкість перемішування: 250-350 Об/хв.
УНС-25	Установка безперервної стерилізації	1	Установка безперервної стерилізації. Продуктивність 25 м <sup>3</sup> /год., конструктивно складається з насосу(Н-12), колонки швидкісного нагріву(К-9), витримувача(Т-14), теплообмінника-рекуператора(Т-10) та до охолоджувача(Т-11). В збірник, об'єм якого 40 м <sup>3</sup> , через дозатор подають сипкі компоненти поживного середовища. Збірник оснащений турбінною мішалкою для перемішування, сорочкою, в яку подають пару для підігріву середовища, нижнім зливом під'єднаним до системи каналізації. Насос подає підігріте поживне середовище до колонки швидкісного нагріву, де форсункою подається гостра пара, яка швидко нагріває середовище. Витримувач являє собою трубопровід по якому рухається нагріте до заданої температури поживне середовище. Теплообмінник-

			рекуператор – пластинчастий теплообмінник в якому тепло від простерилізованого середовища передається нестерильному середовищу через поверхню теплообміну. Теплообмінник-доохолоджувач охолоджує стерильне поживне середовище до температури 30 °С. Стерильне поживне середовище витискується до посівного апарату та виробничого ферментера.
ЗБ-2	Збірник-коагулятор	1	
З-34	Змійовик	1	
ВФ-4	Барабаний вакуум-фільтр	1	Вакуум-барабаний фільтр БОН18-1,8-1Г, потужністю 3,3 кВт. Виробник ООО «Гидротренд».
К-6	Колонка швидкісного нагріву	1	
Т-7	Теплообмінник-витримувач	1	
Т-8	Теплообмінник «труба в трубі»	1	
ФП-9	Фільтрпрес	1	
ЗБ-12		3	Екстрактори фірми «Rousselet Robatel» Чехія, сериї ВХР

ЗБ-14 ЗБ-21	Збірники-екстрактори		210PL потужністю 0,75 кВт та продуктивністю 4200 л/год.
Д-1 Д-10 Д-17 Д-20 Д-23 Д-26	Дозатори	6	
ЗП-11 ЗП-15 ЗП-16 ЗП-19	Змішувачі пристрій	4	
С-13 С-18 С-22	Сепаратори	3	Сепаратори фірми «Alfa Laval» Швеція, ВТАХ, сепаратор має продуктивність від 1 до 12 м <sup>3</sup> /год
ЗБ-24 ЗБ-27 ЗБ-31	Збірник змішувач	3	
Ф-25	Друк-фільтр	1	Компанії «FitroDryer» Італія, FPP 400 продуктивністю 3,98 м <sup>3</sup>
Ц-30	Центрифуга	1	Центрифуга компанії «НПФ Ньютон ООО», Краснодар, продуктивність 1500-4500 л/год, потужність 4кВт.

BC-32	Вакуум-сушильна установка	1	Вакуум-барабанна сушарка використовується Нідерландської фірми «Goudsche Machinefabriek» Гауда.
ВВУ-29	Вакуум-випарювальна установка	1	Вакуум -випарювальна установка фірми «Агроماش» м. Дмитров. Виготовлення під замовлення
ГК-33	Гріюча камера	1	
Н-36	Насос шестиренний	1	
ВП-37	Випарювач	1	
ФП-38	Пакувальна установка	1	Виробник ПП «Система оптимум», Львів, продуктивність 5-6 мішків/хв



## 5. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ

### *Відділення біомаси*

Зазвичай для відділення міцелію від культуральної рідини застосовують вакуум-барабанні фільтри безперервної дії. Фільтрацію починають до початку автолізу міцелію, оскільки при фільтрації автолізованої культури міцелій не утворює щільної плівки на фільтруючій поверхні барабана, а налипає у вигляді окремих тонких грудок, які самі не відходять в зоні «отдувкой» фільтра, і їх доводиться видаляти вручну. При цьому тривалість фільтрації збільшується в 2 - 3 рази, вихід фільтрату різко падає, а сам фільтрат виходить дуже каламутним. Необхідно ретельно дотримуватися умов, що перешкоджають руйнуванню пеніциліну під час фільтрації - охолодження нативного розчину до 4-6 °С і систематична (після кожного завантаження) обробка фільтра, комунікацій та збірників антисептиками, наприклад аквідезом. Фільтр також повинен систематично стерилізуватися гострим паром.

Для фільтрації використовують вакуум-барабанний фільтр БОН18-1,8-1Г, потужністю 3,3 кВт. Виробник ООО «Гидротренд». *Рис 5.1*

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		Світельська			<b>Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрюків</i>
<i>Перевірів</i>		Пенчук Ю.М.					67	5
<i>Затвердив</i>		Стадніков				<b>Кафедра БТМ</b>		



*Рис 5.1.* Вакуум-барабанний фільтр БОН18-1,8-1Г.

### **Очистка імепенему**

Нативний розчин містить 3-6% сухих речовин. На мінеральні речовини припадає 30-40% сухого залишку, від 15 до 30% припадає на імепенему, а решту представляє складну суміш органічних речовин, включаючи білки, поліпептиди, низькомолекулярні азотисті сполуки, вуглеводи, різні органічні кислоти і, в залежності від штаму продуцента, та або інша кількість пігменту. Для виділення імепенему з цієї складної суміші можна користуватися методами, заснованими на адсорбції, екстракції або осадженні.

У промисловості витяг активної речовини з нативного розчину заснований на екстракції не змішується з водою розчинником при пригніченою дисоціації карбоксильної групи імепенему. У розчинник, крім імепенему, переходить велика частина органічних кислот. Мінеральні забруднення, велика частина азотистих з'єднань та інших органічних речовин залишаються у водній фазі, так що в результаті екстракції чистота продукту збільшується в 4-6 разів.

До розчинників, застосовуваних для екстракції імепенему, пред'являються наступні основні вимоги:

- 1) мала розчинність у воді;
- 2) відсутність взаємодії з імепенемом;
- 3) низька пружність пари при температурі 5-30 ° С;
- 4) можливість регенерації при температурі не вище 120 - 140 °;
- 5) низька вартість.

З урахуванням цих та ряду інших показників основними розчинниками-екстрагент були прийняті бутилацетат та амілацетат.

При кислих значеннях рН імепенему нестабільний, тому при екстракції в органічний розчинник необхідно суворо контролювати рН, підтримуючи його в межах 1,9-2,0, проводити екстракцію в можливо короткий час, охолоджувати рідини.

При екстракції імепенему з нативного розчину утворюються вельми стійкі, важкороздільні емульсії, що обумовлено наявністю в нативному розчині поверхневоактивних речовин. Це вимагає застосування спеціальних деземульгаторов. Зазвичай для цієї мети застосовують аніонні детергенти, наприклад сульфовані жирні або нафтонові кислоти. Зазвичай вибір детергенту визначається його доступністю і економічними міркуваннями. Для поділу емульсії в екстракторах-сепараторах, як правило, досить додавати до нативному розчину 0,05-0,1% детергенту.

На стадії екстракції імепенему з нативного розчину використовуються або багатоступінчасті екстрактори-сепаратори типу «Лувеста», або двоступенева схема екстрагування (контактування підкисленого нативного

розчину з бутилацетатом в спеціальних змішувачах і поділ емульсії на відцентрових сепараторах типу саж-3). Застосування ефективних відцентрових екстракторів-сепараторів (із продуктивністю 4000-5000 л / год), що забезпечують принаймні два ступені екстракції в одній машині і хороше розділення фаз, зводить до мінімуму час перебування препарату в кислому водному середовищі і, отже, підвищує вихід антибіотика. Застосування двоступеневої схеми при екстракції з нативного розчину, безумовно, небажано не тільки внаслідок більш тривалого часу перебування імепенему в несприятливих умовах у цьому випадку, але і внаслідок того, що застосування сепараторів саж-3 (продуктивність яких коливається в межах 800 - 1000 л / годину) не завжди забезпечує досить повне розділення фаз. Це тягне за собою погіршення якості бутилацетатного екстракту (забруднення нативним розчином) і збільшення втрат бутилацетату з відпрацьованим нативним розчином. Співвідношення фаз при проведенні бутилацетатної екстракції імепенему з нативного розчину становить 1,0:0,3-0,45, температура 4-3 ° С.

Після проведення бутилацетатної екстракції імепенему з нативного розчину виробляють витяг препарату з бутилацетатного екстракту водним розчином бікарбонату натрію або буферним розчином при рН 6,6-7,2. На цій стадії також застосовують багатоступінчасті екстракційні машини або використовують двоступеневу протivotочну екстракцію з поділом емульсії на сепараторах з відношенням розчинник-водна фаза 1.0:0,35. Вихід по бутилацетатній і буферній екстракції становить близько 90-92%.

Для подальшого очищення імепенем повторно витягують з буферного екстракту органічним розчинником (найчастіше бутилацетатом або хлороформом) при рН 2,0. Процес ведеться аналогічно бутилацетатній екстракції з нативного розчину. Ця стадія технологічно оформляється також із застосуванням багатоступеневих екстракційних машин або здійснюється у

вигляді двоступеневої противоточної екстракції з поділом фаз на сепараторах. Вихід складає близько 86% від кількості імепенему, що міститься в нативному розчині.

Весь екстракційний процес вилучення та хімічного очищення імепенему проводиться по безперервній схемі.

На підприємстві використовується 4 екстрактори фірми «Rousselet Robatel» Чехія, сериї ВХР 210РLпотужністю 0,75 кВт та продуктивністю 4200 л/год. *Рис.5.2.* Також використовуються сепаратори фірми «Alfa Laval» Швеція, ВТАХ, цей сепаратор має продуктивність від 1 до 12 м<sup>3</sup>/год. *Рис.5.3.*



*Рис.5.2* Екстракторфірми «Тирит», LX 527.



*Рис.5.3* Сепараторфірми «Alfa Laval», ВТАХ.

## Розділ 6. Опис технологічної схеми (отримання ЛЗ)

Технологічна блок-схема являє собою спрощене графічне відображення послідовності виконання робіт в даному виробництві з розділенням їх по стадіях і операціях технологічного процесу.

### ДР 1. Санітарна підготовка виробництва.

Виробництво ін'єкційних препаратів проводиться в асептичних умовах, в зв'язку з цим проводиться санітарна підготовка виробництва: приміщень, персоналу, обладнання, повітря, води.

#### ДР 1.1. Підготовка персоналу до виробництва

Підготовка персоналу до виробництва полягає в тому, що персонал повинен пройти навчання та інструктаж, а також дотримуватися правил особистої гігієни. Також персонал є одним з основних джерел забруднень готового продукту. Протягом однієї хвилини людина, не рухаючись, виділяє 100 тис.частинок. Ця цифра зростає до 10 млн під час інтенсивної роботи. Середня кількість мікроорганізмів, що виділяються людиною за 1 хв, досягає 1500—3000. Тому захист ліків від забруднень, джерелом яких служить людина, є однією з основних проблем технологічної гігієни; і вирішується вона, як правило, завдяки особистій гігієні співробітників і використанню технологічного одягу.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Світельська			Опис технологічної схеми отримання ЛЗ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевірів		Пенчук Ю.М.					72	24
Затвердив		Стадніков				Кафедра БТМ		

### **ДР 1.1.1. Навчання та інструктаж персоналу.**

Персонал повинен чітко знати свої індивідуальні обов'язки і бути ознайомлений із правилами ГМР на своїй ділянці роботи.

Навчання персоналу (внутрішнє та зовнішнє) здійснюється відповідно до СТП "Навчання та розвиток персоналу", Програми навчання персоналу на поточний рік та Персонального графіку навчання фахівців. Програма навчання на поточний рік складається з урахуванням потреб у навчанні та затверджується генеральним директором підприємства.

Види навчань: основне навчання (теорія і практика ГМР), вихідне навчання (відповідно до обов'язків), подальше навчання. Потрібно також оцінювати ефективність проведення навчання.

Основну поточну роботу по організації і проведенню навчання персоналу здійснює відділ підготовки та розвитку персоналу (надалі ВПРП).

Вимоги до здоров'я персоналу, зайнятого у виробництві: для забезпечення необхідного нагляду за станом здоров'я працівників на підприємстві функціонує система багатоступеневого контролю: періодичні медогляди персоналу спеціалістами медичних закладів, періодичний огляд виробничого персоналу спеціалістами медичного пункту підприємства та щоденний огляд інженерно-технічним працівником цеху або дільниці (майстер чи технолог дільниці) відповідно до затверджених письмових процедур.

### **ДР 1.1.2. Перевірка знань**

Періодично проводиться оцінка ефективності програми навчання персоналу для її уточнення або зміни.

Повторну(періодичну) організацію навчання та перевірку знань з питань охорони праці здійснюють особи, відповідальні за організацію та проведення робіт з підвищеною небезпекою згідно відповідного наказу.

### **ДР 1.1.3. Контроль санітарного стану**

Персонал повинен регулярно приймати душ, мити голову не рідше двох разів на тиждень і особливо ретельно стежити за чистотою рук. Забороняється мати довгі нігті в зв'язку з неможливістю належної обробки білянігтевих просторів. Не допускається покривати нігті лаком.

Кожна особа, яка входить у виробничі зони, повинна носити захисний одяг, що відповідає виконуваним нею операціям. Слід уникати прямого контакту між руками оператора і продукцією, а також частинами обладнання, що контактує з продукцією. Персонал повинен бути навчений правилам застосування засобів для миття рук. Одяг слід носити таким чином, щоб захистити продукцію від контамінації. Персонал повинен бути навчений правилам застосування засобів для оброблення рук, таким мийно-дезінфікуючим засобом є Стериліум та етиловий спирт.

### **ДР 1.2. Підготовка технологічного одягу**

Технологічний одяг персоналу відповідає класу чистоти тієї зони, в якій він працює, і виконує своє основне призначення — максимально захищає продукт виробництва від часток, які виділяє людина.



Для класів В з локальними зонами А, де буде відбуватися розлив розчину ІФН у відповідності з GMP ми обираємо: комбінезон, бахіли, рукавички, маску, головний убір. Для С класу чистоти обираємо – косинку, брючний костюм, бахіли. Для D класу чистоти – халат або брючний костюм, технологічне взуття, косинку.

### **ДР 1.2.1. Сортування одягу**

Перед пранням необхідно провести огляд стану одягу з метою оцінки ступеню його зносу, виявлення пошкоджень, перевірку роботи застібок і розділення за кольором та належністю. Забруднений технологічний одяг перед пранням сортують окремо кожен вид один від одного (нижню білизну, костюми).

### **ДР 1.2.2. Прання одягу(ГФ-1)**

Прання проводять протягом 60 хв із використанням рідкого мийного засобу. Температура мийної розчину 30-40 °С. Прання одягу здійснюють у пральній машині – автомат, де відбувається прання, ополіскування, віджим.

Після закінчення прання необхідно прополоскати одяг неменше двох разів у теплій воді протягом 20-30хв. Остаточне прополіскуванняпроводять у холодній воді. Вода, що використовується для полоскання фільтрується через мембранний фільтр з діаметром пор 5,0 мкм і надходить від ДР 3.1.4.

### **ДР 1.2.3. Сушіння одягу**

Сушити одяг слід в спеціальній шафі СШ-2, в яку надходить тепле повітря через фільтр тонкого очищення при температурі 80 - 90 °С, протягом 30 хв.

#### **ДР.1.2.4. Пакування одягу(Ст-3)**

Зберігають одяг дві доби, для подовження терміну зберігання, одяг упаковуються в стерильні пакети при температурі 60° на спеціальних пакувальних столах.

#### **ДР. 1.2.4. Стерилізація одягу(АВ-4)**

Кожний комплект одягу піддають термічній обробці при температурі 112<sup>0</sup>С та тиску 0,11МПа, тривалість термічної обробки становить 45 хв. Одяг укладають в захисні контейнери та зберігають.

#### **ДР. 1.3. Підготовка дезінфікуючих розчинів**

Для запобігання контамінації та дотримання чистоти на підприємстві використовують миючі засоби. Розчини готують в реакторах.

Приготовані миючі та дезінфікуючі засоби використовують для санітарної обробки (миття та дезінфекції) приміщень, технологічного обладнання, комунікацій, інвентарю, санітарно-технічного обладнання тощо, а також антисептичної обробки рук.

Для миття обладнання та виробничих приміщень, повинно використовуватися не менше як 10 л миючих та дезінфікуючих засобів за 1 зміну.

#### **ДР 1.3.1 Приготування розчину етилового спирту.**

Для приготування 1 л 76 % розчину етилового спирту використовують 760 мл концентрованого спирту зі складу та 240 мл води очищеної (від Д.Р 3.1.4.). Готується в збірнику-змішувачі з щільною кришкою (Зб 6) де інтенсивно перемішується.

#### **ДР 1.3.1.1. Стерилізація розчину етилового спирту.**

Приготований розчин пропускають через фільтр (Ф7) з діаметром пор 0,45 мкм. Розчин надходить у стерильний збірник (Зб-8), який далі потрапляє на виробництво за допомогою персоналу. Використовується засіб для дотримання гігієнічного стану персоналу і надходить до ДР 1.1.3.

#### **ДР 1.3.2 Стерилізація розчину Стериліуму.**

Стериліум закуповується для виробництва вже стерильним в бутлях емністю від 500 мл до 20 літрів, але для виробництва ін'єкційного препарату потрібно його додатково простерилізувати, аби остаточно уникнути контамінації засобу та виключити можливість потрапляння пірогенів у виробництво. Стерилізація відбувається за допомогою стерилізуючої фільтрації. Робочий розчин пропускають через фільтр (Ф13) з діаметром пор 0,45 мкм. Розчин надходить у стерильний збірник (З14), який далі потрапляє на виробництво за допомогою персоналу. Розчин надходить до ДР 1.1.3 та використовується для оброблення поверхні рук персоналу.

#### **ДР 1.3.3 Приготування розчину Мікробак форте.**

Для приготування 10 л 0,2% розчину мікробак форте використовують 20 мл концентрату та 9980 мл води очищеної (від Д.Р 3.1.6). Готується в збірнику-змішувачі з щільною кришкою (Зз12) де інтенсивно перемішується.

**ДР 1.3.3.1Стерилізація розчину Мікробак форте.** Приготований розчин пропускають через фільтр (**Ф11**) з діаметром пор 0,45 мкм. Розчин надходить у стерильний збірник (**З12**), який далі потрапляє на виробництво за допомогою персоналу. Розчини використовуються для щоденного та генерального прибирання приміщень на виробництві і надходить до **ДР 1.4.1, ДР 1.4.2.**

**ДР 1.3.4 Приготування розчину перекису водню.** Для приготування 1 л 3 % розчину перекису водню використовують 3 мл концентрату та додають 997 мл води очищеної (від **Д.Р 3.6.1.**). Робочий розчин заливають у ємності з щільною кришкою (**Зб-16**) де інтенсивно перемішують.

**ДР 1.3.4.1Стерилізація розчину перекису водню.** Приготований розчин пропускають через фільтр (**Ф17**) з діаметром пор 0,45 мкм. Розчин надходить у стерильний збірник (**Зб- 18**), який далі потрапляє на виробництво за допомогою персоналу. Розчини використовуються для щоденного прибирання та генерального, тобто для обробки поверхонь приміщення та всіх установок, які знаходяться в приміщенні та миття обладнання на виробництві надходить до **ДР 1.4.1, ДР 1.4.2 та ДР 1.5.1.**

#### **ДР 1.4. Підготовка виробничих приміщень**

Підготовка виробничих приміщень — один з найважливіших заходів щодо забезпечення чистоти і зведення до мінімуму механічних і мікробних забруднень. Під санітарною підготовкою виробничих приміщень мають на увазі комплекс заходів, що складається з вологого прибирання, дезінфекції й УФ-опромінення, спрямований на досягнення відповідного класу чистоти. Підготовку виробничих приміщень проводять згідно з Генеральної СОП 19-04-10 «Підготовка та обробка виробничих приміщень».

Виробничі приміщення для розливу розчину інтерферону має систему водопроводів, каналізацій, вентиляції і систему знищення відходів виробництва. Виробничі приміщення мають гладку внутрішню поверхню (стіни, стелю, поли, двері), а також мінімум виступаючих частин. Поверхні приміщень непроникні для рідин і легко доступні для миття м'якими і дезінфікуючими розчинами і можуть піддаватись ультрафіолетовому опроміненню.

Контроль чистоти поверхонь виробничих приміщень проводить працівник ВКЯ згідно Генеральної СОП 20-06-09 «Контроль мікробіологічної чистоти поверхонь виробничих приміщень».

#### **ДР.1.4.1 Підготовка приміщень класу В**

Під час підготовки приміщень класу В проводять щоденне та генеральне прибирання. Для прибирання використовують дезінфікуючі розчини етиловий спирт та перекис водню.

##### **ДР 1.4.1.1.Щоденне прибирання.**

Прибирання приміщень проводять після кожної зміни вологим способом. Після роботи із приміщень прибирають препарати, інвентар, матеріали.

Виключають обладнання. Оброблення приміщень проводять розчином перекису водню (від Д.Р 1.2.4.1), дезінфікують розчином етилового спирту (від ДР 1.2.3.1).

##### **ДР 1.4.1.2 Генеральне прибирання.**

Генеральну обробку проводять вологим засобом один раз у 5-6 днів. Стіни, двері, стелі, та інші поверхні зрошують з гідропульту робочим розчином з розрахунку 150-200 мл/л. Після закінчення зрошення приміщення закривають

на 30-40 хвилин, після цього вилучають надлишок розчину за допомогою губки. Особливо забруднені місця додатково миють цим же розчином.

#### **ДР.1.4.2 Підготовка приміщень класу (С) D**

##### **ДР. 1.4.2.1 Щоденне прибирання**

Стіни, двері і інші поверхні протирають паралоновою губкою, яка змочена миючим розчином Мікробак форте, потім цим же розчином миють підлогу.

Відпрацьовані розчини направляється на стадію знешкодження рідких відходів.

##### **ДР. 1.4.2.2. Генеральне прибирання**

Проводять також генеральне прибирання приміщень раз на 6 днів.

Для С, D класів чистоти проводять розчином Мікробак форте. Стіни, двері та інші поверхні приміщення протирають поролоновою губкою, багато змоченою розчином «Мікробак форте», після цього цим же розчином миють підлогу. Прибиральні матеріали та інвентар (відра, ганчір'я, швабри) повинні бути промаркованими, зберігатись у спеціальному приміщенні і використовуватися за призначенням.

#### **ДР 1.5. Підготовка виробничого обладнання та комунікацій**

Апаратуру, устаткування, утримують в чистоті, систематично піддають очищенню, миттю теплою водою (40-45 °С) з миючим засобом перекису водню

(з поверхнево-активних речовин), потім промивають очищеною водою та висушують або витирають до відсутності вологи.

Виробниче обладнання не повинне негативно впливати на якість продукції. Частини або поверхні устаткування, що контактують з продукцією, виготовляються з матеріалів, які не вступають з нею в реакцію, не мають абсорбційних властивостей і не виділяють речовин у такій кількості, щоб це могло вплинути на якість продукції. Ця стадія включає в себе кілька операцій.

**ДР 1.5.1 Миття обладнання.** При здійсненні операцій по підготовці приміщень зовнішні поверхні всього обладнання, підлягають очищенню і обробці разом з поверхнями приміщень миючим засобом Мікробак форте (від ДР 1.2.4.1), та очищеною водою при температурі 60 – 70<sup>0</sup>С. Відпрацьована вода та розчин йдуть до знешкодження відходів.

**ДР 1.5.2 Ополіскування обладнання.** Обладнання ополіскують очищеною водою при температурі 20<sup>0</sup>С. Відпрацьована вода йде до знешкодження відходів.

## **ДР 2. Підготовка вентиляційного повітря.**

Під вентиляційним повітрям розуміють повітря, очищене від часток та мікроорганізмів у системі підготовки триступінчатої фільтрації, яке надходить до приміщень виробництва стерильних лікарських засобів.

Виробничі приміщення повинні мати ефективну систему припливної та витяжної вентиляції. Для очищення повітря в приміщеннях з високими вимогами застосовується 3-ступенева система очистки.

## **ДР 2.1 Забір 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.). Особливо багато мікроорганізмів над поверхнею землі, з висотою концентрація їх зменшується і стає постійною на рівні близько 30 м над землею, забір атмосферного повітря відбувається на висоті близько 30 м повітрозбірником ПЗ-19.

### **ДР.2.1.2. Очищення на фільтрах грубого очищення**

Повітря від забірної пристрою проходить через спеціальний фільтр для очищення від механічних домішок розміром від 150 мкм.та пилу.В якості фільтрів **Ф-20** попереднього очищення використовують ФЯБР – фільтри грубої очистки. Головний фільтр (фільтр грубої очистки) представляє собою циліндричний посуд із специфічним днищем та кришкою, що знімається. Всередині фільтра розташовані дві решітки, між якими поміщають фільтруючий матеріал. Ступінь очищення становить  $E = 80 \%$ .

### **ДР.2.1.3. Стабілізація термодинамічних показників (В-21, Т-22)**

Щоб забезпечити випадання вологи в краплевловлювачі, повітря «переохолоджують» до температури 20-30°C в теплообмінному апараті. В подальшому, для забезпечення надійної роботи подальших фільтрів, повітря нагрівають до температури 70-90 °C та вологості 60 %. При таких температурах не відбувається конденсація пари води на волокнах фільтрів.

### **ДР.2.1.4. Очищення повітря на фільтрах другого ступеня(Ф-23.1,23.2)**

Після теплообмінника повітря надходить на фільтри тонкого очищення класу F9 – мають сепараторну конструкцію, фільтрувальні матеріали таких



фільтрів виготовлені на основі ультратонких скляних волокон діаметром 1 мкм. який видаляють частинки більше за 1 мкм. Дані фільтри призначені для затримки механічних частинок розміром від 1 до 5 мкм (видимий пил та частково мікроорганізми). Ефективність фільтрації становить 98%. Повітря направляється до класів чистоти С(Д).

#### **ДР.2.1.5. Стерилізація повітря на фільтрах третього ступеня очистки (Ф-24)**

Після очищення на фільтрах тонкого очищення повітря надходить на фільтри індивідуального очищення типу Н14, застосовуються для виробничих приміщень з дуже високими вимогами до чистоти повітря. Дані фільтри призначенні для затримання механічних частинок від 0,01-1 мкм, ефективність очищення становить 99,99 %. Повітря направляється до класів чистоти А(В).

### **ДР 3. Підготовка води.**

#### **ДР 3.1. Підготовка води очищеної.**

Система водопідготовки призначена для одержання очищеної води з метою подальшого її використання в технологічному процесі виробництва рідких лікарських форм та при прибиранні виробничих приміщень. Вода очищена має відповідати показникам зазначеним у СТП 64-23518596-02.004 «Вода очищена».

##### **ДР.3.1.1.Фільтрування на піщаних фільтрах (Ф-27)**

Наступним етапом є фільтрування за допомогою піщаних фільтрів, на яких відбувається очищення від крупнодисперсних частинок. Фільтри являють собою залізобетонні резервуари з подвійним дном: нижнім суцільним і верхнім

дірчастим. Між ними утворюється дренажний простір, в який потрапляє профільтрована вода. На верхнє дно спочатку вкладають підтримувальний шар щебеню і гравію, на нього — фільтрувальний шар піску, на який подається вода. Профільтрована вода збирається на нижньому дні фільтра. Фільтр працює під тиском 0,6 МПа, і при температурі 20 ° С. Фільтр миють зворотним промиванням водою. Пісок змінюють 1 раз на 6-12 місяців.

### **ДР.3.1.2. Фільтрування на вугільних фільтрах (ВФ-28)**

Фільтрація через вугільний фільтр дозволяє знизити концентрацію органічних речовин і хлору. Використовуються стандартні патронні фільтри з активованим вугіллям. Придатність фільтрів контролюється різницею тисків води до і після фільтра. Матеріал – вугілля активоване підлягає щоквартальному контролю на вміст хлору.

### **ДР.3.1.3 Одержання очищеної води на установці зворотнього осмосу (М 33, 34, 35)**

Вода пом'якшена, проходить через катриджний фільтр та поступає під тиском 5 – 20 Бар. Вода проходить через мембрани зворотнього осмосу, які затримують солі та макромолекули. З модуля зворотнього осмосу виходить пермеат. Частина утвореного концентрата повертається на насос через рециркуляційний отвір, а частина на злив через клапан. За допомогою клапану можна міняти водний конвенсійний фактор (відношення витрат пермеату до витрат пом'якшеної води). Вихід пермеата складає 70 % від пом'якшеної води.

Вміст солі в пермеаті біля 2% від вмісту пом'якшеної води. Зворотньо осматична мембрана діє як бар'єр для всіх розчинених солей, неорганічних молекул, органічних молекул з молекулярною масою понад 100, а також мікроорганізмів і пірогенних речовин. Пом'якшена вода згідно СПС – 2 – 121

Вода пом'якшена, проходить через картриджний фільтр та поступає під тиском 5 – 20 Бар. Вода проходить через мембрани зворотнього осмосу, які затримують солі та макромолекули. З модуля зворотнього осмосу виходить пармеат. Частина утвореного концентрату повертається на насос через рециркуляційний отвір, а частина на злив через клапан.

#### **ДР.3.1.4 Зберігання води очищеної (Зб-36)**

Воду очищену, зберігають в закритих ємкостях виготовлених з матеріалів, що дозволяють ефективно захищати її від чужорідних частинок і мікробіологічних забруднень протягом 48 год. За постійної рециркуляції при температурі 80<sup>0</sup>С.

#### **ДР 3.2. Підготовка води ін'єкційної**

Вода для ін'єкцій отримується з води очищеної методом багатокolonної дистиляції. Багатокolonний дистилятор Finn-AQWA (ГФ38) складається з декількох колон, що з'єднуються послідовно, виносних конденсаторів, охолоджувача дистиляту та баку для води з насосом. Кожна колона складається з двох посудів, які працюють під високим тиском. Конструкція колони та її елементів виконана таким чином, що вона працює як випарювач та сепаратор одночасно.

##### **ДР3.2.1. Нагрівання води очищеної**

Очищена воданадходить в аквадистилятор, де вона подається у випарник. Після чого випарник з водою нагрівається до кипіння.

##### **ДР3.2.2. Дистиляція води очищеної**

В результаті нагрівання води буде утворюватись пара. Колона розрахована таким чином, що пара яка утворюється досягає її дна з високою

швидкістю та змінює напрям свого руху на  $180^\circ$  при цьому від пари відділяється не випарена вода.

Чиста пара з великою швидкістю підіймається по спіралеподібному жолобу, здійснюючи кругові рухи. Завдяки відцентровим силам, які виникають при такому русі, відділяються часточки та краплини, що залишилися в парі, в тому числі і ендотоксини.

### **ДР3.2.3. Стерилізація води УФ-випроміненням**

Фотохімічне окиснення води ультрафіолетовими променями з довжиною хвиль 185 і 245 нм може відсторонити сліди органічних з'єднань і вбивати мікроорганізми в воді. Ультрафіолетове опромінення з довжиною хвиль 254 нм може бути використане також для попередження розмноження бактерій в резервуарах для зберігання води.

### **ДР3.2.4. Накопичення води ін'єкційної**

Воду для ін'єкцій зберігають при температурі  $80^\circ\text{C}$  до  $95^\circ\text{C}$  в закритих збірниках (36-40), виготовлених з матеріалів, що забезпечують зберігання властивостей води в межах діючих нормативних документів і захищають її від потрапляння механічних включень і мікробіологічної контамінації. Тривалість зберігання 24 год. При необхідності тривалого зберігання води для ін'єкцій необхідно організувати її циркуляцію при температурі в інтервалі  $85-90^\circ\text{C}$ . Для цього застосовуються спеціальні ємкості. В якості матеріалу всіх поверхонь, які знаходяться в контакті з водою для ін'єкцій, рекомендується використовувати нержавіючу сталь 02 X17H13M2 (міжнародне позначення AISI316 L) електрополіровану з шорсткістю поверхню (Ra) більше 0,8 мкм.

### **ДР4. Підготовка первинної упаковки**

Для забезпечення стерильності лікарських препаратів слід особливу увагу приділяти підготовці первинної упаковки, яка не повинна бути джерелом забруднення препарату.

#### **ДР4.1. Підготовка алюмінієвих ковпачків**

##### **ДР4.1.1. Перегляд алюмінієвих ковпачків.**

Перегляд алюмінієвих ковпачків здійснюється візуально за допомогою лампам денного освітлення. Відбракуванню підлягають ковпачки с порушеною формою, забруднені, темні чи в плямах, що мають ум'ятини, зрізи чи інші дефекти.

**ДР 4.1.2. Миття алюмінієвих ковпачків.** Миття ковпачків відбувається в машині для миття алюмінієвих ковпачків (ГФ-46), при температурі (80+/-10) °С протягом 15-20 хвилин.

##### **ДР 4.1.3. Ополіскування алюмінієвих ковпачків.**

Ополіскування ковпачків відбувається водою очищеною при температурі (50+/-10)°С протягом 30 хвилин (допускається трьохразове ополіскування по 10 хвилини кожне).

##### **ДР4.1.4. Стерилізація алюмінієвих ковпачків.**

Стерилізацію ковпачків проводять в автоматичній машині (ГФ-48) при надлишковому тиску 0,11 МПа та температурі (120+/-1) °С протягом 45 хвилин.

##### **ДР4.1.5. Зберігання алюмінієвих ковпачків.**

Вивантаження стерильних ковпачків відбувається в стерильні ємності з кришками. Стерильні ковпачки зберігають не більше 24 год.

## **ДР4.2. Підготовка гумових пробок**

### **ДР4.2.1. Перегляд гумових пробок.**

Перегляд пробок здійснюється візуально на спеціальних столах, обладнаних лампами денного освітлення.

Спочатку здійснюється візуальний огляд гумових пробок з метою вилучення механічно пошкоджених пробок. Відбракуванню підлягають пробки, які мають відхилення у зовнішньому вигляді відповідно до вимог, які діють нормативно-технічної документації.

### **ДР4.2.2. Миття гумових пробок.**

Відбувається відмивання пробок від резинових шматочків та інших механічних забруднень у спеціальній машині (ГФ-46) використовуючи водопровідну воду при температурі  $(50\pm 10)$  °С упродовж 30 хвилин.

Миття пробок відбувається в розчині миючого засобу, у воді очищеній  $(0,25-0,5)\%$  або профільтрованому розчині миючого засобу типу "Tide" в воді очищеній  $(0,2-0,3)\%$  при температурі  $(50\pm 10)$  °С впродовж 15-20 хвилин.

### **ДР 4.2.3. Ополіскування гумових пробок.**

Ополіскування відбувається водою очищеною при температурі  $(50\pm 10)$ °С протягом 15 хвилин (допускається чотирьох разове ополіскування по 2-3 хвилини кожне).

Остаточне відмивання пробок в апараті роблять протягом 2 год чотирьох-шести разовою заміною теплої знесоленої води. Витрата знесоленої води складає від 5,9 до 6,1 м<sup>3</sup>.

#### **ДР4.2.4. Силіконування гумових пробок.**

Силіконування пробок проводять силіконовою емульсією KE10-16 ПМС-200А або ПМС-400 (0,05-0,5)% при температурі (50+/-10) °С протягом 20-30 хвилин (ГФ-47).

#### **ДР4.2.5. Сушіння гумових пробок.**

Сушіння пробок проводять стерильним гарячим повітрям, пробки з гуми марки IP-51 сушать при температурі не вище 120 °С протягом не більше 3 год (ГФ-47)

#### **ДР4.2.6. Стерилізація гумових пробок.**

Стерилізацію пробок проводять у машині для миття, ополіскування, сушіння та стерилізацію при надлишковому тиску 0,11 МПа та температурі (120+/-1) °С протягом 45 хвилин (АВ-48).

#### **ДР4.2.7. Зберігання гумових пробок.**

Стерильні гумові пробки зберігають не більше 3 доби.

#### **ДР4.3. Підготовка флаконів**

Флакони подаються зі складу на піддонах обгорнені термолабільною плівкою в заводському упакованні.

##### **ДР4.3.1. Перегляд флаконів.**

Перегляд флаконів здійснюється візуально, на спеціальних столах, які обладнані лампами денного освітлення. Відбракуванню підлягають флакони,

які мають відхилення в зовнішньому вигляді відповідно до вимог діючої нормативно-технологічної документації.

#### **ДР4.3.2. Миття флаконів.**

Мийка флаконів здійснюється мийною машиною (ГФ-49), у якій поєднано 2 способи миття шприцевий та ультразвуковий.

Рекомендуються наступні умови миття:

- ✓ тиск води - 0,2-0,25 Мпа;
- ✓ температура води - (50-60) °С;
- ✓ тиск пари - 0,15-0,3 Мпа;
- ✓ тиск повітря - 0,03-0,05 Мпа;

Останнє ополіскування флаконів слід проводити водою для ін'єкцій.

Флакони послідовно проходять 13 стадій внутрішньої і зовнішньої мийки і продувки стиснутим стерильним повітрям. Потім захоплення перевертають флакони і вивантажують їх на прийомний транспортер стерилізаційного тунелю.

#### **ДР4.3.3. Стерилізація флаконів.**

В стерилізаційному тунелі (ГФ-50) тунелі флакони проходять три зони: нагрівання до температури стерилізації, витримка при цій температурі протягом заданого часу та охолодження. В усі зони тунелю подається профільтроване через фільтр тонкого очищення стерильне повітря в ламінарному потоці. В зоні стерилізації температура стерильного повітря підтримується в межах 300-320 °С упродовж 2 хвилини, після чого флакони охолоджуються.

#### **ДР4.3.4. Зберігання флаконів.**



Стерильні флакони повинні бути використані відразу для наповнення, допускається їх зберігання не більше 24 год за умов, повного виключення порушень стерильності.

### **ТП 5. Приготування порошку мепенаму для розфасування у флакони**

Виробництво готових лікарських форм карбапенему передбачає отримання препарату з мегорепет, з якого готують готовий розчин потрібної концентрації шляхом розведення у відповідному розчині допоміжних речовин.

#### **ТП 5.1. Допоміжні речовини**

Для приготування даного розчину допоміжною речовиною виступає натрію карбонат безводний.

#### **ТП 5.2. Доведення розчину до заданої маси**

Компонети, які ми змішали на попередній стадії необхідно довести їх до маси 400мл, використовуючи ін'єкційну воду отриману на стадії ДР 3.6.2.

#### **ТП 5.3. Додавання допоміжних речовин**

До розчину додають 10мл 1% розчину Твін 80 і 500мл 10% розчину декстрану 40. При необхідності доводять значення рН до 4,5-5,5 0.1М оцтовою кислотою<sup>[1]</sup>.

#### **ТП 5.4. Охолодження**

Для запобігання втрати активності субстанції її необхідно вводити в охолоджений розчин, тому ми охолоджуємо розчин до температури 4<sup>0</sup>С.

### **ТП 5.5. Доведення розчину до заданого об'єму**

Одержаний розчин доводять до 1л водою для ін'єкцій, яку отримали на стадії ДР 3.6.2.

### **ТП 5.6. Стерилізуюча фільтрація( Ф-43).**

Даний препарат є термолабільним і його не можна піддавати кінцевій стерилізації, тому для уникнення потрапляння у препарат контамінантів, пірогенів та інших речовин, отриманий розчин фільтрують на мембранному фільтрі 0,22мкм і вже потім стерильний розчин розливають у флакони.

### **ТП 6. Розлив стерильного розчину у флакони.**

#### **ТП 6.1. Дозування розчину у флакони(ГФ-52)**

Отриманий стерильний розчин зі стадії ТП 5.7 розливають у підготовлені флакони по 2 мл.

#### **ТП 6.3. Попереднє укупорювання флаконів пробками.**

Флакони із карбапенемом укупорюють одразу після розливу розчину у флакони (ГФ-53).

Розлитий розчин далі буде піддаватися ліофільному висушуванню, і для виходу вологи з флакону їх укупорюють спеціальними пробками, що дозволяє уникнути потрапляння контамінантів і виходу вологи.

#### **ТП 6.2 Сублімаційне висушування(ЛФ-54)**

Сублімаційне висушування проводять протягом 24 годин в ліофільній сушарці ЛФ 75. Тиск 50-150 Па, температура досягає  $-60^{\circ}\text{C}$ .

### **ТП 6.3. Закупорювання флаконів пробками та алюмінієвими ковпачками(ГФ-55)**

Флакони з ліофілізованим препаратом остаточно закупорюють резиновими пробками і передають їх на наступну стадію. Закупорені флакони обкатують ковпачками за допомогою спеціальних автоматичних машин для закупорювання флаконів.

### **ПМВ 7. Пакування, маркування, відвантаження.**

#### **ПМВ 7.1. Маркування флаконів (ГФ-56).**

Маркування флаконів складається з двох стадій:

- ✓ **нанесення номера серії і терміну придатності на паперову етикетку.**
- ✓ **наклеювання етикеток на флакони.**

Маркування флаконів здійснюється шляхом наклеювання на флакони етикеток, при цьому етикетки відокремлюються від основи, наклеюються і придавлюються по всій поверхні етикетки до флакона за допомогою автоматичної установки нанесення самоклеючих етикеток на флакони.

На етикетці флакона українською чи іншою мовою відзначають фірму виробника, назва препарату, активність препарату, «Стерильно», «Перорально», «Застосовувати за призначенням лікаря», умови збереження, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

#### **ПМВ 7.2 Упакування флаконів у коробки.**

Упакування флаконів здійснюють по 5 разом з інструкцією по застосуванню, на коробки наносять надпис шрифтом Брайля. Коробки оклеюють бандероллю, на бандеролі проставляють номер серії і термін придатності препарату.

У випадку застосування стрічки пакувальної, на коробку наклеюють етикетку, на етикетці на українській чи іншій мовах вказують «Україна», назву фірми-виробника, її товарний знак і адреса, назва препарату на латинській й українській чи латинській, українській та інших мовах, активність у флаконі «Стерильно», «Перорально», «Застосовувати за призначенням лікаря», «Зберігати в недоступному для дітей місці», умови збереження, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, кількість флаконів і штриховий код.

#### **ПМВ 7.2.1. Упакування флаконів у групову тару.**

Упакування флаконів відбувається вручну на столі для упакування у коробки. У випадку застосування стрічки пакувальної, на коробку наклеюють етикетку, на етикетці на українській чи іншій мовах вказують «Україна», назву фірми-виробника, її товарний знак і адреса, назва препарату на латинській й українській чи латинській, українській та інших мовах, вміст даунорубіцину у флаконі, «Стерильно», «Внутрішньовенно», «Застосовувати за призначенням лікаря», «Зберігати в недоступному для дітей місці», умови збереження, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, кількість флаконів і штрихової код.

**ЗВ 8. Знешкодження відходів.** Утилізація та знешкодження невідповідної продукції, матеріалів і відходів підприємства проводиться згідно з Законом

України „ Про охорону навколишнього природного середовища “, „ Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення “, „ Про відходи “, „ Про лікарські засоби “, Постановою КМУ від 03.08.98 р № 1218 „ Про затвердження порядку розроблення, затвердження й перегляду лімітів на утворення та розміщення відходів “, „ Правилами проведення утилізації та знищення неякісних лікарських засобів “, затверджених наказом МОЗ України № 349 від 08.07.2004 р та СТП.

**ЗВ 8.1. Знешкодження рідких відходів.** Під час промивання устаткування, мийці змінних комплектуючих деталей і прання утворюються стоки зі змістом залишкових кількостей субстанції лікарської речовини.

Відходи, що утворюються, збираються по окремій системі каналізації в заглиблену ємність, відквіля насосом перекачують у збірники, аналізуються і, при необхідності, нейтралізуються додаванням 2 – 4 % розчин лугу. При використуванні у виробництві нестабільних субстанцій, вони розкладаються у воді, при рН більш 8,5 відбувається інтенсивний гідроліз. Для ефективної нейтралізації передбачене перемішування стоків насосом. При використанні у виробництві ліпідних емульсій, то для їх утилізації використовують жироловки. Відпрацьовану воду пропускають через бактерицидну лампу та скидають до каналізації. Після нейтралізації проаналізовані стоки, що містять припустиму кількість домішок, скидаються у виробничу каналізацію.

### **ЗВ 8.2.Знешкодження твердих відходів.**

На виробничих дільницях тверді відходи ідентифікують та збирають в спеціальну тару (мішки, бочки, контейнери) за їх видами, що тимчасово

зберігаються у визначених місцях. Не допускається змішування різних видів відходів під час зберігання та транспортування.

## 7. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ

З метою запобігання випуску готового продукту, що не відповідає вимогам нормативної документації, повинен проводитись постадійний контроль процесу виробництва, який здійснюється співробітниками цехової лабораторії (регулярно) та відділу контролю якості (періодично) відповідно до діючих галузевих документів, технологічних регламентів та письмових інструкцій. Періодичність перевірок визначається керівництвом підприємства та відділу контролю якості стосовно даного продукту та процесу виробництва.

У ході постадійного контролю перевіряється:

- відповідність використуваних сировини, допоміжних, пакувальних та маркувальних матеріалів та напівпродуктів вимогам нормативної документації;

- санітарний стан цехів, робочих місць та обладнання;

- Виконання регламентованих технологічних операцій та дотримання технологічних режимів роботи.

Результати постадійного контролю відображаються у відповідних журналах та досьє на препарат. При виявленні відхилень від режимів та норм технологічного процесу мають бути виявлені причини та вжито заходів щодо їх ліквідації, що має бути документально оформлено та внесено до досьє.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ		
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розробив</i>		Світельська			<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрюшіє</i>
<i>Перевірів</i>		Пенчук Ю.М.				98	103 1
<i>Затвердив</i>		Стадніков			<b>Кафедра БТМ</b>		
					<b>Контроль виробництва субстанції для ЛЗ</b>		

## 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ.

### 8.1. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезінфікуючих засобів, вентиляційного повітря).

#### *Обґрунтування вибору дезінфікуючих розчинів*

Для забезпечення стерильних умов виробництва ін'єкційних препаратів необхідно використовувати дезінфікуючі засоби для обробки рук персоналу миття обладнання та приміщень

Мийні засоби повинні відповідати наступним вимогам:

- виявляти високу мийну здатність;
- забезпечувати повне змочування поверхонь із різних конструкційних матеріалів;
- забезпечувати пом'якшення жорсткої води;
- забезпечувати повне видалення механічного, білкового та жирового забруднень шляхом їх диспергування та емульгування;
- забезпечувати нейтралізацію кислих забруднень та омилення жирів (для лужних мийних засобів);
- виявляти низьку агресивність щодо конструкційних матеріалів, які використовують для виготовлення технологічного обладнання, комунікацій, інвентарю та внутрішньоцехової тари підприємств хіміко-фармацевтичної промисловості.

Забороняється використовувати органічні розчинники як мийні засоби, а також для приготування робочих розчинів мийних, дезінфекційних і мийно-дезінфекційних засобів.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		Світельська			Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ.	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірів</i>		Пенчук Ю.М.					99	13
<i>Затвердив</i>		Стадніков				Кафедра БТМ		



Рекомендується чергувати дезінфекційні та антисептичні засоби кожні 1-3 місяці з метою запобігання розвитку та розповсюдженню стійких варіантів мікроорганізмів.

Для даного виробництва ми використовуємо такі дезінфікуючі засоби:

**Стериліум** (фірма "BODEChemieGmbH&Co", Німеччина) – антисептичний засіб для гігієнічної обробки шкіри рук, який має пролонгований антисептичний ефект.

Стериліум виявляє бактерицидні, фунгіцидні та туберкулоцидні властивості.

Стериліум використовують для антисептичної обробки рук персоналу.

Не має негативних наслідків при багаторазовому використанні.

**Мікробак форте** рекомендований для щоденного дезінфікуючого прибирання всіх приміщень. Він призначений для очищення різних водостійких предметів, таких як інвентар та медичні прилади, а також поверхонь стін і підлоги. Мікробак форте без альдегіду, має оптимальний запах, не утворює піни, ефективний проти вірусів гепатиту В та СНІДу, відмінно переноситься різними матеріалами за рахунок наявності спеціального захисного фактора, забезпечує ґрунтовну очистку поверхонь.

**Спирт етиловий** – безбарвна рідина з характерним запахом. Належить до легкозаймистих рідин. Категорія та група вибухонебезпечної суміші спирту з повітрям ПА-Т2 згідно ГОСТ 12.1.011. Під час виконання робіт зі спиртом етиловим повинні застосовуватись герметичні апарати, обладнання та герметична транспортна тара.

Виявляє гермістатичні та герміцидні властивості щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій та деяких видів грибів. Не виявляє спороцидної дії.

Рекомендується використовувати 76 % розчини для дезінфекції обладнання та антисептичної обробки рук персоналу.

*Перекис водню медичний* ( $H_2O_2$ ) за ГОСТ177 являє собою безбарвну прозору рідину. Перекис водню – негорюча пожежовибухонебезпечна рідина, сильний окислювач. Розкладається на воду та кисень, зміщується з водою в будь-якому співвідношенні. Як засіб пожежогасіння використовують сильний струмінь води.

Перекис водню ушкоджує об'єкти з заліза, хрому, свинцю, срібла, марганцю, чавуна, міді, латуні, нелегірованих і низьколегірованих сталей. Несумісний з лугами.

Перекис водню відноситься до високонебезпечних речовин (2 клас небезпеки по ГОСТ 12.1.007). Гарантійний термін зберігання 6 місяців з дати виготовлення. Зберігають у складських приміщеннях, які забезпечують захист від дії сонячних променів, при температурі не вище 30 °С.

Перекис водню виявляє бактерицидні, віруліцидні та спороцидні властивості.

Рекомендується використовувати 3,0 % розчини перекису водню для поточної дезінфекції технологічного обладнання, комунікацій, інвентарю та внутрішньоцехової тари, а також 6,0 % розчини перекису водню для дезінфекції технологічного обладнання, комунікацій, інвентарю та внутрішньоцехової тари, які контаміновані споровими формами мікроорганізмів.

### ***Обґрунтування підготовки вентиляційного повітря***

Повітря виробничих приміщень є потенційним джерелом забруднення ліків, тому його очищення є одним із ключових питань підготовки виробництва.

Як вентиляційне повітря розуміють повітря, очищене від часток та мікроорганізмів у системі підготовки дво- або триступінчатої фільтрації, яке надходить до приміщень виробництва нестерильних лікарських засобів.

Виробничі приміщення повинні мати ефективну систему припливної та витяжної вентиляції.

Системи підготовки вентиляційного повітря слід проектувати, виходячи зі спеціальних вимог до технологічних операцій, вимог до приміщень виробництва нестерильних лікарських засобів відповідно до приведеної класифікації в МР 64-1.1.-2001, керуючись галузевими документами, зокрема ГП 07.004.98, ГНД 07.006.98, МВГ 07.003.98, а також ГНД 01.001.98.

Для постачання виробництва стерильних розчинів знепиленним стерильним повітрям використовують як звичайні системи турбулентної вентиляції, що забезпечують стерильність повітря в приміщенні, так і системи з ламінарним потоком повітря по всій площі приміщення або в певних робочих зонах.

При турбулентному потоці очищене повітря містить до 1000 частинок у 1л, при подачі повітря ламінарним потоком по всьому об'єму приміщення вміст частинок у повітрі в 100 разів менше.

Приміщення з ламінарним потоком – це приміщення, у яких повітря подається по напрямленню до робочої зони через фільтри, котрі займають всю стіну або стелю, і видаляється через поверхність, протилежну входу повітря.

Розрізняють дві системи: вертикальний ламінарний потік, при якому повітря рухається нагору через стелю і виходить через ґратчасту підлогу, і горизонтальний ламінарний потік, при якому повітря поступає через одну, а виходить через іншу перфоровану стінку. Ламінарний потік виносить з кімнати всі завислі в повітрі частинки, що поступають від яких-небудь джерел (персонал, обладнання і ін.). Системи ламінарного повітряного потоку повинні забезпечувати рівномірну швидкість руху повітря: близько 0,30 м/с для вертикального і 0,45 м/с для горизонтального потоків.

Для забезпечення необхідної чистоти повітря в системах “вертикальний ламінарний потік” і “горизонтальний ламінарний потік” застосовують фільтруючі установки, що складаються з фільтрів попереднього грубого очищення повітря і стерилізуючого фільтру. Для остаточного очищення повітря від частинок і мікрофлори, що містяться в ньому, застосовують фільтр типу ЛАЙК. Як фільтруючий матеріал в ньому використовується ультратонке волокно з перхлорвінілової смоли. Цей матеріал гідрофобний, стійкий до хімічних агрегатних середовищ і може працювати при температурі не вище 60°C і відносній вологості до 100%. Останнім часом широке розповсюдження отримали високоефективні повітряні фільтри HEPA (High-efficiency particulate air).

Всередині приміщення додатково можуть встановлюватись пересувні рециркуляційні повітроочисники, що забезпечують швидке і ефективно очищення повітря за рахунок механічної фільтрації його через фільтр з

ультратонких волокон і ультрафіолетового випромінення. Повітроочисники можуть використовуватись під час роботи, тому що вони не впливають негативно на персонал і не викликають неприємних відчуттів.

Для створення “надчистих” приміщень або окремих зон чистоти всередині його використовуються спеціальні блоки, в які автономно подається ламінарний потік стерильного повітря.

У «чистих» приміщеннях повинний створюватися ламінарний потік. Системи ламінарного повітряного потоку повинні забезпечувати рівномірну швидкість руху повітря: близько 0,30 м/с для вертикального і близько 0,45 м/с для горизонтального потоків. Підготовка і контроль повітря на механічні включення і мікробіологічне забруднення, а також оцінка ефективності роботи повітряних фільтрів повинна проводитися відповідно до нормативно-технічної документації. Для забезпечення необхідної чистоти повітря в системах «вертикальний ламінарний потік» і «горизонтальний ламінарний потік» застосовують фільтруючі установки, що складаються з фільтрів попередньої грубої очистки повітря вентилятора і фільтра, що стерилізує.

### ***Обґрунтування підготовки виробничих приміщень***

Мепенам – інекційний препарат, тому його виробництво необхідно здійснювати в приміщення класу А,В (для фасування, ліофільного вишусування та закриття флаконів), С ,D(для пакування).

До підготовленого приміщення прикріплюють статусну етикетку з написом «Чисто»/ «Готове до роботи» (Ф 5.13-01-206/Ф 5.13-01-207), де вказують назву приміщення, дату проведення обробки, П.1.Б, підпис виконавця та відповідальної особи або кольорові статусні етикетки Жовті/Зелені.

Класифікація кольорових статусних етикеток:

зелені -«Готове до роботи»;

жовті - «Чисто»;

червоні - «у стадії очищення/ обробки (ризик контамінації)».

Ця підготовка здійснюється виконанням СРП по щоденному та генеральному прибиранню для проведення прибиральних робіт використовують миючі та дезінфікуючі розчини, воду очищену.

Ступінь чистоти приміщення (зони) забезпечується за рахунок створення високоасептичних умов. Для цього використовують систему вентиляції, відповідну підготовку приміщень та обладнання.

Матеріали, які використовують для оздоблення приміщень, мають достатню механічну міцність, необхідне водопоглинання, не піддаються корозії, не токсичні, очищаються і миються, піддаються дезінфекційній обробці.

## **8.2. Розрахунок річної потужності виробництва**

Потреба в препараті Мепенам для використання наведена в таблиці 7.1.

Річна потреба препарату для використання в медичній практиці

Таблиця 8.1

Захворювання	Кількість хворих, тис. чол. (дітей та дорослих) на рік	Кількість препарату на добу на одну людину, г	Тривалість лікування, діб	Загальна кількість препарату, кг
Пневмонія (включаючи госпітальну)	40	0,5	14	840
Інфекція сечовивідних шляхів	377	0,5	10	5655
Інтраабдомінальні інфекції	37,8	1	10	1134
Гінекологічні інфекції (ендометрит)	246,7	1	14	6907,6
Інфекції шкіри та м'яких тканин	198,9	0,5	14	4176,9
<b>Всього</b>				<b>18713,5</b>

Отже, кількість препарату Мепенаму, що забезпечує лікування хворих дітей та дорослих, становить 18713,5 кг/р.

Враховуючи, що велика доля готового препарату та субстанції імпортується з закордону, то ми плануємо забезпечити 10 % вітчизняного ринку, а це, в свою чергу, буде становити:  $18713,5 \cdot 0,1 = 1871,35$  кг. З урахуванням 10 % втрат під час виробництва річна потужність має становити  $G_p = 1871,35 + 1871,35 \cdot 0,1 = 2058,48$  кг.

Як продуцент Мепенаму – використовується продуцент *C. acremonium* (*Pseudomonasaeruginosa.*). Даний продуцент має здатність синтезувати до 9 г/л продукту за 74 год культивування.

Розрахуємо кількість культуральної рідини, що забезпечить виробництво кг препарату: 2058,48 кг.

$$V_{\text{кр}} 2058,48/9 = 228,72 \text{ м}^3 \text{ культуральної рідини.}$$

З урахуванням втрат, які можуть виникнути в процесі виробництва (20 %), річний об'єм культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{кр}}^{\text{річ}} = 228,72 + 228,72 \times 0,2 = 91,49 \text{ м}^3.$$

### **8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.**

Підготовка первинної упаковки інфузійних лікарських засобів включає ряд операцій: розтарювання, перегляд і відбраковування, набір у касети (за необхідності), миття, сушіння, стерилізацію. Кожна з них або групи операцій повинні проводитися в приміщеннях певного класу чистоти, обумовленого особливостями виробництва конкретного препарату (див. Додаток 2).

#### *Підготовки флаконів*

Миття зовнішньої і внутрішньої поверхні флаконів здійснюється в основному із застосуванням шприцевого або ультразвукового методу або їх комбінацій.

Метод шприцювання оснований на обробці флаконів під тиском профільтрованими водою очищеною, парою, повітрям при положенні флакона горловиною вниз.

Ультразвуковий спосіб миття оснований на використанні коливань, що випромінюються магніострикційними перетворювачами, вмонтованими у дно або кришку апарата. При даному способі миття флакони занурені у воду на певній відстані від випромінювачів.

Ефективнішим є контактано-ультразвуковий спосіб очищення за рахунок безпосереднього контакту стінок флакона з джерелом коливань. При цьому ультразвукові коливання збуджуються у самому виробі, що очищається, який



стає випромінювачем, і очищення поверхні здійснюється як за рахунок специфічних ефектів, що виникають в рідині (імпульси тиску при захопленні кавітаційних порожнин), так і за рахунок механічних коливань самого флакона.

У промислових умовах миття флаконів здійснюється на типовому устаткуванні вітчизняного виробництва (наприклад, лінія підготовки флаконів АЛВ виробництва Маріупольського ЗТО) або на імпортованих.

Обполіскування флаконів проводять водою для ін'єкцій, профільтрованою через мембранний фільтр з порами розміром не більше 5,0 мкм.

Після миття флакони за допомогою передавального пристрою надходять на стерилізацію. На цьому етапі використовуються сушильно-стерилізаційні установки тунельного типу, де флакони проходять три зони: нагрів до температури стерилізації, витримка при цій температурі протягом заданого часу і охолодження. У всі зони тунеля подається профільтроване через фільтр тонкого очищення стерильне повітря в ламінарному потоці. Температура стерилізації в зоні повинна підтримуватися в межах  $315 \pm 35$  °С, залежно від цього тривалість стерилізації складає від 5 до 30 хвилин.

Прикладом використовуваного устаткування для стерилізації може служити установка сушильної стерилізації LAS (Данія); тунельний стерилізатор «Пірокленз» (Голландія) та ін.

#### **8.4. Обґрунтування вибору підготовки води.**

Найбільш поширеним методом отримання води очищеної (ФС 42-261-89) і води для ін'єкцій (ФС 42-2620-89) є дистиляція, тобто процес випаровування з подальшою конденсацією пари. При цьому відбувається фазове перетворення

рідини на пару, а потім знову в рідину при конденсації. Для цього використовують питну або знесолену воду. Такий метод вимагає витрат великої кількості енергії.

У промислових умовах отримання води для ін'єкцій здійснюється також за допомогою високопродуктивних корпусних апаратів, гермокомпресійних дистилляторів різних конструкцій і установок зворотного осмосу.

Термін використання води для ін'єкцій регламентується 24 годинами з моменту отримання, за умови її збереження в асептичних умовах. При тривалішому зберіганні вода поглинає з повітря вуглецю діоксид і кисень, може взаємодіяти з матеріалом ємності, викликаючи перехід іонів важких металів, і є середовищем для розмноження мікроорганізмів. Тому перевага віддається використанню свіжоприготованої води, яку іноді безпосередньо після дистиляції додатково кип'ятять протягом 30 хвилин.

Надійніше зберігання гарантується спеціальними системами, виконаними з інертного матеріалу, в яких вода знаходиться при високій температурі (70-90°C), постійному тиску та перемішуванні.

### **8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання**

При виборі технології виробництва орієнтуються на її капіталомісткість і трудомісткість. Залежно від рівня вартості робочої сили і основних фондів у країні вибирають або трудомістку, або капіталомістку технологію. Світові тенденції пов'язані з капіталомісткими технологіями. Враховуються також майбутні витрати, пов'язані з навчанням персоналу для роботи з обраної технології. Якщо її набувають у якогось іншого підприємства, слід враховувати витрати коштів:

1. На ліцензування технології;
2. Її пряму закупівлю;
3. Спільна участь у роботах з постачальником технології.

При ліцензуванні технології бажано розділяти технологічний пакет на складові частини: сама технологія, пов'язані з нею інженерні служби, поетапна внутрішня інтеграція, поставка проміжних продуктів і постачання устаткування.

Договірні аспекти ліцензування технології повинні розглядатися до се придбання. Сюди можна віднести:

1. Вибір технології і гарантії її власника;
2. Витрати за технологією;
3. Термін дії угоди.

Вибір обладнання та технології взаємозалежний. У деяких проектах виробнича технологія є частиною і компонентом обладнання, що постачається. У цьому випадку немає необхідності складати окремі угоди з придбання технології. Якщо технологію необхідно купувати окремо, вибір обладнання проводиться після визначення технології. Отже, потреби в машинах і устаткуванні повинні встановлюватися на основі потужності заводу, відібраної виробничої технології і продуктивності устаткування.

Вибір обладнання на стадії техніко-економічного обґрунтування проекту полягає у визначенні оптимальної групи машин та обладнання, необхідних для прийнятої виробничої потужності. Вибір обладнання залежить від типу проекту.

Фармацевтичне устаткування було ключовим, оскільки підвищення технічного рівня виробництва лікарських засобів, продуктивність і якість

продукції може бути досягнуто без впровадження у промисловість нового спеціального технологічного устаткування.

Однією з основних умов, випускаючи фармацевтичне обладнання, була відповідність готової продукції вимогам Державної фармакопеї до чистоти, стерильності, точності дозування, забезпечення безпеки протягом установленого терміну придатності, зручності вживання всіх форм лікарських засобів, їх упаковок.

Не менш важливо було виключення шкідливих впливів вихідних продуктів, що переробляються, напівпродуктів і одержуваних медичних препаратів на виробничий персонал. Сировина та готові препарати повинні були бути захищені від мікробного обсіменіння, що досягається створенням у виробництві стерильних умов як локальних – у зоні безпосередньої обробки, так і загалом – у виробничих приміщеннях.

У створенні спеціальних умов відіграє роль фармацевтичне обладнання, що здійснює технологічні процеси. Це передбачає низку вимог до того, яку конструкцію має фармацевтичне обладнання, вибір форм і матеріалів, а також покриттів деталей фармацевтичного обладнання.

Висока вартість і в ряді випадків дефіцитність лікарської сировини вимагають мінімальних втрат продукту, що особливо важливо при введенні його до лікарської форми в дуже малих кількостях. Масове виробництво готових лікарських засобів диктує необхідність застосовувати фармацевтичне обладнання з високою продуктивністю та з можливістю його використання у потокових технологічних та автоматизованих лініях.

Створюючи спеціальне фармацевтичне обладнання для фармацевтичного виробництва, слід забезпечувати мінімальний вплив машини на якість продукту, що обробляється. Це досягається вибором раціональної форми робочих органів, застосуванням нейтральних до оброблюваного продукту матеріалів, швидко знімних деталей виконавчих органів та вузлів для їх якісного очищення, забезпечення доступності до фармацевтичного обладнання загалом для його збирання та переналагодження.

Конструюючи фармацевтичне обладнання, яке застосовуватиметься у фармацевтичній промисловості, треба враховувати, що має забезпечуватись, локалізація, нейтралізація шкідливих виділень, що утворюються у процесі виробництва.

Крім дотримання загальних вимог техніки безпеки, конструюючи фармацевтичне обладнання, необхідно передбачати спеціальні заходи та пристрої, що запобігають проникненню людини в зону обробки та вплив на неї різних шкідливих факторів технологічного процесу (ультразвукових коливань, інфрачервоного випромінювання, тепла).

Притаманні лише медичній промисловості форми готового продукту, методи дозування та упаковки вимагають створення нового фармацевтичного обладнання.

## Розділ 9. Матбаланс на серію ЛЗ

Виробничий біосинтез проходить у ферментері об'ємом 1 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0.7, тому розрахунок проводився на кількість культуральної рідини 0,7 м<sup>3</sup> або 700 л.

За складеним балансом виробництва «Мепенаму» виробнича серія складає 8800 флаконів (по 0,5 г препарату) по 1 флакону в індивідуальній упаковці.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ		
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розробив</i>		Світельська			<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акруції</i>
<i>Перевіриє</i>		Пенчук Ю.М.				113	118 3
<i>Затвердив</i>		Стадніков			<b>Кафедра БТМ</b>		
					<b>Контроль виробництва субстанції для ЛЗ</b>		

Таблиця 9.1. Матеріальний баланс виробництва

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва кінцевого продукту або напівпродукту, відходів та втрат	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ТП 7	Поживне середовище			665	ТП 7	Культуральна рідина			669
	Посівний матеріал від ТП 6.3, 6.4			35		Втрати з виносом повітря (4,5%)			31
	Всього			700		Всього			700
ТП 8	Культуральна рідина			669	ТП 8	Стабілізована культуральна рідина			673
	Водний розчин 25%-го аміаку			4					
	Всього			673		Всього			673
ТП 9	Стабілізована культуральна рідина			673	ТП 9	Охолоджена культуральна рідина			673
	Всього			673		Всього			673
ТП 10	Охолоджена культуральна рідина			673	ТП 10	Фугат			634,6
						Біомаса			4,4
						Втрати (5%)			34
	Всього			673		Всього			673
ТП 11	Біомаса			4,4	ТП 11	Суміш біомаси і захисного середовища			13,2
	Захисне середовище			8,8					
	Всього			13,2		Всього			13,2
ТП 12	Суміш біомаси і захисного середовища			13,2	ТП 12	Сухий препарат	5		
						Конденсат			7,5
						Втрати (5%)	0,7		
	Всього			13,2		Всього			13,2
ТП 13	Сухий препарат	5			ТП 13	Подрібнений сухий препарат	4,7		
						Втрати (~5%)	0,3		
	Всього			5		Всього			5
ТП 14	Подрібнений сухий препарат	4,7			ТП 14	Розфасований препарат "Мепенам", у тому числі препарату флаконів з кришками	4,4	8800	
	Флакони з кришками		8800			Втрати (5%)	0,3		
	Всього			8804,7		Всього			8804,7

ТП 15	Розфасований препарат "Мепенам", у тому числі препарату флаконів з кришками	4,4	8800		ТП 15	Препарат "Мепенам", у тому числі препарату флаконів з етикетками та інструкціями коробок	4,4	8800	8800
	Етикетки та інструкції		8800			групової тари		8800	2200
	Коробок		2200						220
	Групова тара		220						
	Всього		20024,4						20024,4



## 10. Опис лікарського засобу згідно АНД

Препарат випускають у вигляді порошку для розчину для ін'єкцій – по 1,0 г у флаконах, 1 флакон у пачці. Одна доза препарату містить імепенему тригідрату, у перерахуванні на імепенем - 1,0 г.

Мепенам чинить бактерицидну дію шляхом інгібування синтезу стінок бактеріальних клітин у грампозитивних і грамнегативних бактерій шляхом зв'язування з білками, що зв'язують пеніцилін (РВР).

Як і для інших бета-лактамних антибактеріальних засобів, показники часу, при яких концентрації імепенему перевищували мінімальні інгібуючі концентрації (МІС) ( $T > MIC$ ), вказували на високий ступінь кореляції з ефективністю. Є дані, що на доклінічному етапі імепенем продемонстрував активність при концентраціях у плазмі крові, що перевищували МІС для інфікуючих мікроорганізмів приблизно на 40 % від інтервалу дозування. Це цільове значення не було встановлено клінічно.

Бактеріальна резистентність до імепенему може виникнути у результаті: зниження проникності зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій (у зв'язку зі зниженням продукції поринів), зниження спорідненості з цільовими РВР, підвищення експресії компонентів ефлюксного насоса та продукції бета-лактамаз, які можуть гідролізувати карбапенеми.

					НУХТ БТЕК 02.03.06 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<b>Опис лікарського засобу згідно АНД</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розробив</i>		Світельська						
<i>Перевірів</i>		Пенчук Ю.М.					116	121
<i>Затвердив</i>		Стадніков						
						<b>Кафедра БТМ</b>		

## ВИСНОВКИ

Карбапенеми – це група напівсинтетичних антибіотиків, що містять у структурі молекули чотиричленне  $\beta$ -лактамне кільце.

Механізм дії, як і в інших  $\beta$ -лактамних антибіотиків, пов'язаний з порушенням утворення клітинної стінки бактерій, що супроводжується розвитком бактерицидного ефекту щодо чутливих мікроорганізмів.

До теперішнього часу описано понад 500 різних бета-лактамаз і ця кількість стрімко зростає з кожним роком. Саме сімейство цих ферментів цілком може називатися суперсімейством, оскільки воно об'єднує кілька величезних груп або підродин, що різняться за властивостями ферментів. Об'єднує їх здатність гідролізувати бета-лактамні антибіотики, а відмінності включають походження ферментів, структуру амінокислотних послідовностей, спектр субстратної специфічності, каталітичні параметри, чутливість до інгібіторів. Неодноразово робилися спроби класифікації цих ферментів.

Більшість (66-83%) вивчених ізолятів *A. baumannii* стійкі доосновним групам антимікробних препаратів, включаючи карбапенеми серед штамів *P. aeruginosa* широко поширені ізоляти нечутливі до цефалоспоринів (51-58%) та карбапенемів (54-58%); у штамів *K. pneumoniae* стійкість до цефалоспоринів становила 82-86%, до карбапенемів - 26-27%. Найбільш чутливість вивчені збудники зберігають до колистину: частка колистин-резистентних штамів *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та *K. pneumoniae* становить 2%, 1% та 19%, відповідно.

У нечутливих до карбапенемів штамів *A. baumannii* провідним механізмом стійкості є наявність карбапенемази OXA-40, яка

зустрічається у 97% штамів; карбапенем-нечутливі ізоляти *A. baumannii* відносяться до двох глобальних клональних комплексів 92 та 944.

Карбапенем-нечутливі штами *P. aeruginosa* мають метало- $\beta$ -лактамазною активністю (70% ізолятів), яка у 93% випадків зумовлена наявністю карбапенемази з групи VIM, та здійснюють ефлюкс імепенему (53% ізолятів).

Стійкість до карбапенемів у штамів *K. pneumoniae* асоціюється з карбапенемазою OXA-48 у 89% випадків; 68% карбапенем-нечутливих ізолятів цього збудника є носіями комбінації генів трьох детермінант резистентності  $bla_{OXA\ 48}$ ,  $bla_{CTX-M}$ ,  $bla_{TEM}$ .

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бета-лактамі антибіотики. URL : <https://www.msmanuals.com/uk/professional/infectious-diseases/bacteria-and-antibacterial-drugs/beta-lactams>
2. Грязнова С. Н. Пенициллинсвязывающие белки. Энзиматическая активность и свойства. *Антибиотики и медицинская биотехнология*. 1986. Т. 31, № 7. С. 487–498.
3. Коджо Ф.С., Донкор Е.С. Стійкість до карбапенемів: огляд. *Med Sci* (Базель). 2017;6. URL : <https://doi.org/10.3390/medsci6010001>.
4. Папп-Уоллес К.М., Ендіміані А., Тарасіла М.А., Бономо Р.А. Карбапенеми: минуле, теперішнє та майбутнє. Антимікробні засоби *Chemother*. 2011;55:4943-60. URL : <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>.
5. Сазыкин Ю. О. Новые аспекты резистентности к беталактамам антибиотикам. *Антибиотики и медицинская биотехнология*. 1986. Т. 31, № 7. С. 483–486.
6. Сазыкин Ю. О. Современные проблемы комбинированной антибиотикотерапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 1993. Т. 38, № 4–5. С. 22–28.
7. Сидоренко С. В. Бета-лактамазы расширенного спектра: клиническое значение и методы детекции. *Инфекции и антимикробная терапия*. 2002. Т. 4, № 6. С. 32–38.
8. Страчунский Л. С.  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия – быстро растущая и плохо осознаваемая угроза. *Клиническая микробиология и химиотерапия*. 2015. Т. 7, № 1. С. 92–96.

9. Фещенко Ю.І. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи вирішення. *Український хімотерапевтичний журнал*. 2010. № 1-2 (23). С. 4-10.

10. Характеристика и клиническое значение бета-лактамаз расширенного спектра. *Антибиотики и химиотерапия*. 2013. Т. 48, № 7. С. 18–23.

11. Эйдельштейн М. В. Бета-лактамазы аэробных грамотрицательных бактерий: характеристика, основные принципы классификации, современные методы выявления и типирования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2001. № 3. С. 223–242.

12. Brook I, Wexler HM, Goldstein EJC. Antianaerobic antimicrobials: spectrum and susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Jul;26(3):526-46. doi: 10.1128/CMR.00086-Wanger A, Chavez V, Huang RSP, Wahed A, Actor JK, Dasgupta A. Antibiotics, Antimicrobial Resistance, Antibiotic Susceptibility Testing, and Therapeutic Drug Monitoring for Selected Drugs. *Microbiol Mol Diagnosis Pathol*. 2017:119-153. doi:10.1016/B978-0-12-805351-5.00007-7.

13. Bush K, Bradford PA.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016 Aug 1;6(8). pii: a025247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247.

14. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. *Med Sci (Basel)*. 2017 Dec 21;6(1). pii: E1. doi:10.3390/medsci6010001.

15. Ellison RM. Monotherapy for Patients with Severe Sepsis? *NEJM J Watch*. 2012;2012. doi: 10.1056/ID201205300000003.

16. Hartman ME, Linde-Zwirble WT, Angus DC, Watson RS. Trends in the Epidemiology of Pediatric Severe Sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2013;14(7):686-693. doi:10.1097/PCC.0b013e3182917fad.

17. Le Saux N, Canadian Paediatric Society, Infectious Diseases and Immunization Committee. Guidelines for the management of suspected and confirmed

bacterial meningitis in Canadian children older than one month of age. *Paediatr Child Health*. 2014 Mar;19(3):141-52.

18. List of Carbapenems. Available from: <https://www.drugs.com/drug-class/carbapenems.html>. Accessed: March 16, 2019.

19. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Nov;55(11):4943-60. doi: 10.1128/AAC.00296-11.

20. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. *Clin Infect Dis*. 2017;64(6):701-706. doi:10.1093/cid/cix152.

21. Tutu van Furth AM, El Tahir O. Bacterial meningitis. *BMJ Best Pract*. 2018. Available from: <https://bestpractice.bmj.com/topics/en-gb/539>. Accessed: March 20, 2019.

22. Bush, K.A. Lactamase inhibitors from laboratory to clinic / K.A. Bush // *Clinical Microbiology*. - 1988. - Vol.1. - P.109-123.

23. Bush, K. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases / K. Bush, G.A. Jacoby // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2010. - P. 969-976.

24. Bush, K.A. Functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure / K.A. Bush, G.A. Jacoby, A.A. Medeiros // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 1995. - Vol.39. - P.1211-1233.

25. Queenan, A.M. Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases / A.M. Queenan, K. Bush // *Clinical Microbiology* - 2007. - Vol.20. - P.440-458.

26. Hancock, R. E. W. Outer membrane proteins of *Pseudomonas* / R. Siehnel, N. Martin // *Molecular microbiology*. - 1990. - Vol.4. - №7. - P. 1069-1075.

27. Лабінська, А.С. Приватна медична мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень/О.С. Лабінська, Л.П. Блінкова, А.С. Єщина // М.: Видавництво «Медицина», 2005. - С.96-10.

28. Qiu, H. Role of macrophages in early host resistance to respiratory *Acinetobacter baumannii* infection / H. Qiu, R. KuoLee, G. Harris, N. Van Rooijen, G.B. Patel., W.Chen // PLoS One. – 2012. – Vol.7. – P. 40019.

29. Rodriguez-Bano, J. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications / J. Rodriguez-Bano, S. Marti, S. Soto, F. Fernandez-Cuenca, J.M. Cisneros, J. Pachon, A. Pascual, L. Martinez-Martinez, C. McQueary, L.A. Actis, J. Vila. // Clinical Microbiology. – 2008. – Vol.14. – №3. – P. 276–278.

30. Russo, T.A. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor / T.A. Russo, N.R. Luke, J.M. Beanan, R. Olson, S.L. Sauberan, U. Mac-Donald, L.W. Schultz., T.C. Umland., A.A. Campagnari // Infection Immunology. – 2010. – Vol. 78. – №9. – P. 3993–4000.

31. Sato, H. Role of pili in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* burn infection / H. Sato, K. Okinaga, H. Saito // Microbiol. Immunol. – 1988. – Vol.32. – P. 131–139.

32. Cigana, C. *Pseudomonas aeruginosa* exploits lipid A and mucopeptides modification as a strategy to lower innate immunity during cystic fibrosis lung infection / C. Cigana, L. Curcurù, M.R. Leone, T. Ieranò, N.I. Lorè, I. Bianconi, A. Silipo, F. Cozzolino, R. Lanzetta, A. Molinaro, M.L. Bernardini, A. Bragonzi // PloS One. – 2009. – Vol.4. - №12. – P.8439

33. Podschun, R. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors / R. Podschun, U. Ullmann // Clinical microbiology. – 1998. – №4. P. 589–603.

34. Pendleton, J.N. Clinical relevance of the ESCAPE Pathogens / J.N. Pendleton, S.P. Gorman, B.F. Gilmore // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2013. – Vol. 11(3). – P. 297–308.

35. Агеєвець, В.А. Проблема стійкості до карбапенемних антибіотиків: поширення карбапенемів у світі та Україні, Епідеміологія, діагностика,

можливості лікування. / В.А. Агеєвець, І.В. Лазарева, С.В. Сидоренко.  
// Фарматека. – 2015. – №14. – С.9-16.

36. Страчунський, Л.С. Практичний посібник з антиінфекційної хіміотерапії / Л.С. Страчунський, Ю.Б. Білоусов, С.М. Козлов // М.: Смоленськ: МАКМАХ, 2007. – С. 1463/

37. Lister, P.D. Antibacterial-resistance *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms / P.D. Lister, D.J. Wolter, N.D. Hanson // *Clinical Microbiology*. - 2009. - №4. - P.582–610.

38. Bonnin, R.A. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii* / R.A. Bonnin P. Nordmann, 107 A. Potron, H. Lecuyer, J.R. Zahar, L. Poirel // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2011. - Vol. 55. - №1. – P. 349–354.

39. Hsu, A.J. Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections in Children. / A.J. Hsu, P.D. Tamma // *Clinical Infection Disease*. – 2014. – Vol.58. – №10. – P.1439–1448.

---