

Д.И. АНУАРБЕК, А.А. ТАБАЕВА

ЗНАЧИМОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕХОДА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА НА МЕЖДУНАРОДНЫЕ СТАНДАРТЫ GMP (надлежащая производственная практика)

(Представлена академиком НАН РК Т.Ш. Шармановым)

Введение

Следуя на пути осуществления цели, намеченной в Послании Президента народу Республики Казахстан, войти в число 50 наиболее развитых и конкурентоспособных государств мира, передовые предприятия отечественной фармацевтической промышленности, проведя реконструкцию в сфере производства, с января 2008 года внедряют правила GMP (надлежащей производственной практики) и переходят на новые требования контроля лекарственных средств, устанавливаемые национальной фармакопеей и обеспечивающие безопасность, эффективность, высокое качество продукции, являющиеся главным условием её конкурентоспособности на отечественном и мировом фармацевтическом рынках (1,2).

Внедрение стандартов GMP направлено на создание системы обеспечения качества фармацевтической продукции на всех этапах её разработки, производства и реализации.

Качество конечной фармацевтической продукции во многом определяется качеством и безопасностью лекарственного сырья. Строгий контроль за соблюдением поставщиками всех норм и требований действующей фармакопеи осуществляется при приеме партий сырья на склад завода. Сырьё при поступлении на завод и последующей переработке подвергается тщательной проверке по всем показателям качества, нормируемым для данного вида сырья – внешнему виду, соответствию маркировке, физическим свойствам, химическому составу, микробиологической чистоте. Большое значение уделяется проверке микробиологической чистоты на соответствие утвержденным и действующим технологическим регламентам, государственным и отраслевым стандартам. Сырьё не может быть использовано в производстве до получения результатов анализа, подтверждающих соответ-

ствие качества данного сырья требованиям нормативной документации.

Лекарственное сырьё включает в себя активные субстанции и вспомогательные вещества. К *активным субстанциям* относятся вещества растительного, животного, микробного или синтетического происхождения, обладающие фармакологической активностью и предназначенные для производства и изготовления лекарственных препаратов. *Вспомогательные вещества* – это вещества органической или неорганической природы, которые используют в процессе производства готовых лекарственных форм для придания им необходимых свойств (2,3,4).

Активные фармацевтические субстанции и вспомогательные вещества могут быть загрязнены другими субстанциями, веществами, моющими или дезинфицирующими средствами, микроорганизмами, частицами пыли, смазочными материалами и др. (5). Обсеменение лекарственного сырья микроорганизмами возможно на всех этапах его заготовки и хранения. Инфицирование сырья происходит через воду, нестерильную аптечную посуду, оборудование, воздух производственных помещений и руки персонала. Обсеменение растительного сырья происходит также за счет нормальной микрофлоры растений и фитопатогенных микроорганизмов (возбудителей заболеваний растений). При заготовке и хранении сырья важно соблюдение санитарного режима на всех этапах движения и хранения. Неблагоприятное действие оказывают влажность, пыль, насекомые и другие факторы, повышающие микробное обсеменение и приводящие к порче лекарственного сырья (6). Состав микроорганизмов зависит от вида лекарственного сырья, его структуры и фармакологических свойств. Как правило, преобладают грибы (*Mucor sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Saccharomyces*

sp., *Candida* sp.), актиномицеты и спорообразующие виды бактерий (*B. subtilis*, *B. megatherium*) (6). Размножившиеся микроорганизмы вызывают изменение фармакологических свойств препаратов, а чрезмерная инфицированность сырья грибами может вызвать у человека микотоксикоз. Для предупреждения подобных последствий фармакопея предусматривает обязательное определение микробиологической чистоты лекарственного сырья (содержания жизнеспособных бактерий и грибов в 1 г) перед использованием его в производстве.

Целью настоящего исследования явилось определение микробиологической чистоты лекарственного сырья, поступившего на фармацевтическую фабрику г. Алматы в 2008 году.

Материалы и методы:

Нами были обследованы 39 активных субстанций и 123 вспомогательных вещества, поступивших на фабрику для изготовления готовых лекарственных препаратов (все серии).

Лекарственное сырье, обладающее антимикробным действием и хорошо растворимое в воде, исследовалось методом мембранной фильтрации (Таблица № 1). Лекарственное сырье, не обладающее антимикробным действием, плохо растворимое в воде, исследовалось классическим методом (Таблица № 2) (2,3,4).

Показатели микробиологической чистоты оценивались на соответствие рекомендуемым, изложенным в Государственной Фармакопее (2,3,4), частных фармакопейных статьях на конкретные виды сырья (7), в монограммах Европейской Фармакопее (8).

Результаты исследования и их обсуждение:

При исследовании активных субстанций нами были получены следующие данные: в двух пробах (5,13%) обнаружены грамположительные спорообразующие палочки, ОМЧ при исследовании ацикловира составило 30 КОЕ/1,0 г, теофиллина микропеллета – 271,5 КОЕ/1,0 г. Указанные показатели микробной обсемененности являются допустимыми.

Доля микробноконтаминированных вспомогательных веществ составляла 13,82%, из них в 76,48% выделены грамположительные спорообразующие палочки, в остальных были выделены плесневые грибы, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* и ассоциация плесневых грибов с грамположительными спорообразующими палочками (по 5,88%).

В частности, при исследовании кукурузного крахмала двух разных серий обнаруживались грамположительные спорообразующие палочки в количествах 10 КОЕ/1,0г; 95 КОЕ/1,0г и в одной серии наблюдается ассоциация плесневых грибов и грамположительных спорообразующих палочек в количестве 5 КОЕ/1,0г.

ОМЧ желатиновых капсул к разным препаратам составляла 382 КОЕ/1,0г; 60 КОЕ/1,0г; 28,5 КОЕ/1,0г; 26,5 КОЕ/1,0г; 7,5 КОЕ/1,0г, при посевах были обнаружены грамположительные спорообразующие палочки.

Исследования кросповидона, лактозы моногидрата, кальция фосфат дигидрата, гидроксипропилметилцеллюлозы, сорбитола, минерального масла показали наличие в них грамположительных спорообразующих палочек с показателями ОМЧ:

Таблица 1. Определение микробиологической чистоты лекарственного сырья с помощью аппарата мембранной фильтрации (Sartorius, Германия)

№ п/п	Фильтры	Питательные среды	Режим инкубации
1.	тип фильтра – 13806, размер пор – 0,45 мкм	TSA Среда № 1	33° С – 24-72 часа
2.	тип фильтра – 14069, размер пор – 0,65 мкм	Sabouraud Среда № 2	23° С – 2-5 сут.
3.	тип фильтра – 14097, размер пор – 0,45 мкм	MACCONKEY Среда Эндо	33° С – 18-24 часа
4.	тип фильтра – 14097, размер пор – 0,45 мкм	VISMUT-SULFIT Среда BCA	33° С – 18-24 часа
5.	тип фильтра – 14075, размер пор – 0,45 мкм	CETRIMIDE Pseudomonas agar	33° С – 48 часов
6.	тип фильтра – 14074, размер пор – 0,45 мкм	CHAPMAN Staphylococcus medium	33° С – 48 часов

Таблица 2. Определение микробиологической чистоты лекарственного сырья классическим методом

№ п/п	Показатели	Методы посева	Питательная среда	Режим инкубации
1.	ОМЧ	Глубинный	TSA Среда № 1	33° С – 5 дней
2.	ОЧГ	Глубинный	Sabouraud Среда № 2	23° С – 5 дней
3.	Бактерии семейства Enterobacteriaceae	Прямой	Среда № 3	33° С – 24-48 часов
			Среда Эндо Среда № 4	33° С – 24-48 часов
			Среда ВСА Среда № 5	33° С – 24-48 часов
4.	S. aureus	Прямой	Среда № 8	33° С – 24-48 часов
			Staphylococcus medium Среда № 9	35° С – 24 часов
5.	P. aeruginosa	Прямой	Среда № 8	33° С – 24-48 часов
			Pseudomonas agar Среда № 10	35° С – 24 часов

Примечание: ОМЧ – общее микробное число;
ОЧГ – общее число грибов (дрожжевых и плесневых).

Таблица 3. Нормативные показатели микробиологической чистоты сырья, рекомендуемые отечественными и международными стандартами

Лекарственная форма	Категории	Применение	Показатели
Сырье	Категория 2.2	Субстанции синтетического происхождения для производства нестерильных лекарственных препаратов	ОМЧ – 1000 КОЕ/1,0 г (мл); ОЧГ – 100 КОЕ/1,0 г (мл); E. coli – отсутствие/1,0 г (мл)
	Категория 4.2	Вспомогательные вещества (мука пшеничная, крахмал, тальк и т.д.)	ОМЧ – 1000 КОЕ/1,0 г (мл); ОЧГ – 100 КОЕ/1,0 г (мл); Enterobacteriaceae – 100 КОЕ/1,0 г (мл); Бактерии Salmonella sp., E. coli, S. aureus, P. aeruginosa – отсутствие/1,0 г (мл)

20 КОЕ/1,0г; 300 КОЕ/1,0г; 15 КОЕ/1,0г; 175 КОЕ/1,0г; 20 КОЕ/1,0г; 90 КОЕ/1,0г, соответственно.

В стеариловом спирте и содиум лаурилсульфате были обнаружены *Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus aureus*, соответственно. Аэросил давал сплошной рост плесневых грибов.

Выводы:

1. При исследовании активных субстанций в 5,13 % пробах были обнаружены грамположительные спорообразующие палочки с допусти-

мыми регламентирующей документацией значениями КОЕ/г.

2. 13,82 % вспомогательных веществ из общего числа исследованных были контаминированы микроорганизмами, из которых 76,48 % составляли грамположительные спорообразующие палочки, по 5,88% приходились на плесневые грибы, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* и ассоциацию плесневых грибов с грамположительными спорообразующими палочками.

3. Во вспомогательных веществах натрия лаурилсульфат и аэросил были обнаружены *Staphylococcus aureus* и сплошной рост плесневых грибов.

4. В соответствии с монограммами Европейской Фармакопеи такие вспомогательные вещества как кросповидон, кальций фосфат дигидрат, гидроксипропилметилцеллолоз, стеариловый спирт, натрия лаурилсульфат, аэросил и др. не регламентируются по показателю микробиологической чистоты. Однако, в результате наших исследований было установлено наличие в содиуме лаурилсульфате условно-патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, потенциально опасных для здоровья человека, а в аэросиле количество плесневых грибов значительно превысило допустимые значения. Следовательно, возникает необходимость внесения соответствующего изменения/дополнения по данному пункту в национальную регламентирующую документацию.

5. Дальнейшего тщательного изучения заслуживает вопрос контаминации лекарственного сырья спорообразующей микрофлорой. Как видно из результатов проведенного исследования, чаще всего из проб высевались грамположительные спорообразующие палочки и грибы. Споры при благоприятных условиях могут переходить в вегетативные формы и активно размножаться. Поэтому, очевидно, следует рассмотреть вопрос об обязательности и методах микробной деконтаминации сырья, в котором обнаруживается спорная микрофлора.

Ключевые слова: лекарственное сырье, активные субстанции, вспомогательные вещества, микробиологическая чистота лекарственного сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ «Об утверждении государственных стандартов», утвержденный Комитетом по техническому регулированию и метрологии министерства индустрии и торговли от 29.12.2006 г.
2. Государственная фармакопея Республики Казахстан, утвержденная приказом МЗ РК № 131 от 11.03.2008 г.
3. Государственная Фармакопея XI, выпуск 2, с. 193. Изменение №3 от 19.03.2003г.
4. Европейская Фармакопея (действующее издание), 2008 г., разделы 5.1.4; 2.6.12; 2.6.13.
5. Процесс очистки производственного оборудования и его валидация// www.medbusiness.ru
6. В. А. Галькин, Н. А. Заикина, В. И. Кочеровец, Т. С. Потехина, Н. Д. Бунятян. «Основы фармацевтической мик-

робиологии», Учебное пособие//Проспект Науки, Санкт-Петербург, 2008.

7. ВАНД РК – частные фармакопейные статьи.

8. Монограммы Европейской Фармакопеи и USP, 2008 г.

Резюме

Қосалқы дәрі шикізаттарын тексеру барысында (натрий лаурилсульфат және аэросил) *Staphylococcus aureus* табылған, және зәң саңырауқұлақтарының жаппай өсуі байқалды. Еуропа Фармакопеясының монограммалары бойынша кросповидон, дигидрат кальций фосфаты, гидроксипропилметилцеллолоза, стеарилды спирт, натрий лаурилсульфаты, аэросил және т.б. шикізаттар микробиологиялық тазалыққа байланысты сарапталмайды. Бірақ, зертеу барысында натрий лаурилсульфатында шартты-патогенді микробтардың, *Staphylococcus aureus* микробының, аэросилде зәң саңырауқұлақтарының жаппай өсуі байқалды. Осыған байланысты ұлттық қалыптама документтерге өзгерістер мен толықтырулар енгізу қажет. Сондай-ақ, споралық микрофлорамен зақымдалған дәрі шикізаттарын микробтық деконтаминациялауын қадағалап, деконтаминация әдістерін қарастыру қажет.

Негізгі сөздер: GMP, сапаны бақылау, дәрі шикізатының микробиологиялық тазалығы, белсенді субстанция, қосалқы заттар.

Summary

13,82 auxiliary substances from the general number investigated were contamination microorganisms of which 76,48 made gram-positive cryptogamous generator sticks, on 5,88 fell плесневые to mushrooms, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* and association плесневых mushrooms with грамположительными cryptogamous generator sticks. According to monograms of the European Pharmacopoeia such auxiliary substances as crosповидон, calcium phosphate dihydrate, hydroxpropilmethyl cellulose, stearyl spirit, sodium laurilsulfat, aérofores, etc. are not regulated on a parameter of microbiological cleanliness. However, as a result of our researches presence in sodium laurilsulfat is conditional-pathogenic microorganisms *Staphylococcus aureus* has been established, potentially hazardous to health person, and in aéroforce the quantity moulding mushrooms has considerably exceeded admissible values. Hence, there is a necessity of entering of corresponding change/addition on the given item in the national regulating documentation. The further careful studying the question contamination deserves medicinal raw material cryptogamous generator microflora. Apparently from results of carried out research, more often from tests were sowed gram-positive cryptogamous generator sticks and mushrooms. Disputes under favorable conditions can pass in vegetative forms and actively be made multiple copies. Therefore, obviously, it is necessary to consider the problem on compulsion and methods microbic decontamination raw material in which the sporous microflora is found out.

Keywords: medicinal raw material, active substances, auxiliary substances, microbiological cleanliness of medicinal raw material.

Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова, кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии, г.Алматы

Поступила 10.04.09