

УДК 661.158:615.015

Кушнір І.М., канд.с.-г. наук (igorku70@gmail.com) ©*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів*

ВПЛИВ ПОВТОРНОЇ СТЕРИЛІЗАЦІЇ НА ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

У статті висвітлено питання впливу повторної стерилізації фізіологічного розчину та води для ін'єкцій, розфасованих у різну за об'ємом пакувальну тару (2,5 та 200 см³), що піддавались автоклавуванню при температурних режимах 121 °С упродовж 15 хв і 134 °С упродовж 20 хв. Встановлено, що при повторній стерилізації при різних температурних режимах змін показників якості досліджуваних розчинів для ін'єкцій не було виявлено.

Ключові слова: бактерійні ендотоксини, ЛАЛ-тест, питома електропровідність, автоклавування, повторна стерилізація

Вступ. При промисловому виробництві стерильних лікарських засобів (ЛЗ) постійно виникає цілий ряд питань щодо забезпечення контролю за вмістом бактерійних ендотоксинів. У зв'язку з тим, що бактерійні ендотоксини володіють широким спектром патологічних для організму людини і тварин біологічних ефектів [1] їх визначення є одним із важливих тестів біологічного контролю ЛЗ.

Традиційно визначення бактерійних ендотоксинів проводять за допомогою тесту на кролях та ЛАЛ-тестом, проте, не у всіх випадках застосування тесту на кроликах є доцільним [2].

У лабораторній практиці ветеринарної та гуманної медицини України визначення бактерійних ендотоксинів за допомогою ЛАЛ-тесту (Лізату амебоцитів лімулюса-тест) не знайшло широкого застосування [3]. Впровадження ЛАЛ-тесту у практику виробництва стерильних ЛЗ, призначених для ветеринарної медицини, а також у клінічні дослідження має певні труднощі, що пов'язано, в першу чергу, з економічними чинниками, а також з відсутністю нормативної документації [1, 3].

Препарати, що не відповідають вимогам нормативної документації за вмістом бактерійних ендотоксинів підлягають утилізації, тому метою нашої роботи було визначення впливу повторної стерилізації на показники якості води для ін'єкцій та фізіологічного розчину.

Матеріали і методи. Для дослідження використовували фізіологічний розчин та воду для ін'єкцій, які повторно автоклаували за температури 121°С упродовж 15 хв. та 134°С — 20 хв. Визначення бактерійних ендотоксинів та аналітичні дослідження проводили згідно з методиками нормативної документації та відповідних фармакопейних статей [4, 5, 6]. Бактерійні

ендотоксини визначали методом А, для постановки ЛАЛ-тесту використовували набори реактивів «Associates of Cape Cod Inc.»(США): ЛАЛ-реактив Pyrotell (заявлена чутливість — 0,03 МО/мл), ЛАЛ-вода Pyroclear, контрольний стандарт ендотоксину (*Esherichia coli* 0113:H10) і буферний розчин Pygosol (0.2М трис-НСІ буфер, рН =7,4). Для розведення використовували апірогенні наконечники та пробірки 13x75 мм. Інкубацію реакційної суміші проводили при температурі 37±1 °С впродовж 60±2 хв у сухоповітряному термоблоці «PYROTHERM». Робота проводилась спільно з лабораторією біологічного контролю корпорації Артеріум АТ «Галичфарм».

Результати дослідження. Згідно з вимогами нормативної документації та відповідних фармакопейних статей, рівень бактерійних ендотоксинів у воді для ін'єкцій повинен становити менше 0,25 МО/мл. Проте, досягнути такого рівня при виробництві препаратів не завжди вдається. Тому нами з метою розробки методу підвищення якості препаратів за показником бактерійні ендотоксини було вивчено вплив повторної стерилізації на показники якості готового продукту. Результати дослідження води для ін'єкцій, розфасованої у ампули об'ємом 2 см³, подано у таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив повторної стерилізації на показники якості води для ін'єкцій у ампулах по 2 см³

Показники	Готовий лікарський засіб	Повторна стерилізація, температура/час	
		121°С – 15 хв.	134°С – 20 хв.
Зовнішній вигляд	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина
Питома електропровідність, не більше, мкСм/см	14,5±0,1	14,6±0,1	15,8±0,1
Хлориди, не більше %	<0,00005	<0,00005	<0,00005
Нітрати, не більше %	<0,00002	<0,00002	<0,00002
Амонію солі, не більше %	<0,00002	<0,00002	<0,00002
Сухий залишок, не більше мг	3,0±0,05	3,0±0,1	2.9±0,08
Механічні включення	-	-	-
Невидимі частки 10 мкм	280±2,6	280±3,4	280±3,9
25 мкм	21±0,5	21±0,7	21±0,4
Стерильність	Стерильний	Стерильний	Стерильний
Бактерійні ендотоксини, менше МО/мл	< 0,25	< 0,25	< 0,25

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, при повторній стерилізації води для ін'єкцій у ампулах по 2 см³, суттєвих змін у досліджуваних показниках не виявлено. Встановлено лише збільшення питомої електропровідності при

повторній стерилізації за температури 134 °С на 8,9 %, порівняно із готовим препаратом, проте даний показник не виходить за межі декларованих показників якості.

У подальшому визначили вплив різних температурних режимів на показники якості води для ін'єкцій у флаконах по 5 см³. Результати досліджень подано у таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив повторної стерилізації на показники якості води для ін'єкцій у ампулах по 5 см³

Показники	Готовий лікарський засіб	Повторна стерилізація, температура/час	
		121°С – 15 хв.	134°С – 20 хв.
Зовнішній вигляд	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина
Питома електропровідність, не більше, мкСм/см	10,6±0,07	10,8±0,09	13,5±0,14
Хлориди, не більше %	<0,00005	<0,00005	<0,00005
Нітрати, не більше %	<0,00002	<0,00002	<0,00002
Амонію солі, не більше %	<0,00002	<0,00002	<0,00002
Сухий залишок, не більше мг	1,02±0,04	1,3±0,04	1,3±0,03
Механічні включення	-	-	-
Невидимі частки			
10 мкм	325±2,5	328±2,2	328±3,3
25 мкм	51±0,6	52±0,6	52±0,5
Стерильність	Стерильний	Стерильний	Стерильний
Бактерійні ендотоксини, менше МО/мл	< 0,25 МО/мл	< 0,25 МО/мл	< 0,25 МО/мл

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, при повторній стерилізації води для ін'єкцій, у флаконах по 5 см³, встановлено незначне збільшення питомої електропровідності за температури 121 °С на 1,9 % та за температури 134 °С на 27,3 %, порівняно із готовим препаратом, всі решта показники були без змін.

У подальшому ми вивчили вплив різних умов повторної стерилізації на показники якості фізіологічного розчину. Визначення впливу повторної стерилізації на аналітичні показники розчину натрію хлориду, розфасованого по 10 та 200 см³, подано у таблицях 3, 4.

Таблиця 3

Вплив повторної стерилізації на показники якості натрію хлориду у ампулах по 10 см³

Показники	Готовий лікарський засіб	Повторна стерилізація, температура/час	
		121°C – 15 хв.	134°C – 20 хв.
Зовнішній вигляд	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина
Об'єм, що витягається, не менше, мл	5,01	5,01	5,01
Механічні включення	-	-	-
Невидимі частки 10 мкм 25 мкм	652±1,1 25±0,4	677±1,7 25±0,3	650±1,4 25±0,3
Стерильність	Стерильний	Стерильний	Стерильний
Бактерійні ендотоксини, менше МО/мл	0,5	0,5	0,5
Кількість натрію хлориду, в мл	9.1±0,03	9.1±0,06	9,1±0,05
pH	5,3±0,04	5,7±0,07	5.7±0,05
Залізо, не більше %	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002

Таблиця 4

Вплив повторної стерилізації на показники якості натрію хлориду у флаконах по 200 см³

Показники	Готовий лікарський засіб	Повторна стерилізація, температура/час	
		121°C – 15 хв.	134°C – 20 хв.
Зовнішній вигляд	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина	Прозора безбарвна рідина
Об'єм, що витягається, не менше	5,01	5,01	5,01
Механічні включення	-	-	-
Невидимі частки 10 мкм 25 мкм	652±1,7 25±0,3	677±1,5 25±0,4	612±1,6 25±0,4
Стерильність	Стерильний	Стерильний	Стерильний
Бактерійні ендотоксини, менше МО/мл	0,5	0,5	0,5
Кількість натрію хлориду, в 1 мл	9.1±0,07	9.1±0,04	9,1±0,06
pH	5,30±0,04	5,74±0,04	5.75±0,05
Залізо, не більше %	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002

Результати, наведені в таблицях 3 та 4, свідчать про те, що повторна стерилізація за температури 134 °C упродовж 20 хв. не спричинює значних відхилень від задекларованих показників якості розчину натрію хлориду.

Висновки. 1. Незалежно від об'єму фасувальних одиниць розчину натрію хлориду та води для ін'єкцій, повторна стерилізація за температури 134°C упродовж 20 хв. не впливає на їх показники якості.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження впливу повторної стерилізації на рівень бактерійних ендотоксинів у стерильних лікарських засобах.

Література

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / За ред. док.вет.наук, проф. І. Я. Коцюмбаса — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.

2. Ситников А. Г. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности / А. Г. Ситников, Л. А. Травина, В. Л. Багирова. — М. — 1997. — 96 с.

3. Коцюмбас І. Я. Проблема визначення ендотоксинів, як основної причини пірогенності / І. Я. Коцюмбас, Г. Ю. Тесляр, А. О. Костюк [та ін.] // Ветеринарна медицина України. — 2001. — № 8. — С. 34–36.

4. Державна фармакопея України/ Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 1. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2004. — 520 с.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620с.

Summary

I. M. Kushnir

REPEATED STERILIZATION INFLUENCE ON QUALITY OF PROVIDED MEDICINES INDICATORS

In the article the question of repeated sterilization influence of saline and water for injection packaged in different containers by volume (2,5 and 200 cm³,) that underwent autoclaving at temperatures 121 °C within 15 min and 134 °C within 20 min is highlighted. It was established that at repeated sterilization at different temperatures changes in the indices of solutions for injection quality hadn't been observed.

Key words: bacterial endotoxins, LAL-test, specific conductivity, autoclaving, repeated sterilization

Стаття надійшла до редакції 13.05.2011