

ЛЕКЦИЯ № 4

ЕДИНАЯ СИСТЕМА GLP, GSP И GMP ПРИ ВНЕДРЕНИИ В ПРАКТИКУ И ПРОИЗВОДСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Для студентов, обучающихся по направлению подготовки «Биология»
(профиль «Биохимия») при изучении дисциплины «Введение в биотехнологию»

ПЛАН ЛЕКЦИИ

1. Требования системы GLP к биотехнологическому производству
2. Требования системы GCP к биотехнологическому производству
3. Требования системы GMP к биотехнологическому производству.
4. Система обеспечения безопасных условий труда и охраны окружающей среды.
5. Нормативные документы, регламентирующие качество продукции в биотехнологическом производстве.
6. Структура биотехнологического производства.
7. Составляющие биотехнологического процесса.
 - 7.1. Питательные среды.
 - 7.2. Биологический агент.
 - 7.3. Биореакторы.
 - 7.4. Постферментационная стадия биотехнологического процесса.
8. Критерии оценки эффективности биотехнологического процесса.
9. Контроль и управление биотехнологическими процессами.

Потребительские свойства лекарственных препаратов – эффективность, безопасность и фармацевтические аспекты качества – обеспечиваются благодаря соблюдению важнейших международных стандартов:

✓ **GMP (Good manufacturing practice)** – надлежащей производственной практики

✓ **GLP (Good Laboratory Practice)** – доклинической оценки безопасности фармакологических средств

✓ **GCP (Good Clinical Practice)** – проведения клинических испытаний

При соблюдении требований стандартов GMP, GLP и GCP фармацевтическое предприятие может гарантировать, что:

- ✓ разработка, испытания и изготовление лекарственных препаратов проведены с учетом требований международных стандартов;
- ✓ производство обеспечено утвержденными технологическими регламентами и методиками и/или инструкциями, учитывающими требования международных стандартов;
- ✓ четко определена ответственность руководящего персонала за качество готового продукта, что должно быть установлено должностными инструкциями;
- ✓ контроль качества исходного сырья, вспомогательных, упаковочных и маркировочных материалов проведены на стадиях их изготовления и/или поставки и перед применением в производстве;
- ✓ проведена регистрация всех производимых контрольных испытаний сырья, вспомогательных, упаковочных и маркировочных материалов, полупродуктов и готовых продуктов, постадийного контроля процесса производства, калибровки приборов и валидации;
- ✓ готовый продукт произведен в соответствии с утвержденными технологическими регламентами;
- ✓ реализация готового продукта осуществлена только после получения соответствующего разрешения руководителя отдела контроля качества;
- ✓ имеется документация, позволяющая контролировать условия хранения продукта в течение срока годности у производителя, а также при транспортировке и до реализации.

1. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GLP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Доклинические исследования включают следующие этапы:

- 1) скрининг специфической биологической активности природных или синтетических химических соединений;**
- 2) сравнительный анализ фармакологической эффективности новых биологически активных веществ по сравнению с уже известными;**
- 3) изучение механизмов действия новых фармакологических веществ;**
- 4) исследование безопасности новых лекарственных средств в соответствии с международными требованиями GLP.**

В 2000 г. в России вышло в свет **«Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ»**, в котором отражены методические указания по изучению специфической активности фармакологических веществ, а также безопасности лекарственных средств.

При проведении исследований по изучению специфической активности и эффективности новых биологически активных веществ важное значение имеют:

- 1) выбор экспериментальных биологических моделей адекватных физиологическим процессам, протекающих в организме человека;**
- 2) использование методических подходов, обладающих соответствующей чувствительностью, специфичностью и воспроизводимостью;**
- 3) составление исследовательского протокола, отвечающего требованиям «чистого эксперимента».**

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Клинические испытания лекарственных средств направлены на совершенствование медикаментозной терапии и повышение ее эффективности, являются одним из приоритетных направлений современного здравоохранения.

В настоящее время правовой базой для проведения клинических испытаний в России является **Федеральный закон «О лекарственных средствах»**, который гласит:

«Целью клинических исследований лекарственных средств является получение научными методами оценок и доказательств эффективности и безопасности лекарственных средств, данных об ожидаемых побочных эффектах от применения лекарственных средств и эффектах взаимодействия с другими лекарственными средствами».

В соответствии с ФЗ «О лекарственных средствах» правовую основу проведения клинических испытаний в России составляют следующие документы:

решение Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники о проведении клинических исследований;

✓ договор о проведении клинических исследований между учреждением здравоохранения и организацией-разработчиком лекарственного средства.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Договор должен содержать сведения о сроках и объемах клинических испытаний, общей стоимости программы клинических испытаний, о форме представления результатов клинических испытаний в Федеральный орган контроля качества лекарственных средств, а также сведения об условиях страхования здоровья пациентов, участвующих в клинических испытаниях.

Статьей 12 ФЗ «О лекарственных средствах» предусмотрено лицензирование учреждений здравоохранения на право проведения клинических исследований лекарственных средств.

Комиссия МЗ РФ по выдаче лицензий на проведение клинических испытаний разработала основные критерии, предъявляемые к клиническим базам, — наличие необходимого медицинского и лабораторного оборудования, специалистов, подготовленных согласно требованиям международного стандарта GCP, опыта участия в клинических испытаниях и локального комитета по этике.

Конституция РФ (статья 21) гласит, что никто не может быть подвергнут медицинским, научным или иным опытам без его добровольного согласия.

ФЗ «О лекарственных средствах» содержит нормы, определяющие права пациентов, участвующих в клинических исследованиях.

Этическими вопросами занимается **Комитет по этике** при Департаменте государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники и **локальные этические советы** при учреждениях здравоохранения.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

В ближайшее время планируют:

- ✓ утверждение типового положения об этических комитетах при учреждениях здравоохранения, проводящих клинические испытания;
- ✓ разработку закона о страховании всех субъектов клинических испытаний лекарственных средств;
- ✓ создание эффективной системы контроля за ходом клинических испытаний, разрешенных МЗ РФ;
- ✓ усиление контроля за клиническими испытаниями иммунобиологических препаратов и дезинфицирующих средств;
- ✓ обучение специалистов правилам GCP в соответствии с ОСТ 42-511-99;
- ✓ создание Реестра клинических исследований, разрешенных МЗ РФ.

В решении проблемы безопасности фармакотерапии важным является широкое распространение независимой информации о неблагоприятных побочных реакциях, мерах их профилактики и лечения. С этой целью в РФ издается **бюллетень «Безопасность лекарств»**.

Этические и правовые аспекты клинических исследований являются важными при проведении медико-биологических исследований на человеке.

Назрела необходимость создания при правительстве РФ **независимого этического комитета**, который действовал бы в соответствии с Хельсинкской Декларацией, Директивами Европейского Сообщества, Рекомендациями ICH GCP.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

По определению, принятому в Европе (**Good Clinical Practice for trials on medical products in European Community (III/3976/-EN, July 1991)**), **этические комитеты** – это независимые организации, в состав которых входят профессиональные медики и лица немедицинских специальностей, несущие ответственность за обеспечение защиты прав и здоровья людей, участвующие в испытании, и гарантирующие такую защиту для общества в целом.

Деятельность по контролю за соблюдением прав человека при проведении клинических испытаний осуществляют **независимые этические комитеты**. Их участие в подготовке и проведении клинических испытаний – неременное условие, которое следует строго выполнять.

Базовым документом для создания и функционирования независимых этических комитетов признан ICH (International Conference on Harmonisation – **Международная конференция по гармонизации**), в котором определены основные направления их работы, включающих выполнение следующих процедур:

- ✓ учреждение этических комитетов;
- ✓ предоставление заявок на рассмотрение;
- ✓ экспертиза;
- ✓ принятие решения о проведении клинического испытания;
- ✓ контроль проведения клинического испытания.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Европейский форум GCP разработал рекомендации относительно **состава этических комитетов**.

В их состав должны входить не менее 5 человек. Среди них должны быть как минимум **2 врача**, имеющих опыт проведения испытаний в соответствии с требованиями GCP и независимых от учреждения, в котором оно проводится. В состав этических комитетов должны быть также включены **юрист, парамедик и хотя бы один человек, который не занимается научной деятельностью**. В этических комитетах должны быть лица обоего пола, разного возраста. Члены этических комитетов должны быть хорошо ознакомлены с культурными и этническими традициями региона, население которого предполагается привлекать к участию в испытании.

Основными задачами Комиссии по вопросам этики являются:

- ✓ защита прав и интересов исследуемых, привлеченных к клиническому испытанию лекарственных средств;
- ✓ защита прав и интересов исследователей;
- ✓ обеспечение этической и нравственно-правовой оценки материалов клинического испытания.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

До начала проведения клинического испытания лекарственного средства этический комитет оценивает этические и нравственно-правовые аспекты программы (протокола) клинического испытания.

При обсуждении материалов клинического испытания члены этического комитета рассматривают следующие вопросы:

- ✓ соответствие представленного протокола целям и задачам исследования, возможность получения обоснованного результата при минимальной степени риска для субъектов исследования, оправданность возможного риска и неудобств для субъекта в сравнении с ожидаемой пользой для субъекта и других лиц;
- ✓ пригодность исследователя для проведения предложенного клинического испытания;
- ✓ соответствие исследовательского центра целям и задачам исследования;
- ✓ процедуру привлечения потенциальных субъектов к исследованию;
- ✓ порядок страхования пациентов и выплаты компенсации;
- ✓ содержание информации об исследовании, предоставляемой пациенту;
- ✓ процедуру получения согласия пациента на участие в исследовании.

2. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GCP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Во время проведения клинического испытания лекарственного средства комиссия осуществляет **контроль по защите прав и здоровья испытуемых, является гарантом их безопасности**, и действует в соответствии с разработанными письменными стандартными процедурами, утвержденными на своих заседаниях этического комитета. Деятельность комиссии должна отвечать требованиям ICH — GCP и законодательству РФ.

Варианты заключений комиссии по рассмотренным материалам клинических испытаний:

- ✓ Одобренное мнение
- ✓ Для благоприятного решения требуется внесение изменений
- ✓ Отрицательное решение
- ✓ Отмена любого ранее принятого решения

В процессе проведения клинических испытаний исследователь информирует Комиссию в следующих случаях:

- ✓ При внесении любых изменений и дополнений к протоколу клинических испытаний
- ✓ При внесении любых изменений и дополнений к информации, предоставляемой субъектам клинических испытаний
- ✓ При возникновении тяжелых и/ или неожиданных побочных эффектов или побочных явлений
- ✓ При появлении любых новых данных о возможном влиянии исследуемого препарата на человека

3. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GMP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

Все лекарственные средства должны производиться в соответствии с принципами и правилами производственной практики (GMP).

Впервые правила GMP разработаны в США в 1963 г, но международное значение они приобрели лишь в 1969 г.

GMP – единая система требований по организации биотехнологического производства и контроля качества лекарственных средств от начала переработки сырья до получения готового продукта, включая общие требования к помещению, оборудованию и персоналу.

Правила GMP носят официальный характер и составляют перечень руководящих нормативных документов, обязательных для всех предприятий, выпускающих как готовые лекарственные средства, так и субстанции – БАВ, предназначенные для изготовления лекарственных средств. Несоблюдение указанных правил ведет к налагаемым на предприятие санкциям, вплоть до его закрытия.

Европейской конфедерацией поставщиков изделий медицинской промышленности в 1985 г. разработан «Руководящий материал GMP по производству стерильных изделий медицинской промышленности». В основных разделах этого документа содержится сведения по терминологии, требования к зданиям, помещениям, оборудованию, производственному процессу, подготовке персонала, функциям отдела технического контроля, регистрации, отчетности и валидации

В России аналогичный документ разработан специалистами института антибиотиков, химико-фармацевтического института при участии института технологии лекарственных средств – это «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств»

3. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GMP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

СТРУКТУРА ПРАВИЛ GMP

В первом разделе – «**Терминология**» приводится определение ключевых понятий, используемых в документе.

Во втором разделе – «**Обеспечение качества**» указаны обязательные мероприятия, включающие укомплектованность персоналом и наличие сотрудников, ответственных за качество продукции; регистрацию этапов производства; определяется порядок возврата серий продукции при нарушении ее качества; выяснение причин нарушений качества и т.д.

Третий раздел касается **персонала** предприятия. В нем подчеркивается обязательность профильного образования для руководителя предприятия (но не владельца), обязательность четкого разграничения функций руководящих работников. Специально оговаривается порядок подготовки персонала, личная гигиена и поведение персонала особенно в «чистых помещениях», а также правила использования и поддержания в функциональном состоянии технологической одежды, инструкции для персонала, порядок доведения их до сведения работников и т.д.

Четвертый раздел правил GMP касается соответствия **зданий и помещений** производству. В разделе содержится свыше 40 требований.

Пятый раздел правил GMP относится к **технологическому оборудованию**, начиная с цеха ферментации, и заканчивая цехом очистки и т.д. Оборудование должно быть адекватно процессам, контрольно-измерительные приборы в соответствии с графиком должны подвергаться проверке. Ряд рекомендаций касается конструкций оборудования, его размещения и эксплуатации.

Шестой раздел правил GMP касается **производства в целом**. Большое внимание уделяется исходному сырью (документация, условия хранения, контроль и т.д.). В этот раздел входит важнейший пункт, в котором указана обязательность постадийного контроля процесса, проводимого совместно работниками цехов и отдела контроля качества. Результаты данного контроля фиксируются. Записи результатов проверки хранятся не менее года по истечении срока годности лекарственного средства, при изготовлении которого производилась проверка.

Седьмой раздел правил GMP посвящен **отделу контроля качества**. Указывается, что этот отдел обязателен для предприятия. Отдел контролирует не только готовый продукт, но также сырье и полупродукты при передаче их из цеха в цех. Именно данный отдел контролирует стабильность продукта, хранит образцы каждой серии готового продукта (не менее 3 лет).

Восьмой раздел правил GMP – «**Валидация**». Валидация позволяет получить данные о соответствии технологического процесса регламенту, о соответствии качества готового продукта НТД. Оцениваются процесс, оборудование, конечный продукт, пределы возможных отклонений при реализации процесса. Валидация завершается составлением отчета, на основании которого технологический процесс аттестуется или бракуется. Валидация проводится для каждого нового технологического процесса перед его внедрением в производство для стерильных и нестерильных лекарственных средств.

ТРЕБОВАНИЯ К ПОМЕЩЕНИЯМ

ЧИСТЫЕ ПОМЕЩЕНИЯ – помещения, в которых осуществляются производственные процессы, связанные с выпуском стерильной продукции, с нормируемыми показателями чистоты воздуха по содержанию механических частиц и микроорганизмов, с регулированием температуры, влажности и давления воздуха.

ЧИСТАЯ ЗОНА – ограниченное рабочее пространство, расположенное в чистых помещениях, имеющее более высокий класс чистоты за счет отдельного снабжения фильтрованным однонаправленным потоком воздуха.

КЛАСС ЧИСТОТЫ ПОМЕЩЕНИЯ – степень чистоты воздуха, характеризующаяся содержанием механических частиц определенного размера в 1 л воздуха и микробных частиц в 1 м³ воздуха.

Основными источниками загрязнений в производстве готовых лекарственных форм является:

- воздух – 20%
- оборудование и технологический процесс – 30 %
- сырье и вспомогательные материалы – 20 %
- персонал – 30 %

3. ТРЕБОВАНИЯ СИСТЕМЫ GMP К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

КЛАССИФИКАЦИЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Помещения 4-го класса чистоты: просмотр, маркировка, упаковка, склады, приготовление дез. растворов и их предварительная фильтрация, первая гардеробная, первая умывальная и мастерские.

Помещения 3-го класса чистоты: приготовление, фильтрация, термическая стерилизация, мойка и загрузка на стерилизацию материалов первичной упаковки, разборка и мойка стерилизующих фильтров, стирка технологической одежды, загрузка ее на стерилизацию, выгрузка и хранение одежды для 3-го класса чистоты, стерилизующая фильтрация дез. растворов для 1-го класса чистоты, вторая гардеробная и первая умывальная для персонала 3-го класса чистоты и лаборатория отбора проб полупродукта.

Помещения 2-го класса чистоты: стерилизующая фильтрация, лиофильная сушка, стерильная кристаллизация, сушка стерильных полуфабрикатов, хранение стерильных материалов первичной упаковки, розлив, загрузка на стерилизацию, обкатка укупоренных флаконов колпачками, выгрузка технологической одежды после стерилизации и хранения одежды для 1-го и 2-го классов, вторая гардеробная, вторая умывальная.

Помещения 1-го класса чистоты: асептический розлив, фасовка стерильного порошка, запайка ампул, укупорка флаконов резиновыми пробками, загрузка на сушку и выгрузка, сборка стерилизующих фильтров и съемных узлов оборудования перед стерилизацией, выгрузка первичных материалов, отбор проб стерильных продуктов, проверка контроля стерильности и механических примесей.

ВАЛИДАЦИЯ

Валидация — оценка и документальное подтверждение соответствия продукта и производственного процесса определенным требованиям.

Виды валидации :

1. Перспективная: для новых производств
2. Повторная (плановая): проводится по графику
3. Ревалидация: при частичном изменении технологии уже существующего процесса (замене сырья, оборудования и др.)
4. Ретроспективная (экспертиза документов)

Схема валидации включает:

- ✓ оценку работы оборудования и измерительных приборов;
- ✓ технологический процесс;
- ✓ качество готовой продукции;
- ✓ определение допустимых пределов протекания технологического процесса в худших условиях;
- ✓ составление отчета или протокола;
- ✓ заключение.

4. СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНЫХ УСЛОВИЙ ТРУДА И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Основу системы профессиональной ТБ составляет совокупность мероприятий и материальных средств, предотвращающих контакт персонала и окружающей среды с профессиональными вредностями при работах с микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности или снижение до приемлемого уровня вероятности такого контакта.

Источники профессиональных вредностей: дезинфекция; индивидуальные средства защиты; очистка и стерилизация воздуха; зонирование помещений; боксирование операций и процессов; обработка отходов, герметизация оборудования, шлюзование.

В основе системы ТБ лежат две линии защиты

На первой линии для обеспечения безопасности имеются инженерные устройства или комплексные инженерные системы обеспечения ТБ, работающие на принципах изоляции источников профессиональных вредностей в строго определенных и контролируемых физических границах, обработки «загрязненных» материальных потоков. Методы, используемые на первой линии: механическая изоляция, механическое удаление, фильтрация, термическая обработка или другими средствами инактивации микроорганизмов. Сам человек является объектом воздействия только в случае целевой санитарной обработки при помощи моечных установок. В этой связи в строительных инженерных решениях необходимо применение весьма жестких и надежных режимов обработки.

Защитные мероприятия **второй линии** разработаны исходя из предположения, что контакт профессиональных вредностей с работающими произошел, поэтому они преследуют цель **предотвратить нежелательные последствия появления этого контакта, и направлены непосредственно на организм человека.** К ним относят медицинскую профилактику (вакцинация, экстренная профилактика) и лечение.

На каждом биотехнологическом предприятии существуют специальные службы для обеспечения специальной ТБ и контроля соблюдения персоналом соответствующих требований.

4. СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНЫХ УСЛОВИЙ ТРУДА И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНЫХ УСЛОВИЙ ТРУДА И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Боксирование операций и процессов необходимо для создания и практической реализации технических возможностей проведения операций и процессов, при которых образуются профессиональные вредности биологической природы, в ограниченных объемах специальных устройств, отделяющих с помощью физических барьеров предмет труда или непосредственную рабочую зону, где он находится, от рабочего персонала.

Материально боксирование обеспечивается защитными боксами.

Защитные микробиологические боксы – жесткие конструкции из нержавеющей стали, алюминиевых сплавов, стекла и пластика. Выбор их конструкции определяется степенью опасности для человека микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.

Различают **защитные боксы с частичным удержанием микроорганизмов (боксы 1 и 2 классов)** и **герметичные боксы (боксы 3 класса)**.

В **боксе 1 класса** скорость движения воздуха составляет 0,5 м/с, а конструкция обеспечивает удаление 70 % воздуха.

Боксы 2 класса рекомендуются для работ с микроорганизмами низкой категории риска.

Боксы 3 класса являются газонепроницаемыми конструкциями, работающими при пониженном давлении (на 0,1–0,24 кПа ниже окружающего). Такое разрежение обеспечивает полное удержание в боксе микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.

4. СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНЫХ УСЛОВИЙ ТРУДА И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Зонирование необходимо для группировки всех помещений с одинаковыми уровнями присутствующих или потенциально возможных профессиональных вредностей в самостоятельные зоны, разделение которых между собой и отделение их от внешней среды барьерами.

В зависимости от условий работы с микроорганизмами разных групп патогенности все помещения по санитарному назначению условно подразделяются на 3 санитарные зоны.

К **помещениям I зоны** относятся помещения, в которых работы с инфекционными агентами не проводятся. В них разрешено хранение возбудителей всех групп риска в герметичной упаковке.

К **помещениям II зоны** относятся помещения, в которых работы проводят с инфекционными агентами всех групп риска в условиях изоляции агентов, препятствующих их выходу в помещения.

К **помещениям III зоны** (высшая категория изоляции от окружающей среды) относятся помещения, в которых работы проводят открыто с инфекционными агентами.

Все помещения II и III зон отделены между собой и от других помещений I зоны санитарными пропускниками, через которые осуществляется вход и выход персонала.

Оборудование, реактивы и т.п. передаются между зонами через спецустройства, исключаящие прямой контакт зон (передаточные шлюзы, камеры и т.п.).

Стоки из II и III зон собираются в специальную емкость для обеззараживания и только после этого их сбрасывают в общую канализацию.

Для работы персонала в помещениях III зоны в качестве индивидуальных средств защиты применяют костюмы типа Л-1, противогаз, изолирующий пневмокостюм типа ЛГ-УС с автономным снабжением воздухом.

Для исключения перетока зараженного воздуха из III зоны в I, создается направленный поток воздуха – из I зоны во II, а из II зоны в III, затем воздух подлежит очистке фильтрацией с последующим выбросом в I зону. Ограждающие строительные конструкции строятся так, чтобы не было прямого выхода из зон II и III во внешнюю среду за счет ограждения III зоны помещениями II зоны, II зоны – помещениями I зоны и только I зона контактирует с внешней средой.

5. **НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ, РЕГЛАМЕНТИРУЮЩИЕ КАЧЕСТВО ПРОДУКЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ**

Технические условия на продукт регламентируют качественные и количественные характеристики самого биопродукта.

Технологический регламент производства определяет способ получения продукта и все относящиеся к нему материалы .

Технические условия на продукт – совокупность требований к характеристикам и качеству готового продукта, позволяющие его стандартизовать, сертифицировать или браковать.

Технические условия включают:

данные о назначении продукта;

форму выпуска (порошок, гранулы, таблетки, ампулы и т.п.);

сведения о сортности продукта с учетом его качества;

описание характеристик продукта:

- органолептические свойства: цвет, запах, вкус, консистенция и т.п.;

- содержание основных компонентов (не менее);

- содержание примесей, в том числе вредных (не более);

- обсемененность (общая и санитарно-показательная микрофлора);

- токсичность, канцерогенность, кумулятивность, а для живых культур – патогенность;

- физические характеристики;

✓ требования к сырью (в некоторых случаях);

✓ требования безопасности, в том числе пожаро- и взрывоопасность;

✓ сведения о разрешениях санитарно-эпидемиологической и экологической служб, для лекарств – фармакопейные статьи, для пищевых продуктов – разрешение контрольных служб продуктов питания.

✓ методы контроля вещества в разных средах;

✓ способы транспортировки, упаковки и сроки хранения.

Технические условия могут быть постоянными и временными. Временные технические условия выпускают на опытную партию продукта, объем которой оговаривается. Обычно оговариваются и сроки действия утвержденных технических условий.

Технологический регламент – комплексный документ, включающий в себя все «ноу-хау» технологии, и являющийся, поэтому строго охраняемым объектом. Его не разрешают выносить из учреждения и копировать.

СТРУКТУРА РЕГЛАМЕНТА

- 1.** Характеристика конечной продукции производства
- 2.** Химическая схема производства
- 3.** Технологическая схема производства
- 4.** Аппаратурная схема производства со спецификацией оборудования
- 5.** Характеристика сырья, материалов, полупродуктов
- 6.** Изложение технологического процесса
- 7.** Материальный баланс
- 8.** Переработка и обезвреживание отходов производства
- 9.** Контроль производства
- 10.** Техника безопасности, пожарная безопасность и производственная санитария
- 11.** Охрана окружающей среды
- 12.** Перечень производственных инструкций
- 13.** Техничко-экономические нормативы
- 14.** Информационные материалы

6. СТРУКТУРА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА



7.1. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

✓ **ПО СОСТАВУ:** 1) простые (обычные, универсальные) и сложные (специальные, политропные) среды; 2) минимальные и богатые среды.

ПО ПРОИСХОЖДЕНИЮ: натуральные (естественные), искусственные (синтетические) и полусинтетические среды.

✓ **ПО КОНСИСТЕНЦИИ:** жидкие, сыпучие и плотные (твердые) среды.

✓ **ПО НАЗНАЧЕНИЮ:** дифференциально-диагностические, селективные, ингибиторные, элективные, консервирующие, накопительные (среды обогащения, насыщения) среды.

КОМПОНЕНТЫ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

✓ **ВОДА ОЧИЩЕННАЯ (или ВОДА ОБЕССОЛЕННАЯ).**

✓ **УГЛЕРОДНОЕ ПИТАНИЕ:** глюкоза, сахароза, лактоза, крахмал, кукурузная мука, меласса, зеленая патока и др.

✓ **АЗОТНОЕ ПИТАНИЕ:** соли аммония и азотной кислоты, аминокислоты, белки, кукурузный экстракт, соевая мука и др.

✓ **ФОСФОРНОЕ ПИТАНИЕ:** неорганические одно- и двузамещенные фосфаты калия или натрия, нуклеиновые кислоты, кукурузный экстракт, соевая мука, ортофосфорная кислота и др.

✓ **МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ**

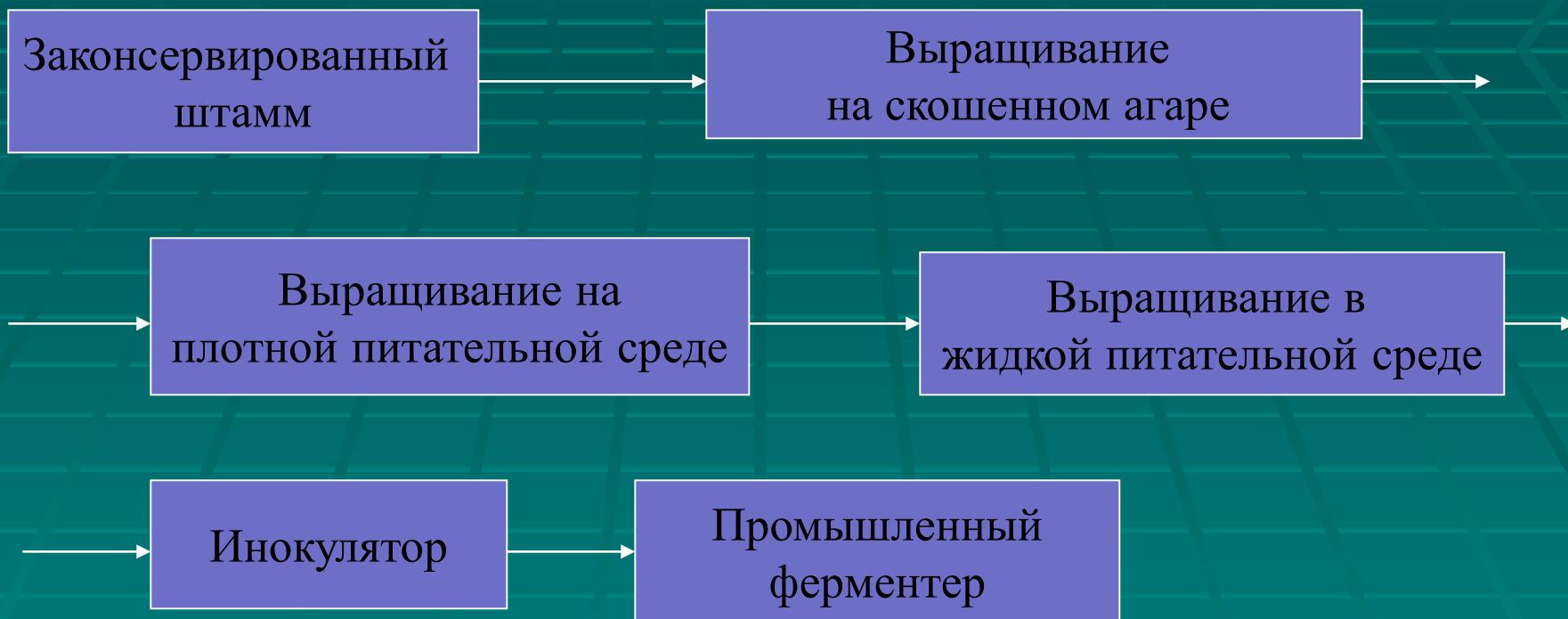
✓ **ФАКТОРЫ РОСТА:** аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины и др.

✓ **ТИТРАНТЫ ДЛЯ КОРРЕКТИРОВАНИЯ ЗНАЧЕНИЯ pH:** мел, кислоты, щелочи

ТРЕБОВАНИЯ К ПРОИЗВОДСТВЕННЫМ ПРОДУЦЕНТАМ БАВ

- ✓ способность расти на экономичных и доступных субстратах;
- ✓ высокая скорость накопления биомассы и высокая производительность по целевому продукту при одновременном экономичном потреблении питательного субстрата;
- ✓ направленная биосинтетическая активность при минимальном образовании побочных продуктов;
- ✓ генетическая однородность и стабильность в отношении продуктивности, требований к питательному субстрату и условиям культивирования;
- ✓ устойчивость к фагам и другой посторонней микрофлоре;
- ✓ безвредность для людей и окружающей среды;
- ✓ желательно, чтобы продуценты были термофильными, ацидофильными или алкалофильными, т.к. в этом случае легче предохранить субстрат от инвазии посторонней микрофлорой;
- ✓ целевой продукт биосинтеза должен иметь экономическую и народнохозяйственную ценность и должен легко выделяться из субстрата.

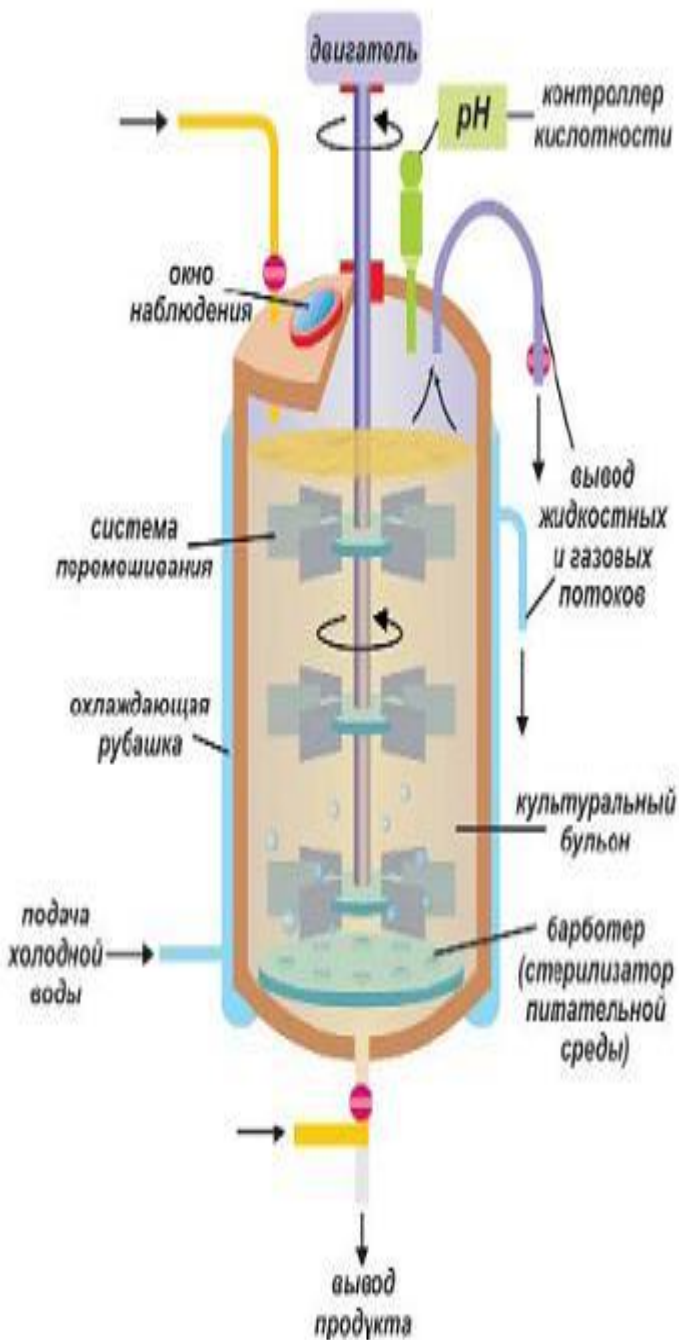
СХЕМА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА



КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ФЕРМЕНТАЦИИ

- ✓ **ПО ПРИЗНАКУ ЦЕЛЕВОГО ПРОДУКТА ПРОЦЕССА:** культивирование, выращивание (биомасса); биосинтез (вне- и внутриклеточные метаболиты); биоокисление, метановое брожение, биокомпостирование, биodeградация (утилизация определенных компонентов среды).
- ✓ **ПО ОСНОВНОЙ ФАЗЕ ПРОЦЕССА:** поверхностная (твердофазная), глубинная (жидкофазная) и газофазная ферментация.
- ✓ **ПО ОТНОШЕНИЮ К КИСЛОРОДУ:** аэробная, анаэробная и факультативно-анаэробная ферментация.
- ✓ **ПО ОТНОШЕНИЮ К СВЕТУ:** световая (фототрофная) и темновая (хемотрофная) ферментация.
- ✓ **ПО СТЕПЕНИ ЗАЩИЩЕННОСТИ ОТ ПОСТОРОННЕЙ МИКРОФЛОРЫ:** асептическая, условно асептическая и неасептическая ферментация.
- ✓ **ПО ЧИСЛУ ВИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ:** ферментация на основе монокультуры и смешанное культивирование.
- ✓ **ПО СПОСОБУ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОЦЕССА:** периодическая, непрерывная, многоциклическая, отъемно-доливная, периодическая с подпиткой субстрата, полунепрерывная с подпиткой субстрата ферментация.

7.3. БИОРЕАКТОРЫ



КЛАССИФИКАЦИЯ БИОРЕАКТОРОВ

1. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ БИООБЪЕКТА: бактерии и грибы, клетки и ткани растений, клетки и ткани животных.

2. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЗНАЧЕНИЯ: инокуляторы, ферментеры, фитатрей, биореакторы для культивирования животных клеток.

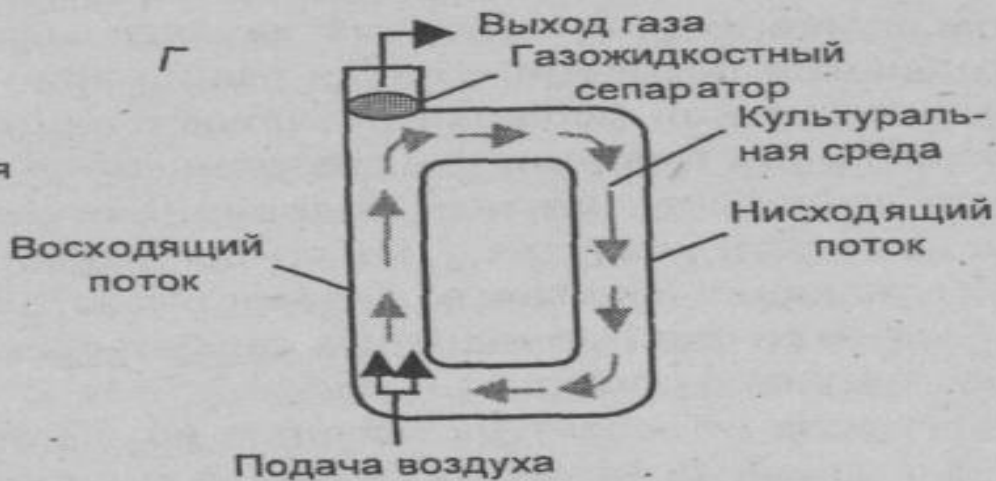
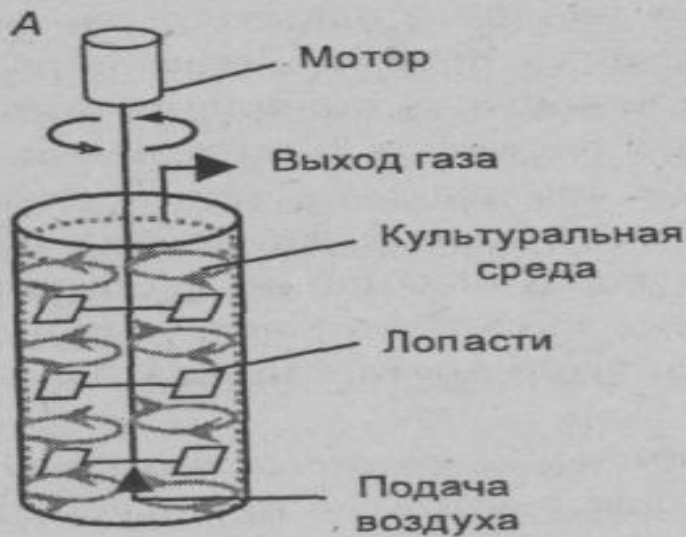
3. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНСТРУКТИВНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ: по способу потребления энергии для диспергирования и перемешивания стерильного воздуха; по способу смешения газожидкостных фаз; по способу ввода энергии для перемешивания.

4. ПО СПОСОБУ ПЕРЕМЕШИВАНИЯ: реакторы с механическим перемешиванием; барботажные колонны; эрлифтные реакторы с внутренней или внешней рециркуляцией.

ТРЕБОВАНИЯ К БИОРЕАКТОРАМ

- ✓ гомогенность культуральной среды;
- ✓ оптимальные массо- и теплообменные характеристики по потреблению питательных веществ и отведению продуктов метаболизма;
- ✓ обеспечение стерильности посева, отбора проб и процесса ферментации;
- ✓ простота наладки и обслуживания;
- ✓ стандартность блоков оборудования для ферментации;
- ✓ возможность масштабирования процесса;
- ✓ возможность автоматического контроля и регулирования основных параметров ферментации.

СИСТЕМА ПЕРЕМЕШИВАНИЯ БИОРЕАКТОРА



А – реактор с механическим перемешиванием

Б – барботажная колонна

В – эрлифтный реактор с внутренней циркуляцией

Г – эрлифтный реактор с внешней циркуляцией

7.4. ПОСТФЕРМЕНТАЦИОННАЯ СТАДИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

КУЛЬТУРАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ – сложная многокомпонентная система, в водной фазе которой содержатся клетки продуцента, продукты их жизнедеятельности, непотребленные компоненты питательной среды и пр.

При выборе метода выделения и очистки биомассы продуцента или продукта его биосинтеза необходимо учитывать следующие факторы:

- ✓ Свойства культуральной жидкости (вязкость, значение рН, температура и др.).
- ✓ Свойства продукта (термолабильность, стойкость к различным химическим агентам и др.)
- ✓ Требования, предъявляемые к конечной форме продукта (общая и биологическая концентрация, лекарственная форма, степень чистоты и степень концентрирования).
- ✓ Технологические и технико-экономические показатели (выход продукта, производительность оборудования, необходимость дальнейшей обработки продукта и т.д.).

Методы выделения и очистки биомассы продуцента и продукта его биосинтеза классифицируют в зависимости от места локализации целевого продукта (в растворе или в виде твердой фазы):

I. Для целевого продукта в виде твердой фазы используют:

- ✓ Осаждение (седиментацию)
- ✓ Флотацию
- ✓ Фильтрование (микрофильтрацию, ультрафильтрацию)
- ✓ Центрифугирование
- ✓ Сепарирование

II. Для целевого продукта в растворенном виде используют:

- ✓ Экстракцию
- ✓ Адсорбцию
- ✓ Кристаллизацию
- ✓ Диализ (обратный осмос)
- ✓ Упаривание

**ЭЛЕМЕНТЫ ПОСТФЕРМЕНТАЦИОННОЙ СТАДИИ ПРИ
ВЫДЕЛЕНИИ И ОЧИСТКЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА**

1. Отделение биомассы от культуральной жидкости (флотация, фильтрование, центрифугирование).
2. Дезинтеграция клеток (физические, химические и комбинированные методы).
3. Отделение клеточной стенки от гомогената (центрифугирование, фильтрование).
4. Выделение и очистка целевого продукта (осаждение, экстракция, адсорбция).
5. Концентрирование целевого продукта (обратный осмос, ультрафильтрация, выпаривание).
6. Обезвоживание (сушка) целевого продукта.
7. Хранение целевого продукта.
8. Стабилизация целевого продукта.

8. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

1. СКОРОСТЬ РОСТА организмов с бинарным делением в хорошо перемешиваемой периодической культуре пропорциональна концентрации микробной биомассы:

$$dX/dt = \mu * X,$$

где dX/dt – скорость роста;

X – концентрация биомассы;

μ – коэффициент пропорциональности (удельная скорость роста).

2. ПРОДУКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССА характеризуется количеством продукта, получаемого на единицу объема биореактора в единицу времени:

$$P = q_s * Y_{p/s} * X,$$

где P – продуктивность процесса, г/л ч;

q_s – скорость потребления субстрата (метаболический коэффициент);

$Y_{p/s}$ – выход продукта (экономический коэффициент);

X – концентрация биомассы;

P – продуктивность процесса;

S – количество субстрата.

3. ВЫХОД ПРОДУКТА (ЭКОНОМИЧЕСКИЙ КОЭФФИЦИЕНТ) определяется как количество продукта, получаемого из данного количества субстрата:

$$Y = X / (S_0 - S),$$

где S – конечная концентрация субстрата;

S_0 – исходная концентрация субстрата.

8. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

4. КОНЕЧНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОДУКТА должна планироваться с учетом продолжительности процесса и величины выхода продукта. Достижение высокой конечной концентрации целевого продукта оправдано в том случае, когда выделение и концентрирование его трудоемки и дорогостоящи.

5. УДЕЛЬНЫЕ ЭНЕРГОЗАТРАТЫ существенно варьируют в зависимости от направленности и схемы процесса ферментации, условий подготовки сырья на предферментационной стадии и постферментационных процедур.

6. НЕПРОДУКТИВНЫЕ ЗАТРАТЫ СУБСТРАТА (h) – затраты энергии субстрата, которые не проявляются в приросте продукта, в общем виде выражаются через экономический коэффициент:

$$h = Y_{\text{экспериментальный}} / Y_{\text{теоретический}} < 1$$

Непродуктивные затраты влияют на эффективность и экономику биотехнологического процесса, поэтому выявление причин и мест этих дополнительных трат энергического субстрата очень важно. Непродуктивные затраты субстрата могут быть связаны с ошибками при считывании генетической информации в ходе быстрого роста продуцента и затратами на поддержание при разобщенном росте в результате снижения эффективности образования энергии в цепи переноса электронов из-за разобщения окисления и фосфорилирования, инактивации мест сопряжения, возникновения альтернативных, менее эффективных ветвей, с диссипацией энергии, и из-за возрастания трат энергии на поддержание жизни без размножения.

ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ КОНТРОЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

ФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ	ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
Температура (t, °C)	Концентрация водородных ионов (pH)
Давление (P, атм.)	Окислительно-восстановительный потенциал (eH, мВ)
Вакуум (В, мм рт. ст.)	Концентрация кислорода в газе (O, %)
Мощность (N, кВт)	Концентрация углекислого газа в газе (CO ₂ , %)
Скорость вращения мешалки (n, об/мин)	Парциальное давление кислорода в жидкости (pO ₂ , мм рт. ст.)
Скорость расхода (потока) газа (G _г , л/мин)	Парциальное давление углекислого газа в жидкости (pCO ₂ , мм рт. ст.)
Скорость расхода (потока) жидкости (G _ж , л/мин)	Концентрация углеводов (глюкозы) (Гл, мл/ л)
Скорость расхода твердого вещества (G _ф , кг/мин)	Содержание общего азота (N ₂ , мг/ %)
Вязкость жидкости (μ, пуаз)	Содержание амминного азота (AN ₂ , мг/ %)
Плотность жидкости (с, кг/ м ³)	Содержание аминокислот (АА, мг/ %)
Объем биореактора (V, м ³)	Концентрация микроорганизмов (С, млрд./ мл)
Высота жидкости в аппарате (H ₀ , м)	Интенсивность пенообразования (Пе)
Оптическая плотность жидкости (Лопт, кл)	
Относительная влажность (φ, %)	