

Е. С. Новик, О. В. Гунар

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВА НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ ИНСУЛИНА ПО ПОКАЗАТЕЛЮ “СТЕРИЛЬНОСТЬ”

Институт контроля лекарственных средств ФГУ Научный Центр экспертизы средств медицинского применения (ИКЛС ФГУ НЦЭСМП), Москва

В работе проведено усовершенствование пробоподготовки суспензий инсулиновых препаратов перед посевом на питательные среды при анализе их стерильности. Для растворения указанных препаратов предложен 0,2 % раствор аскорбиновой кислоты, что позволяет избежать образования осадка и опалесценцию в питательных средах как после прямого посева, так и после мембранной фильтрации. Это значительно облегчает и делает более объективным учет и интерпретацию результатов контроля. Исследования показали, что растворы инсулинов в 0,2 % растворе аскорбиновой кислоты не обладают антимикробным действием, поэтому наряду с методом мембранной фильтрации может быть использован метод прямого посева, как более экономичный.

Важнейшим показателем безопасности инъекционных лекарственных средств является стерильность.

Из стерильных лекарственных средств в отдельную группу выделяются препараты инсулинов. В настоящее время в лаборатории микробиологии ИСКЛС ФГУ НЦЭСМП контролируется качество значительного количества препаратов инсулина отечественного и импортного производства. Например, за 2004 год подтверждена стерильность 27 наименований 49 серий растворов инсулина и 30 наименований 56 серий суспензий.

Оценивая методики испытания на стерильность, представленные в различных документах (НД, ФСП), суммируем, что рекомендуемым методом контроля стерильности инсулиновых препаратов является мембранная фильтрация.

При анализе качества определенные трудности вызывали инсулиновые препараты в виде суспензий, так как сорбирующиеся на мембранных фильтрах белки образуют осадки. Это затрудняет учет и интерпретацию результатов и может привести к ложно-положительному тесту на стерильность.

Целью настоящего исследования было усовершенствование пробоподготовки инсулиновых препаратов в виде суспензий для получения после посева и инкубации однозначных результатов, при отсутствии осадков инсулинов в питательных средах. Для этого была изучена возможность растворения некоторых инсулиновых препаратов в растворителе с рН 3,7 (в частности, в растворе аскорбиновой кислоты), что позволило перевести суспензию в истинный раствор.

Материалы и методы

В работе были использованы:

1. Препараты инсулинов в виде суспензий (Инсуман Комб 100 ЕД, Инсуран НПХ 100 ЕД, Бринсулмиди МК 40 ЕД, Бринсулмиди ЧСП 40 ЕД, Диафан ЧСП 100 ЕД, Инсулин Лонг СМК 40 ЕД).

2. Субстанция аскорбиновой кислоты (производства ООО “Озон”, г. Жигулевск).

3. Аскорбиновая кислота раствор 5 % ампулы по 1 мл производства “Биостимулятор”, г. Одесса.

4. Питательные среды: тиогликолевая среда серии 53 производства ОАО “Биомед” (п. Петрово-Дальнее Московской обл.), жидкая среда Сабуро лабораторного приготовления.

5. Тест-штаммы микроорганизмов: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-C, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Candida albicans* ATCC 885–653.

Перечисленные выше препараты инсулинов смешивали с 1, 0,5 и 0,2 % стерильными растворами аскорбиновой кислоты, приготовленными из порошкообразной субстанции. Определяли соотношение инсулина и аскорбиновой кислоты, при котором раствор становится прозрачным. Также суспензии инсулинов смешивали со стерильными растворами аскорбиновой кислоты, приготовленными из готовой лекарственной формы (ампулы по 1 мл 5 % раствора аскорбиновой кислоты, производства “Биостимулятор”, г. Одесса).

Определяли антимикробное действие суспензий инсулина (Инсуман Комб 25 ГТ, Инсуран НПХ, Бринсулмиди ЧСП), растворов аскорбиновой кислоты различных концентраций, а также растворов инсулинов в аскорбиновой кислоте на стадии подготовки к анализу по показателю “Стерильность”.

В 2 пробирки с тиогликолевой средой и 2 пробирки со средой Сабуро (содержащие по 10 мл среды) добавляли по 1 мл суспензии каждого вида инсулина и тех же препаратов, смешанных с аскорбиновой кислотой в соотношении 1:2. Затем в каждую пробирку вносили по 0,1 мл соответствующей микробной взвеси, содержащей 1000 клеток в 1 мл. Посевы с тиогликолевой средой инкубировали при температуре 30 – 35 °С в течение 48 ч, в среде Сабуро — при температуре 20 – 25 °С в течение 72 ч. Контролем служили соответствующие посевы тест-штаммов бактерий и грибов на тиогликолевой среде и среде Сабуро, соответственно.

Антимикробное действие различных концентраций аскорбиновой кислоты, некоторых суспензий инсулинов и их растворов в аскорбиновой кислоте

Образец	Тиогликолевая среда			Среда Сабуро
	Тест-микроорганизмы			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>
1. Раствор аскорбиновой кислоты 1 %	–	±	–	+
2. Раствор аскорбиновой кислоты 0,5 %	+	±	+	+
3. Раствор аскорбиновой кислоты 0,2 %	+	+	+	+
4. Инсуман Комб 25 ГТ	+	+	+	+
5. Инсуран НПХ	+	+	+	+
6. Бринсулмиди ЧСП	+	+	+	+
7. Инсуман Комб + аскорбиновая кислота 0,2 %	+	+	+	+
8. Инсуран НПХ + аскорбиновая кислота 0,2 %	+	+	+	+
9. Бринсулмиди ЧСП + аскорбиновая кислота 0,2 %	+	+	+	+
Контроль роста тест-микроорганизмов	+	+	+	+

Примечание: + — наличие роста тест-микроорганизмов; – — отсутствие роста тест-микроорганизмов; ± — угнетенный или замедленный рост тест-микроорганизмов.

Результаты и их обсуждение

При смешивании различных видов инсулинов, представляющих собой суспензии, с 1 % раствором аскорбиновой кислоты выяснилось, что все они растворяются в соотношении 1:1 – 1:2 (по объему). Однако ни один из контролируемых препаратов не растворялся в готовой лекарственной форме аскорбиновой кислоты. Это объясняется тем, что лекарственное средство (аскорбиновая кислота, раствор 5 %, ампулы) содержит сульфит натрия и карбонат натрия и имеет рН = 6,0 – 7,0. Поэтому для растворения инсулинов

можно использовать только субстанцию аскорбиновой кислоты.

В процессе изучения антимикробного действия аскорбиновой кислоты выяснилось, что 1 % раствор аскорбиновой кислоты в условиях испытания лекарственных средств по показателю “Стерильность” обладает бактериостатическим действием в отношении *E. coli* и *B. Cereus*. Для установления концентрации аскорбиновой кислоты, при которой снимается ее антимикробное действие, исследовали растворы с концентрациями 0,5 и 0,2 %. Полученные результаты представлены в таблице.

Как видно из таблицы, 0,2 % раствор аскорбиновой кислоты не обладает антимикробным действием, поэтому дальнейшие опыты проводились с раствором именно такой концентрации.

Исследование показало, что все изученные суспензии инсулинов растворяются в 0,2 % растворе аскорбиновой кислоты в соотношении 1:2 (по объему).

При определении антимикробного действия некоторых видов инсулинов без добавления и с добавлением 0,2 % раствора аскорбиновой кислоты (в соотношении 1:2) выяснилось, что ни сами инсулины, ни их растворы в 0,2 % растворе аскорбиновой кислоты не обладают антимикробным действием в условиях опыта. Исходя из этого, целесообразно при проведении контроля на стерильность инсулинов в виде суспензий проводить пробоподготовку, растворяя их в 0,2 % растворе аскорбиновой кислоты.

Результаты исследований показали, что растворы инсулинов в 0,2 % растворе аскорбиновой кислоты не обладают антимикробным действием, поэтому наряду с методом мембранной фильтрации при контроле качества суспензий инсулинов по показателю “Стерильность” может быть использован метод прямого посева.

Пробоподготовка — растворение суспензий инсулинов в среде с рН 3,7 (0,2 % раствор аскорбиновой кислоты) позволяет избежать образования осадка и опалесценцию в питательных средах при анализе на стерильность. Это значительно облегчает и делает более объективным учет и интерпретацию результатов контроля стерильности суспензий инсулинов методом мембранной фильтрации. Кроме того, открываются перспективы использования метода прямого посева, который в некоторых случаях более экономичен.

Поступила 07.06.05

STERILITY TESTING OF INSULIN PREPARATIONS

E. S. Novik and O. V. Gunar

Institute for State Control of Drugs, State Scientific Center for Drug Expertise and Control, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The appearance of precipitates and opalescent components hinders testing for the sterility of insulin suspensions prior to seeding in cultural media. The sampling procedure is improved by dissolving preparations in 0.2% ascorbic acid solution, which eliminates opalescence and precipitation and facilitates the reading and interpretation of results as the test solutions become transparent. This method is suitable with both direct inoculation and membrane filtration. The insulin solution in 2% ascorbic acid does not exhibit antimicrobial activity, which makes expedient the testing with more economic direct inoculation.