

# ОТРИМАННЯ БОТУЛОТОКСИНІВ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОМЕДИЧНИХ ПРОДУКТІВ. ОСНОВНІ НЕБЕЗПЕКИ ТА СПОСОБИ ЇХ УСУНЕННЯ

*Бачинська Я. В., студ. (гр БФ-01, ФБМІ КПІ ім. Ігоря Сікорського);  
Демчук Г. В., к.т.н., доц. (каф. ОППЦБ КПІ ім. Ігоря Сікорського)*

**Анотація.** Розглянуто питання, пов'язане з безпекою отримання ботулотоксинів для виробництва біомедичних продуктів, наведено заходи для забезпечення безпеки працівників.

**Ключові слова:** ботулотоксини, виробництво, біомедичні продукти, небезпека, усунення, використання, безпечність.

**Abstract.** The issues related to the safety of obtaining botulinum toxins for the production of biomedical products are discussed, and measures for their safe and non-harmful use in biomedical products are provided.

**Keywords:** botulinum toxins, production, biomedical products, hazard, mitigation, utilization, safety.

**Вступ.** Ботулінічний нейротоксин (BoNT) – один з найбільш смертоносних біологічних токсинів, який викликає захворювання, відоме як ботулізм. Токсин виробляється грампозитивною облигатною анаеробною бактерією *Clostridium botulinum*, анаеробною грампозитивною спороутворювальною паличкою, яка зазвичай зустрічається на рослинах, у ґрунті, воді та кишковому тракті тварин.

Ботулінічні токсини діють на чотири різні ділянки тіла: нервово-м'язове з'єднання, вегетативні ганглії, закінчення постгангліонарних парасимпатичних нервів і закінчення постгангліонарних симпатичних нервів, які вивільняють ацетилхолін, який є основним нейромедіатором у нервово-м'язовому з'єднанні [1].

**Токсичність.** Ботулінічні нейротоксини є найбільш отруйною речовиною, відомою людству. Смертельна доза для людини при пероральному введенні оцінюється від 30 до 69 нг, при інгаляційному від 0,80 до 0,90 мкг і при внутрішньовенному введенні від 0,09 до 0,15 мкг. Припускаючи, що середня вага кожного з 5,6 мільярдів людей становить 70 кг, лише 39,2 г чистого BoNT буде достатньо для знищення людства. Завдяки своїй абсолютній нейроспецифічності ці нейротоксини не реагують з будь-якими субстратами в пресинаптичних моторних нейронах.

Симптоми ботулізму розвиваються більше ніж через 12 годин і включають опущення повік (птоз), двоїння в очах (диплопія) і розширення зіниць (міадриаз), а також ускладнене ковтання (дисфагія), сухість у роті та утруднене дихання (задишка). Ці симптоми можуть супроводжуватися м'язовою слабкістю. Вплив на м'язові клітини дихальної системи може означати, що потерпілий не може набрати повітря в легені та, зрештою, задихається, якщо не буде забезпечена респіраторна підтримка [2].

**Класифікація.** Сім основних типів ботулотоксину називаються типами від А до G (А, В, С1, С2, D, Е, F і G.). Ботулізм у людини можуть викликати серотипи А, В, Е, F, G, але найбільш сильнодіючим є тип А. Усі вісім екзотоксинів перешкоджають нервовій передачі, блокуючи вивільнення ацетилхоліну, основного нейромедіатора в нервово-м'язовому з'єднанні, викликаючи параліч м'язів [3].

**Використання в медицині.** Ботулотоксини чинять нейропаралітичну дію, що визначає їхню корисність в багатьох медичних застосуваннях. Ця дія полягає в блокуванні передачі нервових сигналів до м'язів, що в результаті призводить до їх паралізу та релаксації. Також вони застосовуються в лікуванні м'язових розладів. Спастичність м'язів, бруксизм і інші порушення м'язової функції можуть бути успішно контрольовані за допомогою ін'єкцій ботулотоксину.

Зараз ботулотоксини також широко використовуються в косметичних процедурах. Вони допомагають вирівняти зморшки та мімічні зморшки на обличчі, надаючи молодший та свіжий вигляд. Цей вид застосування став особливо популярним у сфері естетичної медицини і дозволив багатьом людям відчувати себе більш впевненими в собі.

Крім того, ботулотоксини мають потенціал для застосування в лікуванні ряду інших захворювань, таких як мігрень та надмірне потовиділення. Нові дослідження також розглядають можливість використання ботулотоксинів для лікування судом та інших неврологічних захворювань.

**Аналіз стану питання.** Організм різко негативно реагує на ботулінічні токсини. Тому щоб уникнути небезпечних ситуацій варто розглянути види перешкод та сформувані правила, яких необхідно дотримуватись при отриманні та використанні ботулотоксинів для виробництва біомедичних продуктів.

**Мета роботи:** проаналізувати можливі перешкоди та визначити основні правила при виробництві BoNT.

**Методики, матеріали і результати досліджень.** Санітарний стан виробництва регулюється вимогами стандартів GMP, ДСанПіН та інших нормативно-правових актів, які діють у фармацевтичній та біотехнологічній галузях та були схвалені Міністерством охорони здоров'я України. Саме відповідність цим нормам гарантує створення безпечного та високоякісного середовища для виробництва продукції [4].

Оскільки описана робота включає роботу із мікроорганізмами I-II груп патогенності на біотехнологічному виробництві, санітарні норми виробництва повинні бути суворо дотримані і відповідати всім вимогам для забезпечення безпеки працівників.

Першим важливим заходом для забезпечення безпеки працівників є навчання, періодична перевірка знань персоналу та підготовка спеціального одягу.

Працівники повинні проходити обов'язкове навчання з питань безпеки та охорони здоров'я, перепідготовки та підвищення кваліфікації. Навчання має охоплювати основні аспекти безпеки, правила виконання роботи та взаємодію з обладнанням та матеріалами.

Після завершення навчання працівники повинні періодично проходити перевірку своїх знань та навичок в області безпеки. Це може бути здійснювано через тестування, практичні вправи або інші методи оцінки.

Спеціальний одяг повинен відповідати вимогам щодо захисту від забруднень та контролю над мікробіологічною чистотою. Це включає в себе спеціальні костюми, медичні шапочки, ватно-марлева маска 125x50 см з шаром вати 25x17x15, вагою 20г або протипиловий респіратор чи фільтруючий протигаз, щільно прилягаючи окуляри чи целофанова плівка одноразового користування розміром 17x39 см з врахуванням 6 см з кожної сторони для прив'язування поворозок довжиною по 30 см; гумові рукавички; гумові чоботи [5].

З метою захисту персоналу від патогенних мікроорганізмів використовують захисний одяг – костюми, виготовлені із ламінованого нетканого матеріалу щільністю 92 грами на квадратний метр; шви проклеєно хімічно стійкою коекструзійною плівкою.

Одяг, який використовується на виробництві із мікроорганізмами I-II груп патогенності повинен підлягати регулярній чищенні та дезінфекції, щоб забезпечити високий рівень гігієни: на 1 кг одягу – 10 л розчину, сушіння, прасування, стерилізація та пакування. Для підготовки одягу відведено окреме приміщення

Другим важливим заходом є підготовка робочих приміщень. Приміщення повинні бути ізольовані та відповідати вимогам СНіП. Освітлення та підлога повинні відповідати характеру робіт та легко митися. Труби опалення мають бути віддалені від стін для зручної дезінфекції. Вікна та двері повинні бути герметично ущільнені, а вентиляційні отвори захищені від комарів [6].

Приміщення мікробіологічної лабораторії діляться на три зони:

1) «Заразна зона» – приміщення в яких проводять роботу з біологічним матеріалом I груп небезпеки.

2) «Умовно-заразна» зона – приміщення лабораторії, в межах яких здійснюють тільки переміщення інфікованого матеріалу. Роботу в ній проводить виключно із знезараженим біологічним матеріалом. Працівники проходять з «чистої» зони в «умовно-заразну» через санітарний пропускник.

3) «Чиста зона» – приміщення, де не проводять роботу з біологічним матеріалом персонал одягнений в особистий одяг [5].

У даному випадку "Заразна» зона" оснащена безпечним робочим столом BSC класу II та системою переміщення/перевантаження, яка забезпечує асептичне перенесення матеріалу в BSC і з BSC.

«Бокс біологічної безпеки» представляє собою закрите, вентилязоване лабораторне робоче приміщення для захисту працівників лабораторії та навколишнього середовища від ризиків потрапляння небезпечних речовин, наприклад, бактерій, вірусів або будь-яких інших токсичних або патогенних речовин, а також для забезпечення стерильності матеріалів у робочому просторі.

Крім того, BSC забезпечує захист експерименту від навколишнього середовища і захист навколишнього середовища від експерименту.

Усередині виробничого приміщення підтримується контрольована температура від 19 до 26°C, і контрольована відносна вологість 55%.

Крім того, важливо дотримуватися графіку щоденного прибирання. Основними етапами є миття стелі, стін, столів, інших поверхонь, дверей, вікон, підлоги. Використовують теплу воду з мийним розчином «Біомой», із розрахунку 100 – 150 мл на 1 м<sup>2</sup>. Для миття використовують ганчірки з сурових тканин, що мають закладені краї світлих тонів. Це гарантує ефективне прибирання та дезінфекцію.

Після очищення проводять промивання теплою водою та очікують на повне висихання. Наступним важливим кроком є проведення дезінфекційної обробки за допомогою 6% розчину перекису водню. Це забезпечує високий рівень гігієни та безпеки у приміщенні.

По завершенню прибирання необхідно скласти відповідний протокол [7], щоб задокументувати виконану роботу та забезпечити контроль якості процесу.

Також важливим етапом є знешкодження відходів. Тверді відходи, які мали контакт з токсинами (наприклад, одноразові рукавички, пробірки, флакони), збираються в спеціальних контейнерах і доставляються до зони інактивації, де вони піддаються процесу автоклавування при температурі 105 °C протягом 30 хвилин. Після цього відходи розмелюються і передаються для подальшого спалювання спеціалізованим службам.

Виробництво ботулотоксинів генерує відходи, які віднесені до категорії В – це медичні відходи, які мають епідемічний ризик (позначаються червоним маркуванням). Для дезінфекції цих відходів використовується фізичний метод, який включає обробку їх водяною парою під високим тиском та високою температурою за допомогою автоклаву, і температура стерилізації не може бути менше 150°C.

***Симптоми, які можуть виникнути у працівників виробництва при недотриманні належних правил безпеки:***

1. ***Отруєння.*** Надмірний контакт з ботулотоксинами може спричинити отруєння, яке проявляється симптомами, такими як головний біль, запаморочення, нудота, блювання, діарея та загальна слабкість.

2. ***М'язова слабкість.*** Вплив ботулотоксинів на м'язи може спричинити м'язову слабкість та параліч, особливо в областях, в яких контакт був безпосередній.

3. ***Неврологічні симптоми.*** Важке отруєння ботулінічними токсинами може призвести до неврологічних симптомів, таких як втрата координації, тремор, м'язова судорога, підвищений рівень рефлексів та інші порушення нервової системи.

4. ***Проблеми з диханням.*** Якщо ботулотоксини впливають на м'язи дихальної системи, може виникнути задишка та інші проблеми з диханням.

5. **Алергічні реакції.** Деякі працівники можуть розвивати алергічні реакції на ботулотоксини, які можуть проявлятися свербінням, висипами, набряками та іншими симптомами.

6. **Інші проблеми.** До інших можливих проблем включають втрату чутливості, головокружіння, втому та інші неврологічні симптоми [2].

Недотримання вищеперерахованих правил безпеки може призвести до серйозних наслідків для здоров'я працівників. Дотримання відповідних заходів безпеки та навчання персоналу щодо правильного використання цих речовин дуже важливо для уникнення подібних проблем.

**Висновок.** Отримання ботулотоксинів для виробництва біомедичних продуктів є складним і відповідальним процесом, пов'язаним із значними ризиками для безпеки працівників. В даній статті були розглянуті основні небезпеки, які виникають при роботі з ботулотоксинами, та способи їх усунення.

Для забезпечення безпеки працівників у виробництві ботулотоксинів, необхідно дотримуватися вимог стандартів GMP, ДСанПіН та інших нормативно-правових актів, призначених для фармацевтичної та біотехнологічної галузей.

Навчання працівників та перевірка їх знань щодо безпеки та охорони здоров'я; використання спеціального одягу; підготовка робочих приміщень; забезпечення максимальної гігієни виробничого середовища; миття та дезінфекцію різних поверхонь та знешкодження відходів, які мали контакт з токсинами – основні правила дотримання безпеки при виробництві ВоНТ.

Усі ці заходи дозволяють створити безпечну робочу атмосферу для персоналу, забезпечують якість продукції та допомагають уникнути можливих негативних наслідків для здоров'я працівників та споживачів біомедичних продуктів. Такий підхід до безпеки і гігієни у виробництві ботулотоксинів грає важливу роль у забезпеченні успіху цієї галузі і збереженні здоров'я людей.

## Література

1. Sellin L. C. The pharmacological mechanism of botulism. Trends Pharmacol Sci. 1985;6:80–2.

2. Amornrat Aroonual, Tavan Janvilisri, Surang Chankhamhaengdecha Botulinum toxins: their structure, properties, and genetics Journal of Medicine and Health (2016).

3. P. K. Nigam and Anjana Nigam. [Botulinum Toxin](#). Indian J Dermatol. 2010 Jan-Mar; 55(1): 8–14. doi: [[10.4103/0019-5154.60343](#)].

4. Про затвердження державних санітарних норм і правил "Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I-IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами". [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0088-08#Text>.

5. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю ДСП 9.9.5.-080-02. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ5817>

6. Державні будівельні норми України. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0046307-93#Text>

7. Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві лікарських засобів. Наказ МОЗУ № 502 [Інтернет], 14 груд. 2001. [Електронний ресурс]. – <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01>.