

## ПРИЛОЖЕНИЕ

к Рекомендации Коллегии  
Евразийской экономической комиссии

от 20 г. №

# РУКОВОДСТВО по организации и проведению микробиологического мониторинга производственной среды для производителей стерильных и нестерильных лекарственных средств

## 1. Сфера применения

1. Настоящее Руководство содержит положения по организации и проведению микробиологического мониторинга производственной среды для производителей стерильных и нестерильных лекарственных средств государств – членов Евразийского экономического союза (далее соответственно – государства-члены, Союз).

2. Настоящее Руководство основано на обобщении научных данных и практических рекомендаций международных документов и актов органов Союза в сфере обращения лекарственных средств, а также обобщении накопленного опыта фармацевтических производителей государств-членов.

3. Настоящее Руководство содержит положения по обеспечению минимизации рисков контаминации лекарственных средств микроорганизмами (плесневыми и дрожжевыми грибами, спорообразующими и неспорообразующими бактериями), позволяет наилучшим образом обеспечить нужный уровень микробиологического

мониторинга, как один из инструментов комплексной защиты лекарственных средств.

4. Положения настоящего Руководства и параметры мониторинга для микробиологической оценки следует применять к чистым помещениям (зонам), оборудованию и персоналу, работающему в чистых помещениях (зонах).

5. В настоящем Руководстве не рассматривается микробиологический мониторинг чистых сред, создающих условия для производства и (или) участвующих в процессе производства, таких как вода очищенная, вода для инъекций, сжатые газы, чистый пар и др.

## 2. Определения

6. Для целей настоящего Руководства используются понятия, которые означают следующее:

«биозагрязнения» – загрязнение материалов, изделий, людей, поверхностей, жидкостей, газов или воздуха жизнеспособными частицами;

«локальный изолят» – микроорганизмы, обнаруживаемые в производственной среде;

«мониторинг производственной среды» – наблюдение за состоянием объектов производственной среды (помещения, оборудование, воздух рабочей зоны, технологические среды, персонал) для определения и (или) предсказания момента перехода в предельное состояние на основе сравнения измеренных параметров с заданными значениями;

«неблагоприятная тенденция» – увеличение частоты отклонений от уровня тревоги или уровня действия, или повторное обнаружение низких концентраций микроорганизмов ниже уровня предупреждения во время

микробиологического мониторинга, или несоответствие фармацевтического компонента или готовой продукции, что свидетельствует о потере контроля над процессом;

«оснащенное состояние (состояния покоя)» – состояние, при котором монтаж всех установок завершен, включая работающую систему HVAC, вместе с установленным основным производственным оборудованием, готовым к эксплуатации, но не работающим и без присутствия персонала в помещении;

«план отбора образцов» – документально оформленный план, описывающий процедуры и методы отбора проб в контролируемых условиях среды; в нем определены места, частота и количества отбираемых проб;

«программа мониторинга производственной среды» – документально определенная программа, которая описывает правила текущего мониторинга производственной среды по всем контролируемым параметрам и включает в себя план мероприятий при превышении результатов контроля уровня действия;

«стратегия контроля контаминации (СКК)» – запланированный набор мероприятий контроля микроорганизмов, пирогенов и частиц, полученный на основе текущего понимания в отношении продукта и процесса, который обеспечивает эффективность процесса и качество продукта. Контрольные мероприятия могут включать в себя параметры и характеристики, относящиеся к АФС, вспомогательным материалам и компонентам продукта, рабочие условия производственных мощностей и оборудования, мероприятия внутрипроизводственного контроля, спецификации готового продукта, связанные с ними методики, а также частоту проведения мониторинга и контроля;

«точка контроля» – точка в чистом помещении, в которой выполняется контроль биозагрязнений и в которой опасность может быть предупреждена, устранена или снижена до допустимого уровня;

«уровень действия» – установленная релевантная величина (например, предел по содержанию микроорганизмов, предел по содержащимся в воздухе частицам), в случае превышения которой должно быть инициировано соответствующее расследование и корректирующие действия на основе расследования;

«уровень тревоги» – установленная релевантная величина (например, концентрация микроорганизмов, концентрация содержащихся в воздухе частиц), предоставляющая возможность раннего предупреждения о потенциальном отклонении от обычных рабочих условий и прошедшего валидацию состояния, которая необязательно формирует основу для корректирующих действий, но инициирует внимательное рассмотрение и последующие действия, необходимые для определения потенциальной проблемы. Уровни тревоги устанавливаются на основании исторических данных и сведений по трендам и подвергаются периодическому пересмотру (анализу). Уровень тревоги может основываться на ряде параметров, включая нетипичные тренды, отдельные отклонения сверх установленного предела, а также повторяющиеся события;

«чистая зона» – зона с определенными стандартами по чистоте в отношении частиц и микроорганизмов, обычно содержащая несколько объединенных чистых помещений;

«чистое помещение» – помещение, спроектированное, обслуживаемое и контролируемое таким образом, чтобы предотвратить загрязнение лекарственных средств частицами и микроорганизмами. Под классом А понимается зона класса А;

«эксплуатируемое (функционирующее) состояние» – состояние, при котором монтаж чистого помещения завершен, системы отопления, вентиляции и кондиционирования воздуха является полностью работоспособными, оборудование установлено и функционирует в определенном производителем рабочем режиме с максимальным количеством присутствующего персонала, осуществляющего или имитирующего рутинную производственную деятельность.

### 3. Общие положения

#### 1. Стратегия контроля контаминации

7. Стратегию контроля контаминации (СКК) следует применять на производственной площадке для определения всех критических точек контроля и оценки эффективности всех осуществляемых контрольных мероприятий (проектных, процедурных, технических и организационных), а также мероприятий мониторинга, осуществляемых для управления рисками для качества и безопасности лекарственных средств. Комбинированная стратегия контроля контаминации должна формировать устойчивую гарантию предотвращения контаминации. Стратегия контроля контаминации должна активно анализироваться и, по мере целесообразности, обновляться, а также способствовать постоянному улучшению методов производства и контроля. Ее эффективность должна являться частью периодического обзора со стороны руководства.

8. Требования к производству стерильных лекарственных средств, указанные в приложении № 1 к Правилам надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза, утвержденным Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 77

(далее – приложение № 1 к Правилам производственной практики), (например, стратегия контроля контаминации, проект помещений, классификация чистых помещений, квалификация, валидация, мониторинг, технологическая одежда и ее использование) могут использоваться при производстве других видов продукции, не являющейся стерильной (например, определенные жидкие лекарственные формы, крема, мази и биологические промежуточные продукты с низкой бионагрузкой), но для которой важными считаются контроль и снижение контаминации микроорганизмами, частицами и эндотоксинами (пирогенами). Если производитель делает выбор в пользу использования требований, указанных в приложении № 1 к Правилам производственной практики для нестерильной продукции, он должен четко задокументировать, какие принципы использовались, а также продемонстрировать достижение соответствия этим принципам.

9. Процесс внедрения стратегии контроля контаминации на предприятии описан в приложении № 1 к настоящему Руководству.

## 2. Микробиологический мониторинг производственной среды

10. Микробиологический мониторинг производственной среды – (далее – мониторинг) предоставляет производителю ключевую информацию о соответствии условий производства установленным уровням микробной контаминации и позволяет предотвратить выпуск потенциально загрязненных лекарственных средств, а также предупредить возможность микробной контаминации в будущем за счет проведения анализа полученных данных и выявления неблагоприятных тенденций.

11. При построении системы мониторинга следует применять принципы управления рисками для качества.

12. Мониторинг должен быть достаточным, обоснованным и регулярным, что обеспечивает предоставление необходимой информации для демонстрации стабильности условий производственной среды в рамках установленных параметров, оценки эффективности процедур очистки и дезинфекции, а также для обнаружения изменений в типах микробиологической флоры (например, возникновение организмов, резистентных к применяемым режимам дезинфекции).

13. Для асептических процессов мониторинг следует проводить таким образом, который позволяет охватывать все вмешательства, временные эпизоды или любые эпизоды ухудшения (порчи) системы, а также избегать любые риски, обусловленные вмешательствами при осуществлении действий по мониторингу.

14. При выявлении отклонения от установленных параметров следует провести расследования в соответствии с утвержденной процедурой производителя.

15. Расследование должно быть достаточно полным для установления коренной причины и выработки необходимых корректирующих и предупреждающих действий (САРА). Расследование должно, как минимум, включать:

обзор документации и записей по техническому обслуживанию, очистке и дезинфекции помещений (зон, оборудования);

оценку возникновения внештатных событий;

оценку влияния физических или эксплуатационных параметров (например, изменение температуры среды и (или) относительной влажности);

оценку статуса обучения персонала;

оценку эффективности применяемых дезинфицирующих средств и др.

16. Глубина расследования зависит от классификации отклонения (может быть разный подход при отклонении от тренда или превышении максимальных переделов действия). Расследование должно обязательно содержать оценку влияния на продукт, производимый в период идентификации отклонения (или период его возможного появления). По итогам расследования следует предпринять действия по исправлению или устраниению наиболее вероятных причин микробной контаминации, а также действия, направленные на предупреждение возникновения подобных отклонений в будущем (САРА). У производителя должны быть процедуры по проверке эффективности принятых корректирующих и предупреждающих действий (САРА) (сроки, критерии).

17. Кроме изменения в уровне микробной контаминации объектов производственной среды, на изменения контролируемых условий может указывать то, как часто обнаруживается достижение уровней тревоги и действия.

18. Общее количество и виды выделяемых из производственной среды микроорганизмов (бактерий и грибов) зависят от множества факторов, включая географические и климатические условия.

19. Пути проникновения микроорганизмов в чистые помещения (зоны) многообразны:

персонал (является наиболее частым источником микробной контаминации);

воздух производственных помещений;

вода и газы, используемые в производстве;

сырье (характер контаминации зависит от природы, условий хранения и переработки сырья);

упаковочные материалы;  
инструменты, технологическое оборудование, устройства связи, емкости, тележки, оборудование для очистки и дезинфекции и др.

20. Сотрудники, осуществляющие отбор проб, должны быть обучены правилам отбора проб, требованиям об организации и проведении микробиологического контроля на производстве лекарственных средств.

21. При организации микробиологического мониторинга необходимо учитывать следующие аспекты:

выявляемые при контроле производственной среды микроорганизмы могут находиться в поврежденном состоянии, вызванном стрессовыми условиями, и, следовательно, могут трудно поддаваться восстановлению;

из-за специфики микробиологических проб вопросы проведения отбора, транспортировки, хранения должны быть очень тщательно проработаны для предотвращения риска гибели (угнетения) или размножения микроорганизмов;

на уровень обнаружения микроорганизмов может влиять множество факторов. Однаковые объемы проб, отобранные с помощью разных методов и питательных сред, могут продемонстрировать разный уровень микробной контаминации;

по результатам исследования установлено, что при мониторинге поверхностей степень извлечения микроорганизмов может составлять < 50 %, даже при использовании относительно высоких уровней инокулята на стандартизованных чашках. В реальных производственных условиях, в которых микроорганизмы подвергаются различным уровням стрессового воздействия, степень извлечения может быть ниже;

мониторинг не способен доказать отсутствие микробного загрязнения. Ложное ощущение безопасности не должно возникать из-за нечастого обнаружения микробной контаминации. Отсутствие роста колоний при испытании пробы может свидетельствовать о том, что рост не был обнаружен, так как полученный результат ниже предела обнаружения используемой аналитической системы. Но это не означает, что производственная среда абсолютно не содержит микробных загрязнений.

### 3. Программа микробиологического мониторинга производственной среды

22. Для организации мониторинга производителю следует разработать программу микробиологического мониторинга производственной среды, определяющую объекты контроля и устанавливающую требования к порядку микробиологического контроля производств (далее – программа мониторинга).

23. Программа мониторинга разрабатывается в соответствии с принципами управления рисками для качества на основании результатов квалификации чистых помещений (зон) и валидации очистки оборудования (далее по тексту – квалификация (валидация)).

Программа мониторинга включает в себя:

- порядок текущего микробиологического контроля;
- объекты и точки контроля;
- периодичность отбора проб;
- максимальные пределы действия, а также уровни тревоги и действия;
- методы контроля;
- периодичность и порядок оценки трендов;

порядок действий, предпринимаемых в случаях выявления неблагоприятных тенденций или отклонений;

порядок ведения записей по мониторингу;

процедуру подтверждения эффективности функционирования программы мониторинга и порядок использования и передачи полученных данных.

24. Определенный по итогам квалификации (валидации) и проведенного анализа рисков объем мониторинга, включенный в программу мониторинга, должен сохраняться в течение установленного периода времени (не более одного года), если отсутствуют неблагоприятные тенденции или отклонения.

25. По истечении установленного периода проводится обзор трендов результатов мониторинга и анализ программы мониторинга.

26. В случае отсутствия необходимости изменений, мониторинг продолжает осуществляться в том же объеме. При этом необходимость пересмотра программы мониторинга определяется результатами последующих обзоров трендов за установленный период, результатами расследования выявленных отклонений, а также при реализации изменений.

27. Если при обзоре трендов результатов мониторинга и анализе программы мониторинга выявлена необходимость изменения (количество (локализация) точек контроля, периодичность отбора проб и др.), проводится анализ рисков, по итогам которого вносятся изменения в программу мониторинга и устанавливается новый объем мониторинга на следующий период (не более одного года). По истечении установленного периода проводится обзор трендов результатов микробиологического контроля и анализ программы мониторинга.

28. Все действия по изменению программы мониторинга проводятся через систему контроля изменений.

#### 4. Выбор точек контроля

29. Во время ввода в эксплуатацию производственных помещений (зон) и оборудования производителем проводится квалификация чистых помещений (зон) и валидация очистки оборудования. Для проведения квалификации (валидации) должны быть определены точки контроля, в которых будут отбираться пробы для микробиологических испытаний. Точки контроля устанавливаются на основании результатов анализа рисков. Степень риска для качества определяют исходя из особенностей производства, требований к уровню его микробиологической чистоты.

##### 1. Выбор точек микробиологического контроля для квалификации чистых помещений (зон)

30. Для определения локализации и количества точек микробиологического контроля при проведении квалификации в чистых помещениях (зонах) допускается использовать метод сетки, описанный в приложение № 2 к настоящему Руководству.

31. При проведении анализа рисков с целью выбора точек микробиологического контроля для квалификации чистых помещений (зон) следует учитывать факторы (но не ограничиваться ими):

применимость для выбора точек контроля метода сетки;  
критичность процесса, который проводится в чистом помещении (зоне);

допустимый уровень микробной контаминации продукта;  
уровень микробной контаминации исходного сырья и возможность его влияния на чистоту помещений (зон);

зоны контакта производственной среды с открытым продуктом;

длительность производственных процессов в данном помещении (зоне);

зоны помещения, где в наибольшей степени осуществляют работы персонал;

количество сотрудников, время пребывания в помещении, степень активности при выполнении работ;

труднодоступные для очистки и дезинфекции объекты;

частота проведения очисток (дезинфекций);

стадия (операция) производственного процесса, являющаяся наиболее критичной с точки зрения риска микробной контаминации продукта;

потоки движения персонала, материалов, отходов;

профиль движения воздушных потоков (приток-вытяжка), проектное решение системы вентиляции и кондиционирования (классификация фильтров, НЕРА фильтры в каждом помещении или только на поступлении воздуха в зону производства, профиль перепада давления);

проект чистых помещений (площадь, дизайн (наличие зон скопления пыли и иных загрязнений), количество дверей, смежные помещения, сквозные отверстия из одного помещения в другое и др.);

используемые материалы поверхностей (нержавеющая сталь, стекло, ПВХ панели и др.) с точки зрения риска формирования микротрещин;

будет ли отбор проб на данном участке нарушать производственный процесс (риск сбора ошибочных данных или загрязнение продукта);

следует ли проводить отбор проб в процессе производства или необходимо проводить отбор в конце смены или после окончания критических технологических операций.

## 2. Выбор точек микробиологического контроля для валидации очистки оборудования

32. При проведении анализа рисков с целью выбора точек микробиологического контроля для валидации очистки оборудования следует учитывать факторы (но не ограничиваться ими):

контакт с продуктом;

дизайн оборудования: наличие стыков, труднодоступных для очистки мест, наличие узких мест, длинных шлангов и пр.;

применение СIP мойки или ручная мойка;

частота проведения очисток и дезинфекций;

продолжительность производственных кампаний.

33. Для выбора точек контроля для валидации очистки оборудования допускается применять метод сетки, если позволяет конструкция оборудования и известна его площадь.

## 3. Определение точек микробиологического контроля для мониторинга производственной среды

34. Определение точек микробиологического контроля для рутинного мониторинга производственной среды осуществляется в соответствии с принципами управления рисками для качества на основании результатов, проведенной квалификации (валидации). Количество точек контроля при квалификации (валидации), как правило, является расширенным. Результаты квалификации могут указывать на

необходимость оптимизации объема мониторинга и количество точек контроля для рутинного мониторинга может быть уменьшено.

35. В процессе производства точки контроля (например, поверхностей), могут меняться.

36. Выбранные точки контроля допускается разделять по степени присущего им риска на критические, точки среднего и низкого риска. В дальнейшем такое деление используют при разработке плана отбора проб, установлении периодичности мониторинга, обосновании уровней тревоги и действия по микробиологическому загрязнению в данных точках.

37. Во избежание перепутывания точек отбора, особенно при контроле поверхностей, рекомендуется указывать их на схемах с обозначенным технологическим оборудованием, передаточными окнами и дверями. Можно использовать фотографии объектов контроля с указанием точек контроля.

Такие схемы могут быть полезными при разработке планов отбора проб и определения маршрутов передвижения персонала, выполняющего отбор проб, в чистых помещениях (зонах).

38. Допускается для идентификации точек контроля на местах отбора проб на технологическом оборудовании и в помещениях использовать специально изготовленные этикетки, которые гарантированно могут подвергаться многократным обработкам дезинфицирующими средствами. Пример идентификации приведен на рисунке 1.



Рисунок 1. Идентификация точек контроля при помощи этикеток

## 5. Методы контроля

39. Для микробиологического мониторинга используют качественные, полуколичественные и количественные методы, позволяющие определить микробиологическое загрязнение в производственной среде. Для рутинного мониторинга используют те же методы, что и при первичной квалификации (валидации) объектов контроля.

40. Производителю следует валидировать применяемые методы. Валидация должна включать в себя как минимум стандартизацию отбора проб (порядок взятия, тип пробоотборных устройств) и времени инкубации, определение степени извлечения с различного типа поверхностей с приемлемой сходимостью результатов. Следует установить критерии для ревалидации (новые методы отбора, виды поверхностей, типы пробоотборных устройств и др.).

41. Вопрос принятия соответствующих альтернативных систем мониторинга (например, систем с использованием быстрых методов) рассматривается производителями для ускорения процесса обнаружения проблем, связанных с микробиологической контаминацией, а также для

снижения рисков для продукта. Такие быстрые или автоматизированные методы микробиологического мониторинга могут применяться после того, как в ходе валидации была продемонстрирована их эквивалентность установленной методологии или превосходство над ней.

42. В случае, если используются другие или новые технологии, результаты которых выражаются иначе (не в единицах КОЕ), то тогда производителю следует обосновать используемые пределы на основе научных данных и (если возможно) указать их взаимосвязь с пределами, выраженными в единицах КОЕ.

43. Методы отбора проб не должны создавать риск микробного загрязнения для производственных операций.

44. Если осуществляются асептические операции, используемый метод отбора проб следует обосновать в рамках стратегии контроля контаминации. В его отношении должно быть продемонстрировано, что он не оказывает негативного влияния на воздушные потоки в зонах классов А и В. Мониторинг поверхностей чистых помещений (зон) и оборудования следует проводить после завершения критической операции.

45. Выбранное время инкубации проб должно быть оптимальным исходя из необходимости оперативного получения результатов микробиологических испытаний и необходимого времени на восстановление поврежденных микроорганизмов и микроорганизмов с угнетенными физиологическими функциями.

46. Универсальными условиями инкубации проб, необходимыми для роста и образования колоний микроорганизмов, присутствующих в производственной среде, пригодными для большинства случаев являются:

для аэробных бактерий – температура  $(32,5 \pm 2,5)$  °С и время инкубации от 48 ч до 72 ч;

для дрожжевых и плесневых грибов – температура  $(22,5 \pm 2,5)$  °С и время инкубации от 5 до 7 суток.

Допускается применение иных более коротких сроков инкубации, которые производителю следует обосновать результатами валидации.

При этом, необходимо учитывать, что при сокращении сроков инкубации существует риск получения заниженных результатов испытаний (например, для медленнорастущих микроорганизмов с угнетенными физиологическими функциями или в случае взаимного подавления роста микроорганизмов).

47. Допускается использовать универсальную питательную среду для контроля аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов) (например, соево-казеиновый/триптиказо-соевый агар или соево-казеиновый/триптиказо-соевый бульон). Режим инкубации универсальной питательной среды следует подобрать на основе результатов анализа рисков в зависимости от вида микроорганизмов, которые предполагается выделить из производственной среды, и валидировать.

48. Примеры режимов инкубации:

инкубация 48 – 72 ч. при температуре  $(22,5 \pm 2,5)$  °С, с последующей перестановкой на режим 48 – 72 ч. при температуре  $(32,5 \pm 2,5)$  °С обеспечивает рост поврежденных и (или) медленнорастущих микроорганизмов. При обратной последовательности температурных режимов обнаружение поврежденных или медленнорастущих микроорганизмов может быть затруднительным;

инкубация 48 – 72 ч. при температуре (32,5 ± 2,5) °С, с последующей перестановкой на режим 48 – 72 ч. при температуре (22,5 ± 2,5) °С обеспечивает быстрый рост кокковой флоры.

## 1. Время хранения и транспортировки отобранных проб

49. Микробиологическое состояние пробы не должно меняться за промежуток времени между отбором пробы и проведением испытания. Время транспортировки и (или) хранения проб должно быть минимальным и определено валидацией.

## 2. Методы контроля воздуха

50. Микробиологический мониторинг воздуха проводится с использованием комбинации седиментационного (пассивного) и аспирационного (активного) методов отбора проб воздуха. Периодичность комбинации устанавливается на основе анализа рисков.

51. Если осуществляются асептические операции, требующие обеспечение непрерывного микробиологического мониторинга, для аспирационного метода возможно применение оборудования, обеспечивающего отбор проб воздуха во время всего производственного процесса. При отсутствии такого оборудования следует применять частоту отбора проб, установленную на основании анализа рисков, например:

выборка в коротких интервалах времени (начало, середина и конец процесса асептического наполнения);

отбор во время критических вмешательств, асептическая сборка оборудования и др.

## Седиментационный метод

52. Седиментационный метод основан на оседании аэрозольных частиц с имеющимися на них микроорганизмами из воздуха производственной среды на горизонтальную поверхность питательной среды в течение определенного периода времени экспозиции.

53. Седиментационные пластины (питательная среда в чашках Петри) должны подвергаться воздействию производственной среды не более 4 часов. Для классов А и В – в течение всей продолжительности осуществляемых операций (включая настройку оборудования) и заменяться в соответствии с требованиями не позже, чем через 4 часа. Время экспозиции должно основываться на валидации, включая исследования восстановления; оно не должно оказывать негативного влияния на пригодность используемых сред.

54. Отдельные седиментационные пластины могут подвергаться экспозиции менее 4 часов. В этом случае, при наличии роста колоний микроорганизмов, пересчет на 4 часа производить не требуется, так как максимальные пределы действия, указанные в приложении № 1 к Правилам производственной практики следует интерпретировать как пределы для воздействия до 4 часов.

55. Преимущества седиментационного метода в простоте использования. Главными недостатками метода являются выявление только больших быстрооседающих живых частиц, неопределенность в объеме отобранной пробы, сильное влияние скорости и направления воздушного потока по отношению к поверхности среды на результат теста. Фактически данный метод является полуколичественным. Применение данного метода целесообразно только в сочетании с активным методом контроля микробной контаминации воздуха.

## Аспирационный метод

56. Аспирационный метод позволяет определить число микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> с использованием специального оборудования (аспираторов), подлежащего периодической калибровке или поверке.

57. Поскольку разные приборы для отбора проб различаются между собой, производителю следует провести оценку общей пригодности устройства для отбора проб в конкретных производственных условиях до его ввода в эксплуатацию (скорость (объемный расход), продолжительность и время отбора, объем отобранной воздушной пробы и др.)

58. В зависимости от вида устройства для отбора проб при обработке полученных результатов может потребоваться применение статистической поправки для определения наиболее вероятного числа микроорганизмов в пробе (поправка Феллера). Обычно информация о допустимости применения такой поправки указана в руководстве по эксплуатации устройства.

59. Устройство следует выбирать исходя из особенностей зоны, где оно будет применяться, с учетом факторов, изложенных в ГОСТ ИСО 14698-1 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Контроль биозагрязнений. Часть 1. Общие принципы и методы».

60. В каждой контрольной точке отбирают пробы в две чашки Петри – одна с питательной средой для выращивания бактерий и одна с питательной средой для выращивания грибов.

61. В случае использования универсальной питательной среды допускается производить отбор проб в контрольной точке на одну чашку.

62. Объем пробы воздуха, отбираемой в помещениях класса А и В, должен составлять не менее 1 м<sup>3</sup>, в классах чистоты С и D допускается

сокращение объема отбора пробы и проведение соответствующих перерасчетов полученных результатов на объем 1 м<sup>3</sup>.

### 3. Методы контроля поверхностей

63. При микробиологическом мониторинге поверхностей отбор проб проводится:

методом контактных пластин (метод реплик или отпечатков) с использованием чашек Петри (Родака) диаметром 55 мм/контактных пластин известной площади;

методом смыва с использованием стерильных тампонов (свабов).

Используемый метод отбора проб следует обосновать.

64. Для микробиологического мониторинга перчаток персонала следует использовать метод отпечатка (5 пальцев, с обеих рук) или метод смыва с использованием стерильных тампонов (свабов). Используемый метод отбора проб следует обосновать.

65. При контроле микробной контаминации поверхностей, которые могут содержать остаточные количества дезинфицирующих средств, антимикробных препаратов (например, антибиотиков), для предотвращения риска подавления роста микроорганизмов, вызванного действием различных химических веществ, рекомендуется применять среды, содержащие нейтрализаторы. Если в качестве нейтрализаторов используются вещества не указанные в Фармакопее Евразийского экономического союза, утвержденной Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11 августа 2020 г. № 100 (далее – Фармакопея Союза) или концентрация используемых фармакопейных нейтрализаторов отличается от концентрации указанной в Фармакопее Союза, применимость таких нейтрализаторов и эффективность нейтрализации химических веществ (в той концентрации, которая

фактически имеется на контролируемых поверхностях) следует подтвердить при валидации методик контроля микробной контаминации поверхностей.

### Метод контактных пластин

66. Сущность метода контактных пластин заключается в следующем: контактные пластины с агаризованной питательной средой прикладывают к исследуемой поверхности и выдерживают в течение 3 – 5 секунд (время контакта) при одинаковом давлении на исследуемую поверхность, при этом контактные пластины, используемые на плоских поверхностях, не допускается поворачивать. При практическом обучении персонала силу давления можно продемонстрировать, используя весы (показания весов при этом ориентировочно должны быть около 400 г). Для стандартизации отбора проб контактным методом допускается использовать специализированное оборудование (например, специализированные аппликаторы для контактных пластин, позволяющие стандартизовать усилие).

67. После проведенного отбора пробы контролируемую поверхность необходимо очистить от остатков питательной среды и продезинфицировать.

### Метод смыва тампоном (свабом)

68. Сущность метода заключается в смыве тампоном (свабом), увлажненным стерильной средой, участка контролируемой поверхности (далее по тексту – площадь смыва).

69. Площадь смыва может варьировать от 25 до 100 см<sup>2</sup>. Площадь смыва зависит от критичности объекта контроля, класса чистоты помещения (зоны), площади контролируемого объекта, ожидаемого

уровня микробной контаминации и др. Производителю следует самостоятельно выбрать значение площади смыва в пределах 25 – 100 см<sup>2</sup>, основываясь на принципах управления рисками для качества, а также учитывая процент извлечения, установленный при валидации метода смыва.

70. В качестве среды для увлажнения тампона (свабы) следует использовать фосфатный буферный раствор с натрия хлоридом и пептоном (рН 7.0) или 0,9 % раствор натрия хлорида (физиологический раствор) или иную допустимую среду промышленного производства, поставляемую в пробирках со стерильными тампонами (свабами).

71. Объем стерильной среды в пробирке.

При посеве смыва на питательную среду поверхностным методом (штрихом) объем стерильной среды в пробирке должен быть достаточным только для увлажнения тампона (свабы) (1-2 мл). Не допускается после отбора смыва тампон (сваб) погружать в стерильную среду, содержащуюся в пробирке.

При посеве смыва глубинным методом объем стерильной среды в пробирке должен быть достаточным для ополаскивания тампона (свабы) (2-10 мл). При интерпретации результатов необходимо учитывать объем, взятый для посева, и общий объем среды в пробирке. Например, при посеве 1 мл смывной жидкости, полученной путем ополаскивания тампона в 10 мл стерильной среды, требуется произвести пересчет, умножив полученный результат на 10.

72. Техника взятия смыва.

На месте взятия смыва тампон (сваб), наклонив пробирку, увлажняют стерильной средой, содержащейся в пробирке. Смыв производят тампоном (свабом), расположенным под наклоном к контролируемой поверхности, как показано на рисунке 2, тщательно

протирая поверхность аккуратными движениями близко расположеннымными линиями-штрихами, исключая просветы между штрихами. Затем такими же движениями производят смыв в направлении, перпендикулярном предыдущему направлению (как показано на рисунке 3).



Рисунок 2. Расположение тампона (свабы) при выполнении смыва.

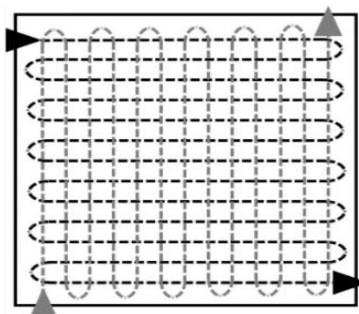


Рисунок 3. Направление движений тампона (свабы) при выполнении смыва.

### 73. Поверхностный метод посева (штрихом).

До начала посева тампон (сваб) должен оставаться влажным. Посев осуществлять влажным тампоном по всей поверхности агара в чашке Петри параллельными близко расположеннымами линиями в одном направлении, не меняя степень нажатия, но прокручивая тампон (сваб) вдоль оси. Каждое новое движение не должно перекрывать предыдущее, как показано на рисунке 4.

Следует учитывать, что результат сильно зависит от техники исполнения – угол наклона тампона, сила давления на тампон, количество сделанных штрихов и др.

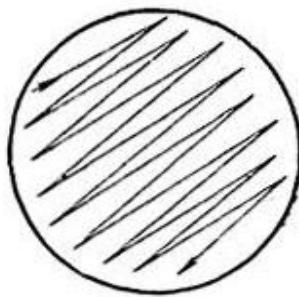


Рисунок 4. Направление движений тампона (сваба) при выполнении посева.

#### 74. Глубинный метод посева.

Перед проведением посева тампон (сваб) тщательно ополаскивают с целью извлечения микроорганизмов в смывную жидкость. Посев производят глубинным методом согласно требованиям Фармакопеи Союза].

В случае подтвержденного валидацией ингибирующего воздействия остаточного количества антимикробного вещества, попадающего в смывную жидкость при отборе пробы, которое не удалось устраниить другими методами, рекомендуется использовать метод мембранный фильтрации.

#### 75. Метод отпечатка.

Отбор проб производить с обеих рук. Для каждой руки используется 1 контактная пластина или чашка Петри. Для микробиологического мониторинга рук в перчатках следует поочередно сделать отпечатки пяти пальцев на поверхность агара (контактной пластины или чашки Петри). Чтобы касание было полным, поочередно сделать касание не менее 5 секунд каждым пальцем по поверхности агара таким образом, чтобы отпечатки не накладывались друг на друга (как показано на рисунке5).



Рисунок 5. Техника отбора проб методом отпечатка.

## 6. Периодичность контроля

76. Задачей микробиологического мониторинга является своевременное выявление отклонения и вероятного пути загрязнения контролируемых объектов производственной среды, обеспечивая при этом возможность для внедрения своевременных и эффективных мероприятий, предупреждающих загрязнение продукта. Периодичность отбора проб, установленная программой мониторинга, должна обеспечивать выполнение данной задачи.

77. Периодичность мониторинга в помещениях класса А и В производства стерильных лекарственных средств установлена в приложении № 1 к Правилам производственной практики. Производителю следует придерживаться установленной периодичности мониторинга. Изменять периодичность допускается только в сторону ужесточения.

78. Если осуществляются асептические операции, мониторинг также должен проводиться внутри чистых помещений (зон), когда не осуществляются обычные производственные операции (например, перед началом производства, при завершении серии, а также после периода остановки).

79. Для объектов с меньшей степенью критичности производитель самостоятельно устанавливает периодичность микробиологического контроля в соответствии с принципами управления рисками для качества. Установленную периодичность следует документально обосновать.

80. При определении периодичности отбора проб следует учитывать результаты микробиологического контроля производственной среды за прошедший период.

81. Периодичность проведения микробиологического мониторинга может значительно варьировать в зависимости от факторов (но не ограничиваться ими):

типа производимого продукта;

длительности производственных кампаний;

планировочных и технологических решений;

степени вмешательства человека в процесс (технологический процесс, включающий ручные операции, имеет повышенный риск контаминации продукта, в этих случаях частоту проведения текущего контроля следует увеличить);

использования финишной стерилизации;

интенсивности производства;

возраста предприятия;

уровня технического обслуживания;

уровня квалификации персонала;

уровня загруженности персонала;

данных контроля предшествующего периода.

82. Кроме того, изменения в частоте отбора проб, будь то временные или постоянные, могут потребоваться на основании изменений в регуляторных требованиях, развития микробиологических знаний, приобретения нового оборудования или строительства новых помещений и др.

83. Микробиологический контроль производственных помещений (зон) проводится как в эксплуатируемом, так и в оснащенном состоянии. Контроль помещений (зон) в оснащенном состоянии позволяет контролировать качество генеральных очисток, оценивать работу системы воздухоподготовки без нагрузки. Периодичность контроля помещений (зон) в оснащенном состоянии устанавливается на основании

оценки рисков с учетом назначения помещений (зон), критичности производимых в них операций и т.д.

Мониторинг помещений (зон) и оборудования не проводится:

- во время проведения очисток;
- при наличии этикетки на помещении или оборудовании «Требуется очистка», «Ремонт»;
- при проведении технического обслуживания.

## 2. Периодичность и методы контроля для производителей стерильных лекарственных средств

Таблица 1

### Периодичность и методы контроля воздуха

Класс	Периодичность и методы контроля
A	Непрерывный микробиологический мониторинг в классе А с использованием комбинации седиментационного и аспирационного методов следует осуществлять на протяжении всей продолжительности критического процесса, включая сборку оборудования (асептической установки) и сам критический процесс. Для производств с финишной стерилизацией периодичность устанавливается на основе анализа рисков.
B	Аналогичный подход следует рассмотреть для чистых помещений класса В, исходя из риска воздействия на асептический процесс. Периодичность комбинации седиментационного и аспирационного методов устанавливается на основе анализа рисков.
C	От ежедневного до ежемесячного отбора проб (в зависимости от критичности). Седиментационный и аспирационный методы в комбинации с периодичностью, установленной на основе анализа рисков.
D	От еженедельного до одного раза в квартал (в зависимости от критичности). Седиментационный и аспирационный методы в комбинации с периодичностью, установленной на основе анализа рисков.

## Периодичность и методы контроля поверхностей

Объект контроля (объекты (точки) контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
Класс А	
Поверхности оборудования. Рабочие поверхности	Для асептических процессов – после окончания критической технологической операции. Для производств с финишной стерилизацией периодичность устанавливается на основе анализа рисков. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Поверхности помещения	После окончания критической технологической операции. Для производств с финишной стерилизацией периодичность устанавливается на основе анализа рисков. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Полы	От ежедневного до ежемесячного (в зависимости от критичности) Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс В	
Поверхности оборудования. Рабочие поверхности	После окончания критической технологической операции и (или) во время нее, если риск, вызываемый отбором проб, минимален. Для производств с финишной стерилизацией периодичность отбора проб устанавливается на основе анализа рисков. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Поверхности помещения	После окончания критической технологической операции или во время нее, если риск, вызываемый отбором проб, минимален.

Объект контроля (объекты (точки) контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
	Для производств с финишной стерилизацией периодичность отбора проб устанавливается на основе анализа рисков. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Полы	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности) Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс С	
Поверхности оборудования. Рабочие поверхности	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности) в эксплуатируемом состоянии Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Поверхности помещения	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности) Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Полы	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности) в эксплуатируемом состоянии Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс D	
Поверхности оборудования. Рабочие поверхности	От еженедельного до одного раза в квартал (в зависимости от критичности) в эксплуатируемом состоянии Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Поверхности помещения	От ежемесячного до одного раза в квартал (в зависимости от критичности) в эксплуатируемом состоянии Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Полы	От ежемесячного до одного раза в квартал (в зависимости от метода контактных

Объект контроля (объекты (точки) контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
	пластин и (или) метода смыва тампоном (свабом).

Таблица 3

**Периодичность и методы контроля перчаток и технологической одежды персонала**

Объект контроля (точки контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
<b>Класс А</b>	
Перчатки	После выполнения критической технологической операции. При каждом выходе из чистой зоны класса А Метод отпечатка перчатки (5 пальцев, с обеих рук). Для отбора проб с труднодоступных мест (между пальцами) допустимо применять метод смыва тампоном (свабом).
Предплечья	При каждом выходе из чистой зоны класса А. Если операции осуществляются вручную, каждый сотрудник после выполнения критической технологической операции. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
<b>Класс В</b>	
Перчатки	В каждой серии после выполнения критических технологических операций При каждом выходе из чистого помещения класса В Метод отпечатка перчатки (5 пальцев, с обеих рук).

Объект контроля (точки контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
	Для отбора проб с труднодоступных мест (между пальцами) допустимо применять метод смыва тампоном (свабом).
Предплечья Капюшон (вокруг маски), лоб, верхняя передняя часть комбинезона	При каждом выходе из чистого помещения класса В (перчатки и одежда). Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс С	
Предплечья Верхняя передняя часть комбинезона, лоб	Не реже одного раза в полгода. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс D	
Предплечья Верхняя передняя часть комбинезона, лоб	Не реже одного раза в полгода. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).

84. Оценка рисков должна оценивать точки и частоту мониторинга персонала на основании осуществляемых операций, а также близости к критическим зонам. Мониторинг должен включать в себя периодический отбор проб с персонала в ходе процесса.

85. Если после критических вмешательств проводится мониторинг перчаток, верхнюю пару перчаток следует менять перед возобновлением (продолжением) операции или действия.

86. Если после осуществления критических вмешательств требуется проведение мониторинга для одежды, следует сменить одежду перед продолжением операции или действия в чистом помещении.

87. Если операции осуществляются вручную (например, асептическое приготовление или розлив), то тогда повышенный риск

должен вести к четкому акценту на микробиологический мониторинг одежды. Это следует обосновать в стратегии контроля контаминации.

88. В случае необходимости нескольких последовательных вмешательств в зону класса А при сборке оборудования или проведении ремонтных работ, мониторинг технологической одежды и перчаток персонала следует выполнять после завершения всех последовательных вмешательств.

89. При производстве асептических лекарственных средств следует оценить необходимость мониторинга:

после значительных вмешательств в зону класса А (например, проникновение рук и верхней части туловища). Контролируются перчатки и, как минимум, 4 точки верхней части технологической одежды (маска/капюшон, верхняя передняя часть комбинезона, рукава (предплечья)).

После незначительных вмешательств в зону класса А (только рукава (предплечья) и перчатки). Допускается контроль только перчаток.

### Периодичность и методы контроля для производителей нестерильных лекарственных средств

Таблица 4

#### Периодичность и методы контроля воздуха

Класс	Периодичность и методы контроля
C	От еженедельного до ежемесячного отбора проб (в зависимости от критичности). Седиментационный и аспирационный методы в комбинации с периодичностью, установленной на основе анализа рисков.
D	От еженедельного до одного раза в квартал (в зависимости от критичности) Седиментационный и аспирационный методы в комбинации с периодичностью, установленной на основе анализа рисков.

Таблица 5

## Периодичность и методы контроля поверхностей

Объект контроля (объекты (точки) контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)		Периодичность и методы контроля
Класс С		
Поверхности оборудования	прямой контакт с продуктом	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности). Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
	отсутствие контакта с продуктом	
Класс D		
Поверхности оборудования	прямой контакт с продуктом	От еженедельного до ежемесячного (в зависимости от критичности). Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
	отсутствие контакта с продуктом	От еженедельного до одного раза в квартал (в зависимости от критичности). Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Рабочие поверхности		Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Поверхности помещения		

Таблица 6

Периодичность и методы контроля перчаток  
и технологической одежды персонала

Объект контроля (точки контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
Класс С	
Перчатки	Необходимость и периодичность контроля устанавливаются на основании анализа рисков.

Объект контроля (точки контроля устанавливаются производителем на основании результатов анализа рисков)	Периодичность и методы контроля
	Метод отпечатка (5 пальцев). Для отбора проб с труднодоступных мест допускается применять метод смыва тампоном (свабом).
Технологическая одежда (предплечья, верхняя передняя часть комбинезона на уровне выполнения производственных операций)	Не реже одного раза в квартал. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).
Класс D	
Перчатки	Необходимость и периодичность контроля устанавливаются на основании анализа рисков. Метод отпечатка (5 пальцев). Для отбора проб с труднодоступных мест допускается применять метод смыва тампоном (свабом).
Технологическая одежда (предплечья, верхняя передняя часть комбинезона на уровне выполнения производственных операций)	Не реже одного раза в 6 месяцев. Метод контактных пластин и (или) метод смыва тампоном (свабом).

## 7. Максимальные пределы действия

90. Максимальные пределы действия для микробной контаминации объектов производственной среды установлены приложением № 1 к Правилам производственной практики.

91. Для определения максимальных пределов действия для объектов (методов контроля), не указанных в приложении № 1 к Правилам производственной практики следует применять

статистические методы расчета на основе исторических данных (приложение № 3 к настоящему Руководству).

92. Для определения максимальных пределов действия при использовании метода смыва тампоном (свабом) допускается применение пересчетного коэффициента, определенного в результате валидации метода смыва по отношению к методу контактных пластин. При этом, пересчетный коэффициент действует только для валидированных условий (используемые питательные среды, типы тампонов и пр.)

93. Максимальные пределы действия для оснащенного состояния устанавливаются производителем самостоятельно на основании анализа рисков и исторических данных.

## 8. Уровни тревоги и действия

94. Уровни тревоги и действия для объектов мониторинга устанавливают индивидуально, опираясь на результаты квалификации (валидации) и анализа имеющихся исторических данных текущего мониторинга, учитывая установленные в приложении № 1 к Правилам производственной практики максимальные пределы уровней действия для микробной контаминации.

95. Корректно установленные уровни тревоги и действия позволяют обеспечить раннее выявление неблагоприятных тенденций.

96. Существуют разные пути интеграции уровней тревоги и действия в программу мониторинга. В одном случае, максимальный предел действия дополняется уровнем тревоги, установленном на основе исторических данных. В другом случае, максимальный предел действия может быть дополнен двумя контрольными уровнями – тревоги и действия.

97. Для критических производственных помещений (зон) асептического процесса целесообразно использовать одно значение контрольного уровня, которое одновременно является уровнем тревоги и уровнем действия.

98. Применение уровней тревоги и действия должно осуществляться в соответствии с письменной процедурой. Для обеспечения постоянства в анализе уровней тревоги и (или) действия, необходимо заранее определить логические шаги расследования и (или) корректирующих действий. Записи должны свидетельствовать о том, что любое превышение было оценено и что имело место соответствующее последующее наблюдение.

#### 8.1. Определение числовых значений уровней тревоги и действия при отсутствии исторических данных

99. На начальном этапе, при отсутствии исторических данных, уровни тревоги и действия могут быть определены как процент от максимального предела действия, установленного на основе анализа рисков с учетом результатов квалификации (валидации).

Примеры возможных вариантов уровней тревоги и действия приведены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

#### Пример значений уровней тревоги и действия (вариант 1)

Класс чистоты	Нормативные значения	Уровень действия (75 % от максимального предела действия)	Уровень тревоги (50 % от максимального предела действия)
Воздух (седиментация, КОЕ/4 часа)			
B	5	4	3
C	50	38	25
D	100	75	50
Воздух (аспирация, КОЕ/м <sup>3</sup> )			

Класс чистоты	Нормативные значения	Уровень действия (75 % от максимального предела действия)	Уровень тревоги (50 % от максимального предела действия)
B	10	8	5
C	100	75	50
D	200	150	100
Поверхности (контактные пластины (диаметр – 55 мм), КОЕ/пластина)			
B	5	4	3
C	25	19	13
D	50	38	25

Таблица 8

Пример значений уровней тревоги и действия (вариант 2)

Класс чистоты	Нормативные значения	Уровень действия (50 % от максимального предела действия)	Уровень тревоги (25 % от максимального предела действия)
Воздух (седиментация, КОЕ/4 часа)			
B	5	3	1
C	50	25	6
D	100	50	13
Воздух (аспирация, КОЕ/м <sup>3</sup> )			
B	10	5	1
C	100	50	13
D	200	100	25
Поверхности (Контактные пластины (диаметр – 55 мм), КОЕ/пластина)			
B	5	3	1
C	25	13	3
D	50	25	6

## 2. Определение числовых значений уровней тревоги и действия на основе накопленных исторических данных

100. Уровни тревоги и (или) действия могут быть получены статистически на основе исторических данных. При таком подходе следует ожидать случайных отклонений от этих уровней на частотах, характерных для конкретной математической модели, используемой при их расчете.

101. В фармацевтической отрасли существует большое разнообразие статистических инструментов для мониторинга процессов и определения контрольных уровней, но следует учитывать сложность в использовании этих инструментов применительно к микробиологическим данным, так как они:

- обычно не имеют нормального распределения;
- часто содержат много нулевых значений;
- обладают высокой вариабельностью;
- сильно рассеяны;

в некоторых случаях доступно только небольшое количество данных (например, когда применяется выборочный контроль).

102. Приемлемые варианты инструментов статистической обработки результатов мониторинга для определения числовых значений уровней тревоги и действия приведены в приложении № 3 к настоящему Руководству.

103. Для исключения слишком высоких значений уровней тревоги и действия при расчете статистическими методами следует исключать данные превышающие максимальные пределы действия.

104. Рассчитанные контрольные уровни рекомендовано пересматривать не реже одного раза в год или с другой установленной программой мониторинга периодичностью, обеспечивающей включение в расчет достаточного количества дополнительных результатов мониторинга.

## 9. Оценка трендов (тренд-анализ)

105. Процедуры мониторинга должны определять подход к оценке трендов. Тренды включают в себя в том числе следующие показатели:

растущее количество выходов за пределы уровней действия или уровней тревоги;

последовательные выходы за пределы уровней тревоги;

регулярные, но отдельные нарушения пределов уровней действия, которые могут иметь общую причину (например, отдельные (единичные) отклонения, всегда происходящие после планового профилактического обслуживания);

изменения типа микробиологической флоры, а также количества и преобладания определенных микроорганизмов. Особое внимание следует уделять обнаруженным микроорганизмам, которые могут указывать на потерю контроля, ухудшение чистоты или на наличие микроорганизмов, которые сложно контролировать, таких как спорообразующие микроорганизмы и плесневые грибы.

106. Оценка трендов позволяет проанализировать долгосрочные изменения в данных микробиологического мониторинга, выявить точки выхода процесса из стабильного состояния и определить направление и интенсивность изменений микробиологического статуса производственной среды. Для визуализации рекомендуется использовать графики распределения результатов.

107. Статистическую оценку данных микробиологического мониторинга производителю следует проводить не реже одного раза в год. Важным моментом является то, что при статистической обработке не учитываются результаты, выходящие за рамки установленных норм.

108. Основные этапы проведения оценки трендов:

сбор данных;

выбор методов анализа;

статистический анализ данных: определение выборки, анализ выборки, сравнительный анализ выборок;

интерпретация результатов проведенного анализа.

109. Результаты оценки трендов являются основанием для разработки корректирующих и предупреждающих действий, направленных на снижение риска контаминации и поддержание приемлемого уровня микробной нагрузки производственной среды.

110. На основании оценки трендов осуществляется расчет уровней тревоги и действия для следующего отчетного периода.

### 1. Рекомендуемые методы оценки трендов:

#### Анализ контрольной точки

111. Данный метод графически описывает микробную нагрузку в определенной точке контроля в определенный момент времени, и наглядно демонстрирует выход точки за установленные уровни. Для визуализации используют графики распределения результатов с изображением (линиями) уровней тревоги и действия, а также максимально допустимого предела микробной контаминации.

#### Частота обнаружения

112. Для асептического производства может быть использован метод обнаружения случайных колебаний от устойчивых тенденций описанный в Фармакопее США, как одной из основных фармакопей в соответствии с Концепцией гармонизации фармакопей государств – членов Евразийской экономической комиссии, утвержденной Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 22 сентября 2015 г. № 119. Метод позволяет оценить данные по факту роста, определив процентное отношение образцов с любыми проростами к общему количеству отобранных проб.

Например, частота обнаружения, равная 1 %, будет означать, что только 1 % отобранных проб имеет какую-либо контаминацию, независимо от количества колоний (99 % отобранных проб полностью свободны от контаминации).

Показатель «частота обнаружения» рассчитывается по формуле:

$$\frac{\text{Количество ненулевых результатов}}{\text{Общее количество результатов}} \times 100 \%$$

Для оценки тренда используют сравнение показателя с предыдущим периодом.

Производители нестерильных лекарственных средств также могут использовать принцип данного метода для установления критериев частоты обнаружения (например, определенных видов микроорганизмов в производственной среде и др.).

#### Подход предельного значения (процентиль)

113. Подход предельного значения (процентиль) описан в приложении № 3 к настоящему Руководству.

#### Подход, основанный на модели нормального распределения (Правило 3 $\sigma$ )

114. Подход, основанный на модели нормального распределения описан в приложении № 3 к настоящему Руководству.

#### Карты Шухарта.

115. Метод построения контрольной карты Шухарта описан в приложении № 3 к настоящему Руководству.

## Обзор видового разнообразия

116. Метод позволяет выявить причины контаминации на производстве.

### 10. Идентификация микроорганизмов

117. Идентификация микроорганизмов – это определение принадлежности отдельных популяций микроорганизмов к виду, роду, семейству на основе изучения культуральных, морфологических, тинкториальных, биохимических и других свойств.

118. Идентификация играет важную роль при оценке потенциального влияния микроорганизмов, выявленных в ходе мониторинга, на стабильность соответствующих условий производственной среды и качество продукта.

119. Степень необходимой детализации свойств микроорганизмов, зависит от класса чистоты помещения (зоны), из которого микроорганизмы выделены и представлена в таблице 9:

Таблица 9

## Степень идентификации микроорганизмов, выделенных из производственной среды

Класс чистоты	Идентификация культуры				
	при значении до уровня тревоги	при превышении уровня тревоги	при превышении уровня действия / максимального предела микробной контаминации	при выделении спорообразующих микроорганизмов	при выделении плесневых грибов
A, B*	идентификация до вида				
C, D**	–	по культуральным, морфологическим признакам	идентификация до рода (вида)	по культуральным, морфологическим, тинкториальным признакам	по культуральным, морфологическим признакам

\*Микроорганизмы, обнаруженные в зонах классов А и В, следует идентифицировать до их биологического вида. Следует оценить потенциальное влияние таких микроорганизмов на качество продукта (для каждой затрагиваемой серии), а также на общее состояние контроля.

\*\*Следует уделить внимание идентификации микроорганизмов, обнаруженных в помещениях (зонах) классов чистоты С и D (например, когда превыщены пределы действия или уровни тревоги) или после выделения микроорганизмов, способных указывать на потерю контроля, ухудшение чистоты, а также при выделении микроорганизмов, которыми трудно управлять (например, спорообразующие микроорганизмы или плесневые грибы). Такие работы следует проводить с достаточной частотой для поддержания соответствующего понимания в отношении типичной флоры, представленной в этих зонах. Частоту проведения идентификации микроорганизмов следует обосновать и прописать во внутренних процедурах.

120. Репрезентативные локальные изоляты (далее – локальные изоляты), выделяемые из производственной среды, могут использоваться при контроле питательных сред, применяемых для мониторинга производственной среды, валидационных испытаниях, контроле антимикробной эффективности дезинфицирующих средств, и др.

121. Рекомендуется дополнить рабочую коллекцию патогенов, депонированных в коллекциях и депозитариях микроорганизмов, указанных в Фармакопее Союза, локальными изолятами.

122. Для каждого локального изолята следует оформить паспорт (спецификацию), который должен содержать информацию о дате выделения и видовых свойствах, а также может содержать его визуализацию (например, фотографию выделенного микроорганизма).

123. Локальные изоляты должны принадлежать тем видам возбудителей, возможность осуществления деятельности с которыми подтверждена соответствующей лицензией (если применимо).

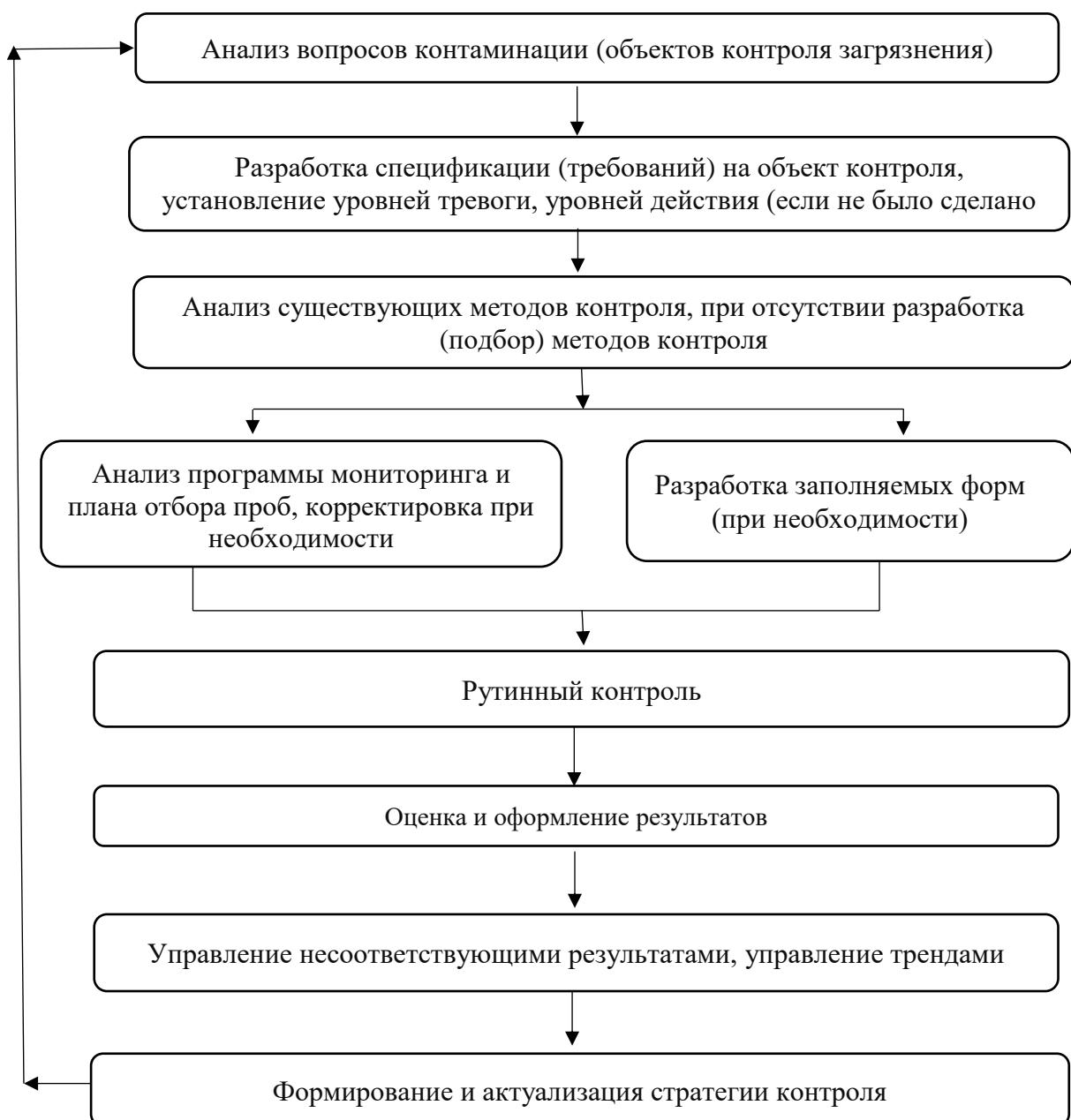
124. Ведение и использование локальных изолятов следует осуществлять в соответствии с установленными процедурами ведения и использования рабочей коллекции патогенов.

125. В целях определения сезонных трендов, появления новых видов микроорганизмов и др. следует установить периодичность обзора выявляемых микроорганизмов.

## Приложение № 1

к Руководству по организации и  
проведению микробиологического  
мониторинга производственной среды  
для производителей стерильных и  
нестерильных лекарственных средств

### БЛОК – СХЕМА внедрения стратегии контроля контаминации на предприятии



## Приложение № 2

к Руководству по организации и  
проведению микробиологического  
мониторинга производственной среды  
для производителей стерильных и  
нестерильных лекарственных средств

### МЕТОД СЕТКИ

1. Разбить чистое помещение (зону) на равное количество секций с одинаковыми площадями. Количество секций зависит от площади чистого помещения (зоны) и определяется как минимальное количество точек отбора проб.

Если в анализе рисков не определены другие критерии, то количество точек отбора должно быть определено исходя из следующих условий:

количество точек отбора проб воздуха:

$N/3$ , но не менее одной (согласно таблице 1);

количество точек отбора проб с поверхности:

$3 + N/3$  в каждой рабочей зоне,

где

$N$  – минимальное количество точек отбора проб в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14644-1 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Часть 1. Классификация чистоты воздуха по концентрации частиц».

Таблица 1

Рекомендуемое минимальное количество точек отбора проб воздуха

Площадь чистого помещения (зоны), м <sup>2</sup>	Минимальное количество точек отбора
≤ 8	1
> 8 ≤ 28	2
> 28 ≤ 52	3
> 52 ≤ 68	4
> 68 ≤ 104	5
> 104 ≤ 148	6
> 148 ≤ 232	7
> 232 ≤ 436	8
> 436 ≤ 1000	9
> 1000	рассчитывается по формуле*

\* минимальное количество точек отбора рассчитывается по формуле:

$$N_L = \frac{(27 \times \left(\frac{A}{1000}\right))}{3},$$

где:

$N_L$  – минимальное количество точек отбора проб, подлежащих оценке, округленное до следующего целого числа;

$A$  – площадь чистого помещения (зоны), м<sup>2</sup>.

2. Подготовить информацию (в форме таблицы или иной форме) об операциях, проводимых внутри каждой секции. На данном этапе может возникнуть необходимость группировки секций в функциональные блоки, так как определение точек контроля в каждой секции для некоторых помещения может быть непрактичным и не учитывать взаимозависимости этапов производственного процесса. Поэтому рекомендуется, чтобы отдельные секции были сгруппированы в функциональные блоки, которые охватывают различные схожие

производственные процессы (например, блок наполнения линии наполнения или блок управления технологическим процессом).

3. Определить расположение точек контроля на основании анализа рисков.

При проведении анализа рисков следует учитывать положения подразделов 1 и 2 раздела 4 настоящего Руководства.

В ходе анализа рисков может возникнуть потребность определения в периметре выделенных секций дополнительных точек контроля в местах, которые признаны критическими. Дополнительные секции и точки контроля могут быть получены путем разделения секции на одинаковые площади.

## Приложение № 3

Руководство по организации и  
проведению микробиологического  
мониторинга производственной среды  
для производителей стерильных и  
нестерильных лекарственных средств

### **МЕТОДЫ РАСЧЕТА ПРЕДЕЛОВ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ**

#### **1. Подход предельного значения (процентиль)**

1. Процентиль является применяемым в статистике показателем, указывающим значение, ниже которого лежит данный процент полученных результатов из выборки. То есть, процентиль – это определенная часть выборки, включающая значения ниже установленного максимального предела действия или равное ему. Например, 95-й процентиль – это показатель, ниже которого находится 95 % полученных результатов, не превышающих установленный максимальный уровень предела действия.

2. Процентиль напрямую влияет на порог приемлемости, ниже которого результат мониторинга считается частью ожидаемой изменчивости. Например, если в рамках мониторинга выполняется 100 испытаний в год, 99-й или 95-й процентили будут означать, что соответственно ожидается превышение контрольного уровня у 1 или 5 значений, даже если контролируемая среда совершенно стабильна.

3. Уровни тревоги и действия следует рассчитывать на основе исторических данных за установленный программой мониторинга период.

При расчете процентиелей следует исключать данные превышающие максимальные пределы действия для исключения слишком высоких значений уровней тревоги и действия.

Процентиль рассчитывается по формуле:

$$P(x) = \frac{n}{N} \times 100,$$

где:

$P(x)$  – процентиль,  $x$  – расчетный показатель;

$n$  – количество значений ниже « $x$ »;

$N$  – общее количество значений.

По результатам ранее проведенных исследований по микробиологическому мониторингу оптимальными (без дополнительных обоснований) являются следующие значения процента:

для уровней тревоги:

$k = 0,975$  (97,5 процентиль) или  $k = 0,95$  (95 процентиль);

для уровней действия:

$k = 0,9985$  (99,85 процентиль) или  $k = 0,99$  (99 процентиль).

Выбор иного значения процента, используемого в расчетах, следует обосновать в программе мониторинга.

4. Если уровни, рассчитанные через процентиль, опускаются ниже установленных программой мониторинга значений (например, указанных в таблицах 7 и 8 настоящего Руководства), то для оценки трендов следующего периода следует использовать табличные уровни тревоги (действия). Сравнение уровней, рассчитанных через процентили

с табличными значениями, предотвращает установку слишком низких уровней, которые не представляют ценности для оценки трендов.

## 2. Подход, основанный на модели нормального распределения (Правило $3\sigma$ )

5. Правило  $3\sigma$ , или правило трех стандартных отклонений, является статистическим инструментом, который используется для определения величины отклонения наблюдаемой переменной от среднего значения.

Данный подход рекомендован к применению только в случае наличия большого количества данных (более 100 точек) и модель распределения соответствует нормальному распределению. Уровни тревоги и действия устанавливаются исходя из расчета среднего значения.

6. Правило  $3\sigma$  может быть применено к любым данным, которые имеют нормальное распределение.

7. Правило  $3\sigma$  позволяет идентифицировать значения, которые находятся далеко от среднего значения и могут быть выбросами. Это помогает выявить аномалии в данных и потенциальные проблемы.

8. Правило  $3\sigma$  имеет ограничения:

а) предположение о нормальном распределении. Правило  $3\sigma$  основано на предположении, что данные имеют нормальное распределение. Если данные не соответствуют этому предположению, то правило может давать неточные результаты;

б) ограниченность интерпретации. Правило  $3\sigma$  позволяет определить вероятность нахождения значений в определенном диапазоне, но не дает точных численных значений. Это ограничивает его применение в некоторых случаях, где требуется точная оценка вероятности;

в) зависимость от объема выборки. Правило  $3\sigma$  может давать разные результаты в зависимости от объема выборки. Чем больше выборка, тем более точные результаты можно получить с помощью правила  $3\sigma$ .

г) не учитывает другие факторы. Правило  $3\sigma$  не учитывает другие факторы, которые могут влиять на данные. Оно рассматривает только разброс значений относительно среднего значения, не учитывая возможные систематические ошибки или влияние других переменных.

Нормальное распределение рассчитывается по формуле:

$$\varphi(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}},$$

где:

$\pi$  – число пи 3,142;

$e$  – основание натурального логарифма 2,718;

$m$  – математическое ожидание (среднеарифметическое значение выборки);

$\sigma^2$  – дисперсия;

$\sigma$  – величина среднеквадратического отклонения;

$x$  – значение, для которого рассчитывается плотность вероятности.

Построенный график нормального распределения будет иметь вид колбообразной кривой (как показано на рисунке 1), на котором будут отмечены диапазоны  $\pm\sigma$ ,  $\pm 2\sigma$ ,  $\pm 3\sigma$ .

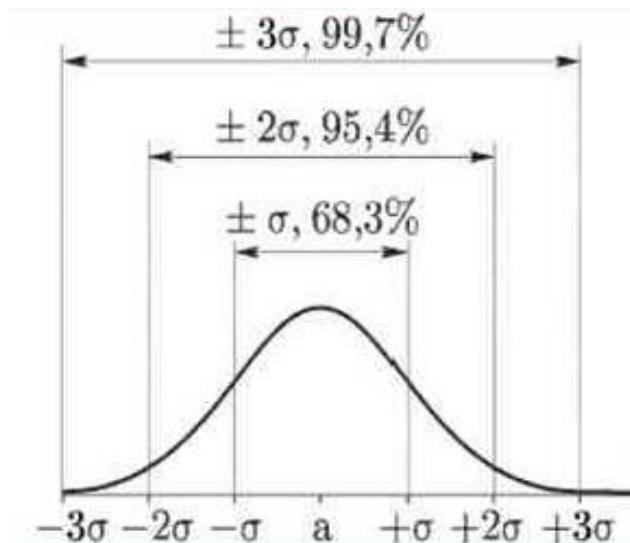


Рисунок 1. График нормального распределения

Уровень действия =  $M \pm 3\sigma$ . Уровень тревоги =  $M \pm 2\sigma$

Наложив экспериментальные результаты на график плотности значения микробиологического мониторинга, можно оценить распределение полученных результатов. При нормальном распределении приблизительно 99,7 % всех значений лежат в пределе  $3\sigma$  от математического ожидания (среднего значения), около 95 % – в пределах  $2\sigma$ , а примерно 68 % значений лежат в пределах всего  $\sigma$ .

Значения  $2\sigma$ , как правило, являются уровнем действия.

### 3. Карты Шухарта

9. Цель построения контрольной карты Шухарта (далее – карта Шухарта) – выявление точек выхода процесса из стабильного состояния для последующего установления причин появившегося отклонения и их устранения. Задачи построения карты Шухарта – определить границы системной вариативности процесса, спрогнозировать поведение процесса в ближайшем будущем на основе прошлых данных о процессе.

10. Карта Шухарта имеет центральную линию, соответствующую среднему значению характеристики, две статистические определяемые контрольные границы относительно центральной линии, которые называются верхней контрольной границей и нижней контрольной границей. Контрольные границы на карте Шухарта находятся на расстоянии  $\pm 3\sigma$  от центральной линии, где  $\sigma$  – генеральное стандартное отклонение используемой статистики.

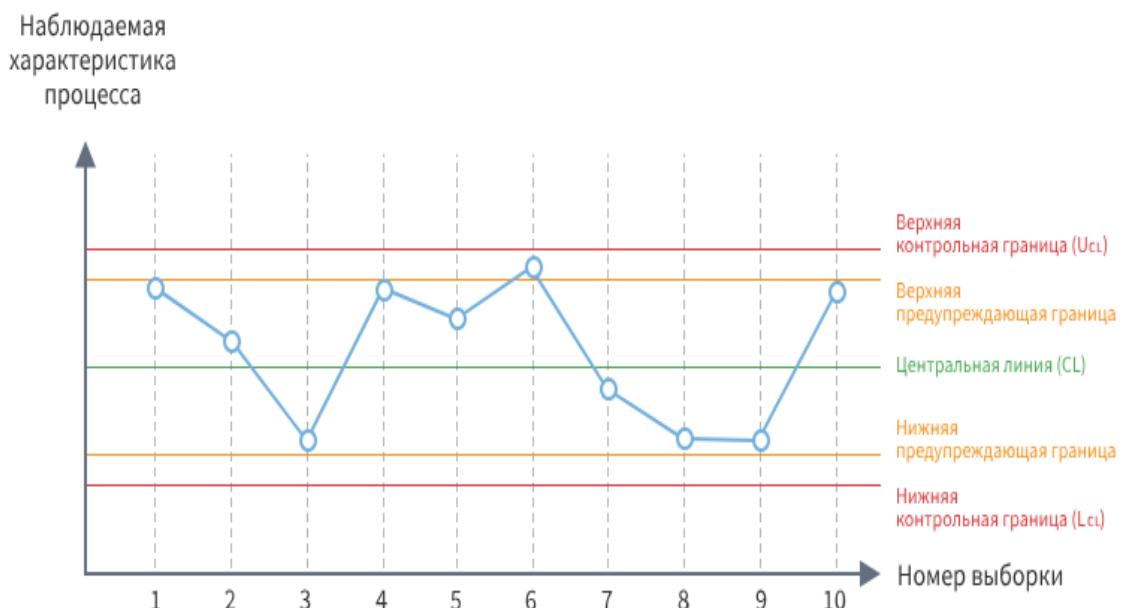


Рисунок 2. Контрольная карта Шухарта

11. Карты Шухарта позволяют оценить, кроме распределения значений и их симметричность, наличие отклонений от трендов (OOT).

Признаками ОOT являются:

- девять точек подряд в зоне  $\pm \sigma$  или по одну сторону от центральной линии;
- шесть возрастающих или убывающих точек подряд;
- четырнадцать попаременно возрастающих или убывающих точек;
- две из трех последовательных точек в зоне  $\pm 3\sigma$ ;

- д) четыре из пяти последовательных точек в зоне  $\pm 2\sigma$  или вне ее;
- е) пятнадцать последовательных точек в зоне  $\pm \sigma$  выше и ниже центральной линии;
- ж) восемь последовательных точек по обеим сторонам центральной линии и ни одной в зоне  $\pm \sigma$ .

Производитель может для оценки ООТ применять не все признаки, а выбрать отдельные их комбинации.

12. Результаты микробиологического мониторинга, согласно накопленному опыту, имеют распределение отличное от нормального, которое характеризуется следующим:

гистограмма данных не имеет формы колокола, а имеет более скошенную или ярко-выраженную асимметричную форму;

коэффициент асимметрии больше или меньше 0;

высокий коэффициент эксцесса;

р-значение теста Шапиро-Уилка (статистический тест на нормальность данных) меньше выбранного уровня значимости (обычно 0,05).

При распределении отличном от нормального в диапазоне  $\pm 3\sigma$  может находиться лишь 88 % вместо 99,7 % всех значений. В этом случае следует провести оценку рисков с учетом влияния производственной среды на качество выпускаемой продукции, оценить корреляцию между микробной контаминацией производственной среды и микробиологической чистотой производимых лекарственных средств.

#### 4. Подход, на основе оценки исторических данных микробной контаминации

13. Для всех объектов контроля в классах чистоты B, C, D: уровень тревоги определяется по формуле:

$$C_{cp} + 3\sqrt{C_{cp}},$$

где:

$C_{cp}$  – среднее значение КОЕ за максимально возможный промежуток времени (не менее 100 значений);  
уровень действия определяется по формуле:

$$C_{cp} + 6\sqrt{C_{cp}},$$

где:

$C_{cp}$  – среднее значение КОЕ за максимально возможный промежуток времени (не менее 100 значений).

---