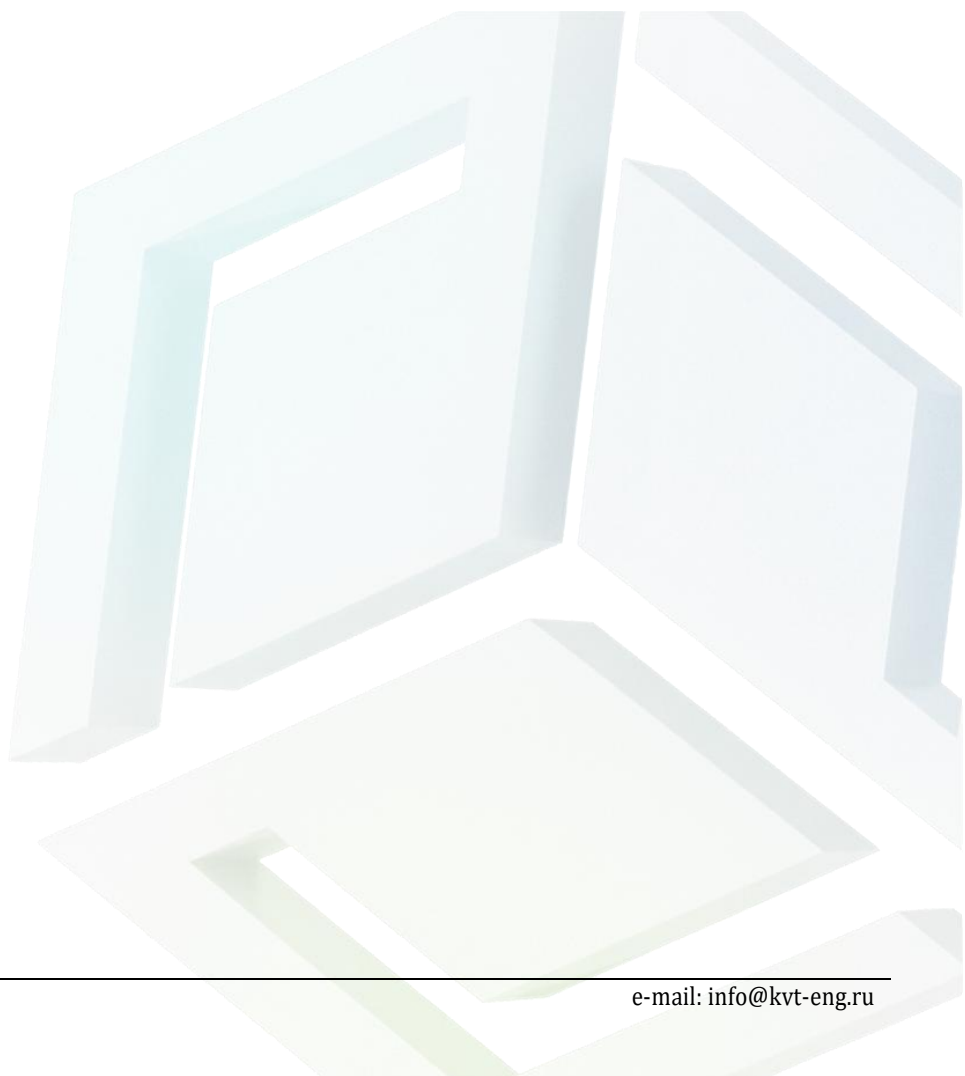


ПРИМЕНЕНИЕ ИЗОЛЯТОРОВ С ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ И ЛАМИНАРНЫМ ПОТОКОМ ВОЗДУХА ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА И ТЕСТИРОВАНИЯ НА СТЕРИЛЬНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ОПАСНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

*Практическое руководство по интеграции асептических принципов
GMP и требований герметичности при работе с НРАPI*

Москва, 2026 год



Оглавление

1. Раздел 1: Введение. Дилемма асептики и герметизации при производстве опасных лекарственных средств.....	3
1.1. Регуляторный контекст и суть конфликта (асептика vs герметизация).....	3
1.2. Токсикологическая оценка рисков и расчет PDE по Решению Коллегии ЕЭК № 1	3
1.3. Концептуальное решение — изолирующие технологии с отрицательным давлением	4
2. Раздел 2: Анатомия изолирующей системы с отрицательным давлением.....	6
2.1. Конструктивные особенности и прочность корпуса.....	6
2.2. Организация воздушных потоков (UDAF) и зонирование	6
2.3. Аэродинамические перепады давления и скорость отсечения	6
2.4. Система безопасной вытяжной фильтрации (BIBO — Bag-In/Bag-Out).....	7
2.5. Устройства герметичной передачи материалов (RTP и шлюзы)	7
2.6. Системы ручного доступа (рукава-перчатки) и контроль их целостности.....	8
3. Раздел 3: Технологические процессы в изоляторах при производстве опасных стерильных лекарственных средств.....	8
3.1. Асептическое наполнение (розлив) и предварительная укупорка.....	8
3.2. Процесс лиофилизации (сублимационной сушки) HPAPI.....	9
3.3. Закатка (обкатка) алюминиевых колпачков (Capping/Crimping).....	10
3.4. Имитация асептического процесса (Media Fill) для опасных ЛС.....	11
4. Раздел 4: Проведение теста на стерильность опасных лекарственных средств в лаборатории контроля качества (QC).....	11
4.1. Применение изоляторов с отрицательным давлением в лаборатории контроля качества.....	12
4.2. Метод мембранной фильтрации как приоритетное решение	12
4.3. Устранение и нейтрализация антимикробного действия HPAPI.....	12
4.4. Валидация циклов VHP-деконтаминации и безопасность процесса	13
5. Раздел 5: Квалификация, мониторинг и техническое обслуживание изолирующих систем.....	14
5.1. Трехстадийная квалификация изолятора (IQ, OQ, PQ)	15
5.2. Контроль герметичности и целостности перчаточных систем	15
5.3. Непрерывный мониторинг производственной среды (Grade A).....	15
5.4. Валидация удержания пыли по методике SMEPAC	16
Заключение	16
6. Список использованных источников.....	17

1. Раздел 1: Введение. Дилемма асептики и герметизации при производстве опасных лекарственных средств

1.1. Регуляторный контекст и суть конфликта (асептика vs герметизация)

Промышленное производство стерильных лекарственных препаратов, содержащих опасные вещества (такие как гормоны, стероиды, цитотоксины и цитостатики), регулируется на стыке жестких требований **Правил GMP ЕАЭС** (утвержденных Решением Совета ЕЭК № 77), специализированных требований по биобезопасности (**Рекомендация Коллегии ЕЭК № 9**) и руководства по асептическим процессам (**Рекомендация Коллегии ЕЭК № 6**).

Главная сложность заключается в разрешении фундаментального регуляторного и инженерного конфликта между требованиями стерильности и биобезопасности:

- **Принципы асептики:** для защиты стерильного продукта от внешней микробной и механической контаминации чистые производственные зоны ЕАЭС стандартно требуют поддержания **положительного перепада давления (избыточного давления)** в диапазоне 10–15 Па между смежными помещениями различного класса чистоты (принцип движения воздуха «изнутри наружу»).
- **Принципы герметизации (Containment):** правила работы с опасными веществами требуют предотвращения их распространения за пределы технологического оборудования для защиты оператора и окружающей среды. Это достигается за счет поддержания **отрицательного давления (разрежения)** в рабочей зоне относительно смежных помещений (принцип движения воздуха «снаружи внутрь»).

Исторически этот конфликт решался сложными каскадами давлений, шлюзованием и применением тяжелых средств индивидуальной защиты (СИЗ). Согласно Правилам GMP ЕАЭС, выделение изолированных производственных участков является обязательным, если риски перекрестной контаминации невозможно контролировать техническими мерами, если данные токсикологической оценки не подтверждают возможность контроля рисков (например, для высокосенсибилизирующих материалов, таких как бета-лактамы), или если пределы остаточных количеств невозможно определить валидированным аналитическим методом. В качестве наиболее эффективного современного стандарта для одновременного обеспечения асептики и герметизации GMP и Рекомендация № 9 устанавливают использование **барьерных изолирующих технологий**.

1.2. Токсикологическая оценка рисков и расчет PDE по Решению Коллегии ЕЭК № 1

Выбор стратегии сдерживания (сдерживающего барьера) опирается на строгий научный анализ фармакологических и токсикологических данных по конкретным АФС. Основными критериями оценки рисков являются степень профессиональной экспозиции персонала (**OEL**) и допустимая ежедневная экспозиция (**PDE / ADE**).

В соответствии с **Решением Коллегии ЕЭК № 1 от 14.01.2020**, показатель PDE представляет собой специфичную для конкретного вещества дозу, которая гарантированно не вызовет негативных последствий при ежедневном применении в течение всей жизни человека. Данный показатель рассчитывается по формуле:

$$PDE = (NOAEL \times \text{Масса тела}) / (F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5)$$

где:

- **NOAEL** (No-Observed Adverse Effect Level) — наибольшая доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта в эксперименте на животных. В случаях, когда значение NOAEL не

установлено, допускается использовать **LOAEL** (наименьшую дозу, оказывающую эффект) с введением дополнительного коэффициента вплоть до 10.

- **Масса тела** — для расчета дозы, переведенной на человека, по умолчанию принимается стандартное значение массы тела в **50 кг**.
- **F1–F5** — поправочные коэффициенты, учитывающие межиндивидуальную и межвидовую экстраполяцию, длительность исследований, тяжесть токсических реакций и неопределенность при отсутствии дозы, не оказывающей эффекта.

Особые случаи, регламентируемые Решением № 1:

- **Беспороговые генотоксиканты:** для мутагенных действующих веществ без выраженного порога токсикологической угрозы допускается применять предельную дозу **ТТС** (Threshold of Toxicological Concern), равную **1,5 мкг/индивид/сутки**. При экспозиции продуктивных животных этот порог пересчитывается как 0,03 мкг/кг массы тела в день с обязательным подтверждением безопасности для потребителей через моделирование наихудших сценариев.
- **Терапевтические макромолекулы и пептиды:** белковые препараты подвержены быстрой деградации и денатурации под воздействием тепла и экстремальных значений pH. В связи с потерей фармакологической активности при стандартной очистке оборудования, расчет PDE для валидации очистки таких АФС в активной форме часто не требуется.
- **Документирование:** обоснование выбора критического эффекта, доз и поправочных коэффициентов должно выполняться квалифицированным токсикологом и оформляться в виде отчета (стратегии), а на титульной странице обязательно размещается стандартизированное резюме обоснования PDE установленной формы.

В соответствии с рекомендациями ISPE, на основе рассчитанного значения ADE (PDE) устанавливается предел профессионального воздействия на рабочем месте (OEL). Для этого применяется допущение, что здоровый работник в течение 8-часовой смены вдыхает около 10 м³ воздуха:

$$OEL \text{ (мкг/м}^3\text{)} = ADE \text{ (мкг/сутки)} / 10 \text{ (м}^3\text{/сутки)}$$

1.3. Концептуальное решение — изолирующие технологии с отрицательным давлением

Внедрение герметичных изолирующих устройств позволяет полностью совместить требования GMP по асептике и правила биобезопасности при работе с HPAI. Согласно **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009** и **ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007**, изолятор представляет собой герметичную конструкцию, обеспечивающую постоянное и абсолютное физическое разделение технологического процесса и оператора с помощью физической оболочки и встроенных перчаточных портов.

Применение этой технологии при производстве опасных ЛС строится на следующих принципах:

- **Зона Grade A (Класс 5 ИСО):** внутренняя камера изолятора обеспечивает класс чистоты А по частицам и микроорганизмам. Подаваемый воздух проходит через высокоэффективные HEPA-фильтры.
- **Отрицательное давление для биобезопасности:** внутри камеры поддерживается устойчивый перепад отрицательного давления относительно окружающего помещения. При малейшем нарушении герметичности (например, микропроколе перчаток) воздух устремляется внутрь со скоростью, достаточной для удержания опасной пыли и аэрозолей (динамический барьер).

- **Окружающая среда:** поддерживающая чистая зона для асептического изолятора обычно должна соответствовать классу чистоты **Grade D (Класс 8 ИСО)**. Однако изолирующие системы, предназначенные для выполнения теста на стерильность в лабораториях контроля качества (**ОФС.1.1.0031**), допускается размещать даже в неклассифицируемом помещении с ограниченным доступом.
- **Защита окружающей среды:** **Рекомендация № 9** строго запрещает прямой выброс вытяжного воздуха из опасных зон в атмосферу без HEPA-фильтрации, а также сброс смывов и стоков оборудования без предварительной инактивации. Вытяжные системы изоляторов оснащаются HEPA-фильтрами с возможностью их безопасной замены без контакта с внешней средой (системы BIBO — Bag-In/Bag-Out).

Таблица 1. Сравнение первичных (C-PEC) и вторичных (C-SEC) средств герметизации (в соответствии с USP General Chapter 800)

Параметр	C-PEC (Containment Primary Engineering Control)	C-SEC (Containment Secondary Engineering Control)
Определение	Первичное техническое средство герметизации — вентилируемое устройство, изолирующее непосредственный процесс манипуляций.	Вторичное средство герметизации — помещение с фиксированными стенами, в котором размещается первичное устройство.
Назначение	Минимизация воздействия опасных веществ на персонал и среду непосредственно в точке контакта.	Локализация и удержание любых загрязнений, вышедших за пределы C-PEC, предотвращение их распространения в соседние зоны.
Основные примеры	Изолирующие системы (изоляторы CACI, LAF), боксы биологической безопасности (BSC), вентилируемые укрытия (CVE).	Буферные чистые комнаты (класс ISO 7 / Grade C/B), воздушные шлюзы (airlocks), зоны типа C-SCA.
Перепад давления	Отрицательное давление во внутренней камере относительно помещения установки.	Отрицательное давление относительно смежных зон (от -2,5 до -7,5 Па или 0,01–0,03 дюйма водного столба).
Воздухообмен	Обеспечение ламинарного (однонаправленного) потока воздуха Grade A в критической зоне.	Кратность воздухообмена (ACPH) для нестерильных зон – не менее 12; не менее 30 ACPH для чистых буферных комнат ISO 7.
Фильтрация и выхлоп	Высокоэффективная HEPA-фильтрация подаваемого и вытяжного воздуха.	Внешняя вентиляция с выбросом воздуха наружу здания через HEPA-фильтры без рециркуляции в общие системы вентиляции.

2. Раздел 2: Анатомия изолирующей системы с отрицательным давлением

2.1. Конструктивные особенности и прочность корпуса

Конструкция изолятора обеспечивает жесткий физический барьер, предотвращающий любой прямой контакт оператора со средой рабочей зоны. Согласно **ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007** и **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009**, изолирующие системы могут проектироваться в двух основных исполнениях:

- **Жесткая конструкция:** корпус изготавливается из нержавеющей стали (обычно AISI 316L) со смотровыми панелями из безопасного закаленного стекла или ударопрочного поликарбоната. Материалы должны быть устойчивы к коррозии, многократной санитарной обработке, а также механически стабильны к деформации в условиях постоянного перепада давления.
- **Гибкая (пленочная) конструкция:** стены изготавливаются из плотных прозрачных полимерных материалов (например, ПВХ или полиуретана). По требованиям **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009**, эластичные стены должны иметь достаточную толщину для предотвращения случайных проколов или разрывов и необходимую гибкость для обеспечения комфортной работы оператора. Ввиду риска повреждения избыточным давлением при проверках, классификационные испытания гибких конструкций на утечку проводят при более низком давлении (обычно 250 Па вместо стандартных 1000 Па для жестких изоляторов).

2.2. Организация воздушных потоков (UDAF) и зонирование

Для надежного поддержания чистоты **Класса Grade A (ИСО 5)** в месте проведения критических технологических операций (например, наполнения флаконов или отбора асептических проб) внутри изолятора организуется **однонаправленный поток очищенного воздуха (UDAF — Unidirectional Air Flow)**. Воздух движется параллельными струями сверху вниз, непрерывно вытесняя механические и жизнеспособные частицы из критической зоны манипуляций.

В соответствии с правилами **GMP ЕС/ЕАЭС (Приложение № 1)** и **Рекомендацией Коллегии ЕЭК № 6**, для классических открытых чистых зон скорость ламинарного потока строго регламентируется в диапазоне **0,36–0,54 м/с**. Однако в закрытых изоляторах с перчаточными системами допускается обоснованное использование однонаправленного потока с меньшими скоростями, если сохранение асептических условий доказано валидационными испытаниями (моделированием процессов и визуализацией потоков). Для этого в обязательном порядке проводится визуализация воздушных потоков с помощью генераторов нейтрального дыма с целью подтверждения отсутствия застойных зон, обратных течений и завихрений у критических точек.

2.3. Аэродинамические перепады давления и скорость отсечения

Безопасность персонала при работе с НРАPI гарантируется постоянным поддержанием отрицательного давления внутри камеры изолятора относительно технологического окружения. Перепад давления непрерывно контролируется датчиками давления, а система автоматизации оснащается светозвуковой аварийной сигнализацией на случай критического снижения разрежения.

Ключевым параметром безопасности при аварийных ситуациях является **скорость отсечения (breach velocity)**. По определению **ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007**, это скорость проходящего через отверстие воздушного потока, достаточная для механического удержания токсичных частиц внутри оборудования в случае внезапной локальной разгерметизации (например, срыва или разрыва перчатки). Согласованная и рекомендуемая минимальная скорость отсечения в центре открытого перчаточного порта составляет **0,5 м/с**. Такой динамический барьер за счет

направленного внутрь потока воздуха гарантированно защищает оператора от вдыхания опасных аэрозолей до момента экстренной остановки оборудования и герметизации порта заглушкой.

2.4. Система безопасной вытяжной фильтрации (BIBO — Bag-In/Bag-Out)

Выброс загрязненного воздуха во внешнюю среду без предварительной очистки категорически запрещен. В изоляторах для работы с опасными веществами воздух очищается на входе и на выходе с помощью высокоэффективных HEPA-фильтров (класса не ниже H14 по ГОСТ EN 1822-1). При **рециркуляции** (если рециркуляции нет, то это требование упраздняется) воздуха внутри системы, чтобы предотвратить накопление опасной пыли, выходящий поток должен последовательно проходить **два набора HEPA-фильтров**.

Замена отработанных вытяжных фильтров представляет опасность для сервисных инженеров из-за скопившейся на фильтровальном материале высокотоксичной пыли HPAPI. Для исключения контакта персонала и загрязнения помещений используется защитная технология **Bag-In/Bag-Out (BIBO)** — замена фильтров «из мешка в мешок»:

1. Фильтродержатель BIBO оснащен специальным фланцем с тройным пазом для крепления прочного полимерного мешка.
2. Загрязненный фильтр выдвигается из рабочего положения непосредственно внутрь мешка без контакта с внешней воздушной средой помещения.
3. Мешок герметично запаивается термоножом (или герметизируется специальными стяжками) в двух точках и разрезается между швами, после чего старый фильтр утилизируется, а новый устанавливается через герметичный остаток старого мешка, который затем безопасно удаляется.

По требованиям **Рекомендации Коллегии ЕЭК № 9**, вытяжной вентилятор системы обязательно устанавливается **после фильтров**. Это гарантирует, что корпус фильтродержателя BIBO постоянно находится под отрицательным давлением, и в случае негерметичности уплотнений воздух будет подсасываться внутрь системы, исключая утечку токсикантов наружу. Для проведения регулярной влажной деконтаминации вытяжные системы оборудуются обводными каналами.

2.5. Устройства герметичной передачи материалов (RTP и шлюзы)

Перенос сырья, стерильных флаконов, инструмента и готовой продукции внутрь изолятора является потенциальным источником контаминации асептической зоны и утечки опасных веществ. Согласно **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009**, перенос реализуется через валидированные передаточные устройства:

- **RTP-порты (Rapid Transfer Ports):** системы быстрого переноса, основанные на технологии стыковки двух герметичных клапанов («альфа»-клапан закреплен на корпусе изолятора, а «бета»-клапан — на мобильном передаточном контейнере). При механическом соединении портов их двери блокируются и открываются как единое целое. Это позволяет осуществлять передачу материалов без малейшего контакта внутренней Grade A зоны с воздухом помещения. RTP-порты снабжаются блокировками, исключающими открытие дверей при нарушении герметичности стыков.
- **Передаточные асептические шлюзы:** используются для материалов, которые невозможно передать через RTP. Шлюзы оборудуются двойными дверями с электромагнитными блокировками (запрет одновременного открытия обеих дверей) и независимой системой быстрой продувки стерильным воздухом для удаления механических частиц и паров деконтаминирующих агентов.

2.6. Системы ручного доступа (рукава-перчатки) и контроль их целостности

Основным средством манипуляции внутри изолятора являются встроенные гибкие устройства доступа — перчатки, рукава и полукостюмы. Они фиксируются на жестких пластиковых или металлических перчаточных портах корпуса. Ограничивающим фактором безопасности всей изолирующей системы является именно перчаточный узел, наиболее подверженный износу и механическим повреждениям.

Для обеспечения непрерывного контроля целостности перчаток правила GMP предписывают проведение их регулярного тестирования. **ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007** описывает специализированные инструментальные методы контроля утечки:

- **Тест падения давления (избыточным давлением):** пальцы перчатки расправляются внутрь камеры изолятора, а на внешнее кольцо перчаточного порта устанавливается герметичный испытательный колпак (тестер). В замкнутом пространстве между колпаком и перчаткой нагнетается давление (в диапазоне от 500 до 1000 Па). После стабилизации манометром фиксируется скорость падения давления. Стабильное давление указывает на целостность материала. Постепенное снижение давления свидетельствует о наличии микропрокола, скорость падения прямо пропорциональна величине дефекта.
- **Тест под разрежением (для изоляторов с отрицательным давлением):** испытания проводятся при падении разрежения (значение падения давления более минус 170 Па). Тенденция к увеличению давления до атмосферного (рост отрицательного значения на манометре в сторону нуля) выявляет дефекты герметичности.
- Замена поврежденных перчаток должна выполняться по валидированной методике «безопасной смены» (например, двухкольцевым методом или с использованием пробочного устройства), позволяющей вытолкнуть старую перчатку новой внутрь камеры изолятора без нарушения герметичности и асептики внутренней среды.

3. Раздел 3: Технологические процессы в изоляторах при производстве опасных стерильных лекарственных средств

Реализация асептического производства лекарственных препаратов, содержащих высокоактивные фармацевтические субстанции (НРАПИ), требует интеграции технологического оборудования в защитные изолирующие системы. Ключевые стадии этого процесса — наполнение, предварительная укупорка, лиофилизация и закатка алюминиевых колпачков — характеризуются высокими рисками как микробного загрязнения продукта, так и воздействия токсичных веществ на персонал.

3.1. Асептическое наполнение (розлив) и предварительная укупорка

Процесс асептического наполнения (розлива) представляет собой критическую операцию, так как это единственный этап после финальной стерилизующей фильтрации, на котором стерильный раствор и контактирующие с ним поверхности первичной упаковки открыты для окружающей среды.

- **Организация критической зоны (Класс Grade A):** Наполнение флаконов, ампул или шприцев должно осуществляться строго внутри изолирующей системы, обеспечивающей условия класса чистоты Grade A. Все манипуляции выполняются под защитой ламинарного одностороннего потока воздуха, который уносит возникающие частицы вниз и в сторону от критической зоны.
- **Ввод стерильных упаковочных материалов:** Подача пустых стерильных флаконов на линию розлива должна быть организована так, чтобы не нарушать непрерывность среды

Grade A. Для этого используются встроенные туннели депирогенизации или герметичные системы передачи (RTP-порты, VHP-шлюзы деконтаминации).

- **Подача укупорочных средств (резиновых пробок):** Стерилизованные пробки подаются к узлу укупорки через ориентирующую вибрационную чашу (вибробункер) и направляющий желоб, расположенные в зоне Grade A. Для предотвращения контаминации из-за вмешательства оператора чаши и желоба закрываются защитными экранами или монтируются внутри закрытых перчаточных боксов. Конструкции вибробункеров должны легко демонтироваться для автоклавирувания. Поскольку вибрирующие пробки могут оставлять на металле слой силиконовой смазки, перед автоматическим циклом V-H2O2-деконтаминации поверхности очищают ручным способом.
- **Применение одноразовых систем (Single-Use Systems):** В производстве высокотоксичных ЛС наиболее перспективно использование предварительно стерилизованных одноразовых систем розлива (полимерных мешков для продукта, силиконовых трубок и предустановленных дозирующих игл). Это исключает необходимость проведения сложной и высокорисковой валидации очистки оборудования от следов НРАPI, сводит к минимуму объем ручных сборочных операций в изоляторе и обеспечивает максимальную защиту персонала.
- **Защита при розливе опасных порошков:** Если наполнение производится сухими порошками НРАPI (когда стерильная фильтрация раствора невозможна), дозирование сопровождается интенсивным пылением. В этом случае скорость однонаправленного потока воздуха может быть снижена (ниже стандартных 0,45 м/с), чтобы исключить раздувание порошка, а система вытяжки изолятора дооборудуется локальными уловителями пыли.

3.2. Процесс лиофилизации (сублимационной сушки) НРАPI

Леофилизация представляет собой физико-химический процесс сушки термолабильных продуктов путем замораживания, сублимации (первичной сушки) и десорбции (вторичной сушки) под глубоким вакуумом. При работе с опасными веществами этот процесс является технологическим продолжением асептического розлива и сопряжен с серьезными рисками:

- **Частичная укупорка флаконов (Stoppering):** При размещении резиновых пробок на линии наполнения они не утапливаются полностью в горловину флакона. Специальная конструкция пробки (с прорезями) позволяет парам растворителя свободно выходить из флакона в процессе сублимации. В таком «полуукупоренном» состоянии продукт остается открытым и уязвимым.
- **Транспортировка и загрузка в сублиматор:** Перемещение частично укупоренных флаконов от наполняющей машины к полкам леофилизатора должно осуществляться **строго в условиях Grade A**. Лучшей практикой является использование автоматических бесконтактных систем загрузки (транспортеров и толкателей), полностью изолированных от оператора жесткими экранами изолятора или RABS. Ручные операции с открытыми противнями несут риски механической нестабильности флаконов и микробной контаминации, поэтому требуют обязательного обоснования в CCS (Contamination Control Strategy).
- **Укупоривание внутри камеры (Stoppering-in-Place):** По завершении цикла сушки, до открытия дверцы леофилизатора и нарушения вакуума, флаконы должны быть герметично закрыты. Это достигается за счет автоматического сжатия подвижных полок сублимационной камеры гидравлическим или механическим приводом, который полностью вдавликает пробки во флаконы. Шток механизма укупоривания, выдвигаемый в камеру из технической зоны, должен быть защищен стерильным сильфоном во избежание контаминации.

- **Сброс вакуума (Venting):** Вакуум в камере лиофилизатора сбрасывается путем подачи стерильного воздуха или инертного газа (например, азота), прошедшего фильтрацию через гидрофобный стерилизующий фильтр с размером пор не более 0,22 мкм. Целостность этого фильтра должна проверяться методом точки пузырька или диффузии **после каждого рабочего цикла**.
- **Риск боя флаконов и контаминации камеры:** Если в процессе замораживания или сушки флакон с НРАPI трескается или падает, происходит химическое загрязнение внутренних поверхностей камеры, полок и вакуумных трубопроводов лиофилизатора. Это создает риск переноса токсичного загрязнения (carry-over) на последующие серии. В связи с этим: системы вакуумного удаления комплектуются сухими безмасляными насосами; камера сублиматора проектируется с наклоном дна для обеспечения полного стока моющих растворов; камера обязательно оборудуется автоматической системой безразборной мойки (CIP/WIP) и стерилизации паром (SIP).
- **Режимы стерилизации и кампания:** Стерилизация лиофилизатора должна проводиться регулярно. При традиционном производстве сушилка стерилизуется перед каждой загрузкой. При защите процесса закрытыми барьерами допускается работа кампаниями (несколько циклов одного продукта без промежуточной стерилизации), если данный режим прошел строгую валидацию, подтверждающую отсутствие накопления загрязнений.

3.3. Закатка (обкатка) алюминиевых колпачков (Capping/Crimping)

Флакон с резиновой пробкой не считается герметичным барьером до тех пор, пока на его горловину не будет надет и завальцован алюминиевый колпачок. Обжим колпачка должен выполняться как можно быстрее после выгрузки флаконов из лиофильной камеры или с линии наполнения жидких ЛС.

- **Проблема генерации частиц:** Процесс механического обжима алюминия сопровождается интенсивным истиранием металла и выделением большого количества нежизнеспособных металлических частиц (пыли). Из-за этого узел закатки колпачков является мощным дестабилизатором воздушной среды чистых помещений.
- **Инженерные варианты размещения закаточного оборудования:**
 1. Внутри асептического изолятора розлива (Grade A): В этом случае алюминиевые колпачки должны быть предварительно стерилизованы, а узел закатки полностью изолирован внутри общей системы. Возникающие частицы непрерывно улавливаются и выводятся из критической зоны направленным ламинарным потоком воздуха и специальными локальными вытяжками, чтобы исключить их попадание в открытые флаконы на этапе розлива.
 2. В отдельном помещении (Grade D или C) с защитой зоны Grade A: Наиболее предпочтительный и безопасный вариант. Укупоренные резиновой пробкой флаконы выводятся из изолятора розлива через специальную щель (мышиную нору). На пути их следования к закаточной машине над конвейером организуется локальный ламинарный поток Grade A. Избыточное давление воздуха из зоны розлива препятствует проникновению металлической пыли от закатки внутрь изолятора. Сами алюминиевые колпачки в этом случае могут не быть стерильными.
- **Контроль качества укупорки (РАТ-технологии):** Современные линии комплектуются автоматическими датчиками для отбраковки дефектной продукции. До выполнения закатки система с помощью лазерных или оптических датчиков высоты контролирует правиль-

ность посадки резиновой пробки. Флаконы с отсутствующей или смещенной пробкой автоматически удаляются с конвейера до момента обжима колпачка во избежание выброса токсичного облака HPAI при механическом контакте с укупорочным ножом.

3.4. Имитация асептического процесса (Media Fill) для опасных ЛС

Валидация асептического розлива и процессов лиофилизации в изолирующих системах обязательно включает проведение тестов с жидкими питательными средами (media fills) вместо реального продукта с целью подтверждения уровня обеспечения стерильности.

- **Имитация лиофилизации опасных веществ:** При проведении Media Fill для лиофилизированных форм запрещается реальное замораживание питательного бульона, так как замерзание приводит к гибели микроорганизмов-контаминантов и делает тест невалидным.

- **Методики моделирования по Рекомендации № 6:**

1. Моделирование с укороченной выдержкой (основной метод): Флаконы заполняются жидкой питательной средой (например, соево-казеиновым бульоном) и полуукупориваются прорезными пробками. Они транспортируются и загружаются в лиофилизатор при комнатной температуре. В камере создается частичный (неполный) вакуум — достаточный для имитации работы систем, но не приводящий к закипанию жидкой среды. Среда выдерживается под разрежением заданное время без заморозки, после чего полки камеры сжимаются, плотно укупоривая флаконы. Далее флаконы выгружаются, закатываются колпачками и отправляются на инкубацию. Данный метод позволяет детально оценить риски контаминации на критических этапах загрузки, вакуумирования и выгрузки.

2. Полная имитация цикла без замораживания: Флаконы выдерживаются в камере под частичным вакуумом при комнатной температуре в течение полного времени, эквивалентного реальному циклу лиофилизации (до нескольких суток). Этот метод чрезвычайно трудоемок и применяется реже.

- **Учет ручных вмешательств:** В протокол Media Fill обязательно включаются все виды плановых и внеплановых ручных манипуляций, выполняемых через перчаточные порты (замена игл розлива, устранение заторов флаконов, ручная установка датчиков температуры/термопар в контрольные флаконы на полках лиофилизатора).
- **Инкубация и учет результатов:** Наполненные флаконы переворачивают горловиной вниз для смачивания пробок и инкубируют при двух температурных режимах (обычно 20–25 °C и 30–35 °C) в течение не менее 14 суток. Появление хотя бы одной помутневшей единицы требует немедленного расследования причин контаминации.

4. Раздел 4: Проведение теста на стерильность опасных лекарственных средств в лаборатории контроля качества (QC)

Контроль стерильности готовой продукции, содержащей высокоактивные и опасные вещества (HPAI), представляет собой сложную аналитическую задачу. В соответствии с требованиями **ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность»**, испытание должно проводиться в асептических условиях класса чистоты **Grade A (ИСО 5)**. При работе с токсичными АФС лаборатория контроля качества (QC) сталкивается с необходимостью обеспечить идеальную защиту продукта от микробной контаминации и одновременно гарантировать безопасность лаборанта-микробиолога от воздействия опасного вещества.

4.1. Применение изоляторов с отрицательным давлением в лаборатории контроля качества

Использование специализированных изолирующих систем является золотым стандартом для проведения теста на стерильность опасных ЛС. Согласно требованиям **ОФС.1.1.0031**, изолирующие технологии предоставляют лаборатории критически важные преимущества:

- **Абсолютный барьер:** Полное физическое разделение контролируемой внутренней среды Grade A и оператора исключает риски перекрестной контаминации образцов и защищает персонал от токсичной пыли и аэрозолей при вскрытии упаковок (флаконов, ампул).
- **Гибкость размещения:** В отличие от чистых комнат класса Grade B, требующих сложной инфраструктуры, изолятор для теста на стерильность может быть установлен в поддерживающем чистом помещении класса **Grade D** или в **неклассифицируемом помещении** с ограниченным доступом персонала. Это оптимизирует затраты на создание и эксплуатацию лаборатории.
- **Отрицательное давление:** В соответствии с **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009**, в то время как стандартные асептические изоляторы работают при избыточном давлении, для работы с опасными и токсичными веществами обязательно проектируются и применяются **изоляторы с отрицательным перепадом давления (разрежением)**. Это гарантирует, что при любом гипотетическом нарушении герметичности корпуса или перчаточного порта воздух из лаборатории будет всасываться внутрь камеры, локализуя токсичные компоненты.

4.2. Метод мембранной фильтрации как приоритетное решение

Для контроля стерильности лекарственных средств, обладающих выраженным антимикробным действием (к которым относится большинство химиотерапевтических и цитостатических препаратов НРАП), а также для растворов в объемах более 100 мл, фармакопея определяет **метод мембранной фильтрации** как наиболее предпочтительный.

- **Суть метода:** Определенный объем испытуемого раствора НРАП фильтруют через мембранные фильтры с номинальным размером пор **0,45 мкм** (внешний диаметр мембраны — 47 мм), способные улавливать бактерии и грибы. В процессе фильтрации растворитель и сама активная субстанция проходят через поры фильтра и удаляются, в то время как возможные микроорганизмы-контаминанты удерживаются на поверхности мембраны.
- **Закрытые фильтрационные системы (канистры):** В изолирующих технологиях испытание проводят с применением замкнутых стерильных систем однократного применения (например, канистр типа Steritailin). Образец закачивается в канистры с помощью встроенного перистальтического насоса. Это исключает этап ручного вырезания и переноса мембраны пинцетом, снижая риск случайной (контаминационной) ошибки лаборанта и предотвращая его контакт с парами и каплями НРАП.
- **Выбор материала мембраны:** Тип мембраны подбирается исходя из химической природы ЛС: нитратцеллюлозные фильтры применяются для водных, масляных и слабоспиртовых растворов; ацетатцеллюлозные фильтры используются для кислот и концентрированных спиртовых сред. Для эффективной отмывки препаратов с выраженным антимикробным действием и снижения сорбции молекул НРАП на фильтрующем элементе применяются мембраны с **гидрофобным краем**.

4.3. Устранение и нейтрализация антимикробного действия НРАП

Многие высокоактивные вещества (особенно противоопухолевые цитостатики) обладают выраженным антибиотическим или цитотоксическим действием, способным ингибировать

рост тест-микроорганизмов, что может приводить к опасным **ложноотрицательным результатам** анализа на стерильность.

Для подтверждения достоверности анализа обязательно проводится **оценка пригодности методики (suitability test)**. В ходе этого испытания фильтруют регламентированный объем образца, после чего в последнюю порцию промывной жидкости вносят жизнеспособную культуру тест-штаммов в количестве **не более 100 КОЕ**. Используется панель тест-микроорганизмов в соответствии с требованиями фармакопеи: аэробные бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*), анаэробные бактерии (*Clostridium sporogenes* или *Clostridium novyi*), грибы (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*).

Если после инкубирования рост тест-штаммов отсутствует или угнетен, антимикробное действие НРАPI считается неинактивным, и лаборатория обязана применить методы его устранения:

- **Промывание фильтра:** Мембрану последовательно промывают стерильными растворителями. Стандартный объем промывки составляет три порции по 100 мл. При сильном антимикробном эффекте объем может быть увеличен, но **не должен превышать 500 мл** во избежание повреждения клеток контаминантов, удержанных мембраной.
- **Выбор промывочной жидкости:**
 - Жидкость № 1 (0,1% раствор ферментативного пептона, pH 7,1 ± 0,2):* Базовый раствор для промывки мембран.
 - Жидкость № 2 (Жидкость № 1 с добавлением 0,1% Твина-80):* Применяется при анализе вязких растворов, ЛС, содержащих лецитин, масла или консерванты.
 - Жидкость № 3 (раствор пептона, мясного экстракта и 1% Твина-80):* Используется для отмытки мазей на вазелиновой основе и жировых эмульсий, предварительно растворенных в стерильном изопропилмиристате.
- **Химическая и ферментативная инактивация:**
 - Для нейтрализации остаточного действия антибиотиков пенициллинового и цефалоспоринового ряда в промывной раствор и непосредственно в среды асептически добавляется раствор **бета-лактамазы**.
 - Для нейтрализации сульфаниламидов в среды до их стерилизации вносят **парааминобензойную кислоту (ПАБК)** в концентрации 0,05–0,1 г/л.
- **Применение универсальной нейтрализующей жидкости:** Если стандартные промывочные среды не позволяют устранить антимикробное действие, допускается использование специального сложного состава, содержащего лецитин (3,0 г/л), Твин-80 (30,0 г/л), L-гистидина гидрохлорид (1,0 г/л), казеиновый пептон и фосфатный буфер.

4.4. Валидация циклов VHP-деконтаминации и безопасность процесса

Перед проведением анализа на стерильность все образцы (флаконы, ампулы), расходные материалы, канистры и инструменты загружаются в изолятор, после чего запускается автоматический цикл **биodeконтаминации парами пероксида водорода (VHP / V-H₂O₂)** для уничтожения микроорганизмов на внешних поверхностях.

Внедрение VHP в отношении тестов со стерильными НРАPI требует проведения специфических валидационных испытаний:

1. Тест на проникновение деконтаминирующего агента: Пары пероксида водорода обладают сильным спороцидным действием. Критически важно подтвердить, что VHP в процессе обработки **не проникает внутрь флаконов с испытуемым ЛС** через закупорочные элементы. В противном случае пероксид инактивирует жизнеспособные микроорганизмы-контаминанты

непосредственно в испытуемом образце. Это приведет к ложноотрицательному результату контроля стерильности всей серии. Данный риск валидируется химическими методами и микробиологическим путем.

2. Валидация эффективности цикла (PQ): Эффективность биодеконтаминации подтверждается трехкратным успешным циклом с использованием биологических индикаторов на основе спор **Geobacillus stearothermophilus** или **Bacillus atrophaeus** с нагрузкой **не менее 10^5 (или 10^6) спор** на носителе. Индикаторы закладываются в труднодоступные места («холодные пятна») камеры и перчаточных рукавов.

3. Безопасность оператора и особенности давления при деконтаминации: Хотя при рутинном проведении теста на стерильность в изоляторе поддерживается отрицательное давление (для удержания токсичных веществ внутри), **в цикле деконтаминации система переводится в режим положительного (избыточного) давления.**

Физическое обоснование: Переход на положительное давление критически важен для обеспечения максимальной проникающей способности паров пероксида водорода. Под действием избыточного давления газообразный агент эффективно проникает во все узкие полости, микрощели, уплотнения передаточных дверей, стыки перчаточных портов и труднодоступные технологические зазоры, гарантируя полную стерилизацию зон.

Риски утечки: Временный перевод изолятора под избыточное давление создает риск утечки высокотоксичного газа VHP наружу — в рабочую зону лаборатории. Для предотвращения вредного воздействия на персонал внедряются строгие барьеры безопасности:

- **Обязательный пре-тест на герметичность (Leak Test):** Перед каждым запуском цикла VHP система автоматизации проводит автоматическую проверку физической герметичности корпуса и перчаток избыточным давлением. Подача стерилизующего газа физически блокируется программой, если тест на герметичность не пройден.
- **Каталитическая деструкция (Catalytic Destruction):** На этапе аэрации (продувки) выходящие пары пероксида водорода пропускаются через каталитические деструкторы, где они мгновенно разлагаются на безопасные воду и кислород. Также допустима продувка от перекиси непосредственно в вытяжной коллектор вентиляции (объем вентиляции часто в 1000 раз превышает объем изолятора, поэтому происходит мгновенное снижение концентрации до безопасных значений).
- **Внешний газовый мониторинг:** Помещение лаборатории QC оснащается стационарными высокочувствительными датчиками паров H_2O_2 . При обнаружении малейших утечек (превышающих порог безопасности в 1 ppm) система включает аварийную световую и звуковую сигнализацию, предупреждая персонал о необходимости покинуть зону.

После успешного завершения фильтрации и промывки канистры заполняются питательными средами: жидкой **тиогликолевой средой (FTM)** (для выявления анаэробов и аэробов) и жидкой **соево-казеиновой средой (SCDM)** (для выявления грибов и аэробных бактерий). Засеянные канистры инкубируют в термостатах при контролируемой температуре в течение **не менее 14 суток.**

5. Раздел 5: Квалификация, мониторинг и техническое обслуживание изолирующих систем

Эксплуатация изолирующих систем для производства и контроля качества стерильных лекарственных средств с опасными АФС требует непрерывного подтверждения их работоспособности. Контроль должен гарантировать, что критические параметры асептики и герметизации

стабильно удерживаются в заданных пределах на протяжении всего жизненного цикла оборудования.

5.1. Трехстадийная квалификация изолятора (IQ, OQ, PQ)

В соответствии с требованиями **ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009** и **ОФС.1.1.0031**, перед запуском в эксплуатацию любая изолирующая система должна пройти полную программу квалификации, состоящую из трех последовательных стадий:

1. Квалификация монтажа (IQ — Installation Qualification): проверка соответствия смонтированного оборудования, трубопроводов, КИПиА и инженерных систем спецификации пользователя (URS). Подтверждение калибровки датчиков. Проверка герметичности уплотнений смотровых панелей, дверей и портов. Контроль правильности установки и проверка на целостность HEPA/ULPA фильтров.

2. Квалификация функционирования (OQ — Operational Qualification): тестирование работоспособности системы управления, блокировок дверей и сигнализации. Определение часовой скорости утечки (физического класса герметичности корпуса) по **ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007**. Проверка поддержания заданного перепада отрицательного давления. Измерение и картирование скоростей UDAF в рабочей зоне класса Grade A. Проведение тестов визуализации воздушных потоков (smoke-test).

3. Квалификация работоспособности (PQ — Performance Qualification): микробиологическая валидация (трехкратное проведение циклов деконтаминации VHP с биологическими индикаторами спор **Geobacillus stearothermophilus** для подтверждения $SAL 10^{-6}$); асептическая валидация (проведение имитационных испытаний с питательными средами Media Fill).

5.2. Контроль герметичности и целостности перчаточных систем

Перчатки, рукава и полукостюмы являются наиболее уязвимыми элементами любого изолятора. Повреждение перчатки ведет к немедленной разгерметизации системы.

- **Методы периодического контроля:** По требованиям стандартов, целостность перчаточных систем должна проверяться физическими методами (например, тестом падения давления на специализированных приборах) **до начала и после окончания каждой рабочей смены** или технологической кампании.
- **Предотвращение критических рисков:** Для опасных АФС значение минимальной скорости отсечения (breach velocity) воздуха через поврежденный порт составляет не менее **0,5 м/с**. В случае разрыва перчатки автоматика изолятора мгновенно увеличивает производительность вытяжных вентиляторов, создавая направленный внутрь воздушный поток, который препятствует выходу токсичного облака HRAPI в зону дыхания оператора.

5.3. Непрерывный мониторинг производственной среды (Grade A)

В процессе работы внутри изолятора должен осуществляться непрерывный технологический и гигиенический мониторинг среды в соответствии с **Приложением № 1 к Правилам GMP ЕАЭС** и **Рекомендацией Коллегии ЕЭК № 6**:

Мониторинг нежизнеспособных частиц: Осуществляется непрерывно с помощью стационарных лазерных счетчиков частиц. Точки изокинетического отбора проб воздуха размещаются в непосредственной близости от мест проведения критических операций (зоны розлива, укупорки, выгрузки из лиофилизатора). Ведется постоянный подсчет частиц размером $\geq 0,5 \mu m$ и $\geq 5,0 \mu m$.

Микробиологический мониторинг: включает в себя использование седиментационных чаш Петри с питательными средами, экспонируемых в критической зоне на протяжении времени работы (до 4 часов); активного аспирационного отбора проб воздуха с помощью импинджеров; контактных пластин (смывов) для контроля чистоты внутренних поверхностей изолятора и перчаток в конце рабочей смены.

Нормативы: Для зоны Grade A допускается содержание **0 КОЕ (CFU)** на любых носителях (воздух, чашки, перчатки), а обнаружение даже одной колонии микроорганизмов требует проведения расследования и дезинфекции.

5.4. Валидация удержания пыли по методике SMEPAC

Если микробиологический мониторинг подтверждает асептику (защиту продукта), то для подтверждения безопасности персонала от воздействия пыли HPAPI может проводиться тестирование по методу **SMEPAC** (в соответствии с руководящими указаниями ISPE):

- **Принцип теста:** Во время выполнения стандартных технологических операций вокруг изолятора размещаются аспирационные насосы со специальными измерительными головками (IOM) для улавливания вдыхаемой фракции частиц.
- **Точки контроля:** Пробы воздуха отбираются в зоне дыхания оператора (персональный пробоотбор), у передаточных портов (RTP), дверей шлюзов и в местах расположения вытяжных фильтров.
- **Анализ и оценка:** Собранные фильтры анализируются методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) или масс-спектрометрии (LC-MS) с целью определения точной концентрации утекшего вещества. Полученные значения сопоставляются с расчетными пределами профессионального воздействия (**OEL / ADE**), установленными на основе токсикологических данных согласно **Решению Коллегии ЕЭК № 1**.

Заключение

Применение изоляторов с отрицательным давлением и однонаправленным ламинарным потоком воздуха — наиболее передовое и надежное инженерное решение, позволяющее полностью устранить конфликт между требованиями асептики (GMP) и герметизации (Containment) при работе с высокоактивными опасными фармацевтическими субстанциями.

Физическое разделение оператора и продукта с помощью жесткого герметичного барьера в сочетании с высокоэффективной двухступенчатой фильтрацией воздуха (системами VIBO) и надежными методами передачи материалов (RTP-портами) обеспечивает:

1. Абсолютную защиту продукта от микробной контаминации в зоне Grade A, что критически важно как при промышленном производстве стерильных ЛС, так и при проведении высокоточных тестов на стерильность в лаборатории контроля качества.

2. Максимальную безопасность персонала, исключаящую воздействие токсичных АФС на здоровье сотрудников даже при возникновении нештатных или аварийных ситуаций.

Несмотря на высокие капитальные затраты на этапе проектирования и закупки изолирующего оборудования, его внедрение существенно снижает последующие эксплуатационные расходы за счет возможности снижения класса чистоты поддерживаемых помещений (до Grade D) и отказа от использования сложных и дорогостоящих средств индивидуальной защиты операторов.

6. Список использованных источников

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность».
2. Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза (Утверждены Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 77).
3. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 21 мая 2020 г. № 9 «Руководство по работе с лекарственными средствами, содержащими опасные вещества».
4. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 1 марта 2021 г. № 6 «Руководство по асептическим процессам в фармацевтическом производстве».
5. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 января 2020 г. № 1 «Руководство по установлению допустимых пределов воздействия на здоровье для целей идентификации рисков при производстве лекарственных средств на общих производственных площадках».
6. Государственная Фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.1.0031 «Изолирующие системы для теста на стерильность».
7. ГОСТ Р ИСО 13408-6-2009 «Асептическое производство медицинской продукции. Часть 6. Изолирующие системы».
8. ГОСТ Р ИСО 13408-1-2000 «Асептическое производство медицинской продукции. Часть 1. Общие требования».
9. ГОСТ Р ИСО 14644-7-2007 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды. Часть 7. Изолирующие устройства (колпаки физического барьера, перчаточные боксы, изоляторы и мини-окружения)».
10. EU Guidelines for Good Manufacturing Practice (GMP) Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products (v.2022).
11. United States Pharmacopeia (USP) General Chapter <800> «Hazardous Drugs - Handling in Healthcare Settings».
12. ISPE Good Practice Guide: Assessing the Particulate Containment Performance of Pharmaceutical Equipment (SMEPAC) (2nd Edition).