

Санитарная микробиология  
воздуха.

Микрофлора воздуха  
производственных помещений  
аптек, фармацевтических заводов.

- Воздух не является естественной средой обитания микроорганизмов.
- В воздухе микроорганизмы не питаются.
- В воздухе микроорганизмы не способны размножаться.
- Сохранение жизнеспособности микроорганизмов в воздухе обеспечивают взвешенные частицы воды, слизи, пыли, частицы почвы.

# **Контаминация воздуха бактериями в закрытых помещениях происходит:**

- за счет аэрозоля при разговоре, кашле, чихании
- со слущивающимся эпителием кожных покровов
- с пылинками одежды и частичками почвы

# Аэрозоль

- представляет собой коллоидную систему, состоящая из капелек влаги и твердых частиц, на которых адсорбированы микроорганизмы
- Размеры частиц аэрозоля — от 10-100 до 2000 нм.
- В зависимости от размера капель и скорости движения в воздухе выделяют - фазы аэрозоля.

# Фазы аэрозоля

- **Капельная фаза** – мелкие капли, длительно сохраняющиеся в воздухе и испаряющиеся до оседания.
- **Пылевая фаза** – крупные капли, быстро оседающие и испаряющиеся капли.

Образующаяся пыль, способная подниматься в воздушную среду.

- **Капельные ядрышки** – мелкие капельки аэрозоля (до 100 нм), высыхая, остаются в воздухе во взвешенном состоянии и образуют устойчивую аэродисперсную систему.

В капельных ядрышках частично сохраняется влага, поддерживающая жизнеспособность микроорганизмов.

- В фармацевтической промышленности используются установленные уровни содержания микроорганизмов в воздухе, связанные с **классом чистоты помещений** –

- А (100)
- В (100)
- С (10000)
- D (100000)

# Классификация чистых помещений для фармацевтических предприятий осуществляется:

- по допустимому содержанию в воздухе помещения взвешенных частиц
- максимально допустимому количеству жизнеспособных микроорганизмов

В соответствии со Стандартом отрасли. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP) (ОСТ 42-510-98).

# **Классификация помещений при производстве лекарственных средств**

<b>Класс чистоты помещений (зон)</b>	<b>Примеры некоторых технологических операций</b>
<b>А (100)</b> "чистые» помещения или зоны с ламинарным потокom воздуха	<p>Асептическое приготовление продуктов, асептическое наполнение и герметизация различных контейнеров, а также различные асептические манипуляции.</p> <p>Наполнение терминально стерилизуемых продуктов при высоком риске контаминации.</p> <p>Внутренняя зона изоляторов для асептического наполнения и герметизации различных контейнеров.</p> <p>Загрузка и выгрузка лиофильных сушилок. Сборка фильтров и съемных узлов оборудования перед стерилизацией.</p>
<b>В (100)</b>	<p>Помещения для размещения зон класса чистоты А(100) при асептическом производстве.</p> <p>Помещения для перемещения и промежуточного хранения в закрытом состоянии полупродуктов или простерилизованных компонентов первичной упаковки при асептическом производстве.</p>



<b>C</b> <b>(10000)</b>	<p><b>Помещения для размещения зон класса чистоты А (100) при производстве терминально стерилизуемых продуктов.</b></p> <p><b>Приготовление продуктов, которые подвергаются стерилизующей фильтрации при асептическом производстве.</b></p> <p><b>Приготовление терминально стерилизуемых продуктов при высоком риске контаминации.</b></p> <p><b>Наполнение терминально стерилизуемых продуктов.</b></p>
<b>D</b> <b>(100000)</b>	<p><b>Помещения для размещения изоляторов.</b></p> <p><b>Приготовление терминально стерилизуемых продуктов.</b></p> <p><b>Подготовка компонентов первичной упаковки и съемных деталей оборудования.</b></p>

- **A** – локальная зона для проведения операций, представляющих высокий риск для качества продукции (зоны дозирования, укупорки емкостей, зоны, где ампулы и флаконы находятся в открытом состоянии, зоны где проводится смешивание в асептических условиях).

**B** – зона, непосредственно окружающая зону **A** и предназначенная для асептического приготовления и наполнения.

**C** и **D** – чистые зоны для выполнения менее ответственных стадий производства стерильной продукции.

- Для зон или помещений классов чистоты А, В и С система снабжения воздухом должна иметь соответствующие фильтры, например, фильтры HEPA.



- Для достижения классов чистоты В, С и D необходима кратность воздухообмена, учитывающая размер помещения, находящееся в нем оборудование и персонал.

**Требования и нормы содержания  
микроорганизмов в воздухе  
производственных помещений  
зависят от вида готового  
продукта и характера  
выполняемых операций.**

# Классы чистоты производственных помещений и допустимое содержание микроорганизмов в воздухе при изготовлении стерильных лекарственных средств

Класс Чистоты Помещений или зон	Максимально допустимое количество частиц в 1 куб.м воздуха размером, мкм				Максимально допустимое кол-во жизнеспособных микроорганизмов в 1 куб.м воздуха
	> 0,5	> 5	> 0,5	> 5	
	Оснащенное состояние		Функционирующее состояние		
<b>A</b>	3500	0	3500	0	<b>Менее 1</b>
<b>B</b>	3500	0	350000	2000	<b>10</b>
<b>C</b>	350000	2000	3500000	20000	<b>100</b>
<b>D</b>	3500000	20000	Не определено		<b>200-500</b>

- Производство **нестерильных лекарственных средств** должно осуществляться в помещениях **классов чистоты С и D**.
- При этом предусматривается нормирование содержания жизнеспособных микроорганизмов в воздухе.
- Нормирование содержания механических частиц, как правило, не предусматривается.
- В развитие ОСТ 42-510 рекомендуется вводить **контролируемые зоны "К"** со следующими фиксируемыми и контролируемыми параметрами технических условий ( кратность воздухообмена, двухступенчатая очистка воздуха, климатические параметры (температура, влажность).

- В помещениях класса чистоты D производства стерильных лекарственных средств допускается не более 200 жизнеспособных микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха.
- В помещениях класса чистоты D производства нестерильных лекарственных средств - не более 500.

**Классы чистоты производственных помещений и  
допустимое содержание микроорганизмов в воздухе при  
изготовлении порошков лекарственных средств (Ангро)**

Класс чистоты	Название помещения, участка, операции	Максимально допустимое содержание микроорганизмов в 1 м <sup>3</sup> воздуха, КОЕ
<b>D</b>	Помещение получения кристаллических продуктов (кристаллизация, фильтрация, промывка порошков) сушки и просева, подготовки материалов первичной упаковки (бидоны, банки, пакеты). Участок фасовки и первичной упаковки порошков.	<b>500</b>
<b>“К”</b>	Остальные производственные помещения и участки.	Рекомендации <a href="#">п. 4.2.</a> настоящих МУ



**Классы чистоты производственных помещений и  
допустимое содержание микроорганизмов в воздухе при  
изготовлении твердых лекарственных форм**

Класс чистоты	Название помещения, участка, операции	Максимально допустимое содержание микроорганизмов в 1м <sup>3</sup> воздуха, КОЕ
<b>C</b>	Помещение получения пустых желатиновых капсул на автоматических линиях	<b>100</b>
<b>D</b>	<p>Помещения подготовки материалов первичной упаковки, приготовления растворов для грануляции, операции смешивания лекарственных и вспомогательных веществ, участок таблетирования, наполнения желатиновых капсул, полировки и отбраковки наполненных капсул, покрытие таблеток оболочками.</p> <p>Помещение приготовления дезинфицирующих растворов, фасовки и первичной упаковки ГЛС</p>	<b>500</b>
<b>“К”</b>	Остальные производственные помещения и участки, в том числе фасовки лекарственных трав и сборов	Рекомендации <a href="#">п. 4.2</a> , настоящих МУ

# Классы чистоты производственных помещений и допустимое содержание микроорганизмов в воздухе при изготовлении мягких лекарственных форм

Класс чистоты	Название помещения, участка, операции	Максимально допустимое содержание микроорганизмов в 1 м <sup>3</sup> воздуха, КОЕ
<b>D</b>	<p>Помещения подготовки материалов первичной упаковки, приготовления мягких лекарственных форм.</p> <p>Участки вскрытия упаковок с лекарственными и вспомогательными веществами, отвешивания компонентов, расплавление и фильтрация, приготовления эмульгатора, приготовления дезинфицирующих растворов, фасовки и первичной упаковки мягких лекарственных форм (в тубы банки, пленки из полимерных материалов и др.).</p>	<b>500</b>
<b>“К”</b>	Остальные производственные помещения и участки.	Рекомендации <a href="#">п. 4.2.</a> настоящих МУ

# **Классы чистоты производственных помещений и допустимое содержание микроорганизмов в воздухе при изготовлении жидких лекарственных форм**

<b>Класс чистоты</b>	<b>Название помещения, участка, операции</b>	<b>Максимально допустимое содержание микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха, КОЕ</b>
<b>D</b>	Помещения подготовки материалов первичной упаковки, получение сиропа. Помещения вскрытия упаковок с лекарственными и вспомогательными веществами, приготовления дезинфицирующих растворов, фасовки (розлив) и первичной упаковки жидких лекарственных форм	<b>500</b>
<b>“К”</b>	Остальные производственные помещения и участки, в том числе участки загрузки на экстракцию сухого лекарственного растительного сырья, получения жидких экстрактов и антисептических средств (йодные растворы, бриллиантовая зелень, растворы перекиси).	Рекомендации <a href="#">п. 4.2.</a> настоящих МУ

# Классы чистоты лабораторных помещений и зон

Класс чистоты	Название помещения, участка, операции	Максимально допустимое содержание микроорганизмов в 1м <sup>3</sup> воздуха, КОЕ
A	Зона посева.	менее 1
D	Помещение посевов в микробиологической лаборатории.	500
D	Экспресс-лаборатория (в комплексе "чистых" производственных помещений).	500
“К”	Остальные лабораторные помещения и участки.	Рекомендации <a href="#">п. 4.2.</a> настоящих МУ

## Рекомендации п. 4.2. настоящих МУ:

**Контролируемые зоны "К"** со следующими фиксируемыми и контролируемыми параметрами технических условий:

- кратность воздухообмена не ниже 5
- двухступенчатая очистка воздуха:
  - 1 ступень - фильтры класса не ниже G4 (эффективность не менее 90%)
  - 2 ступень - фильтры класса F9 (эффективность не менее 95%)
- климатические параметры (температура, влажность)
- отделка помещения фасовки лекарственных трав и сборов, участков растаривания, загрузки на экстракцию сухого лекарственного растительного сырья, получения жидких экстрактов (водных, водно-спиртовых, спиртовых), а также антисептических средств (йодные растворы, бриллиантовая зелень, растворы перекиси и т.д.)

# Нормирование чистоты воздушной среды помещений при производстве стерильных лекарственных средств

Класс чистоты помещений	Максимально допустимое количество частиц в 1 куб. м воздуха размером		Максимально допустимое количество жизнеспособных микроорганизмов в 1 куб. м воздуха	Условия воздухообмена в помещениях	
	≥0,5 мкм	≥5 мкм		Кратность обмена в час	Подпор. Мм вод.С т.
<b>1</b>	<b>3500</b>	<b>0</b>	<b>Менее 1</b>	<b>Более 40</b>	<b>3,0-5,0</b>
<b>2</b>	<b>350000</b>	<b>2000</b>	<b>50</b>	<b>20-40</b>	<b>3,0-5,0</b>
<b>3</b>	<b>3500000</b>	<b>20000</b>	<b>100</b>	<b>Более 10</b>	<b>1,5-2,0</b>
<b>4</b>	По ГОСТ 12.1.005-88				

- Нормы должны достигаться в любой части помещения в состоянии "покоя" и в зоне, непосредственно окружающей открытый продукт, в состоянии "рабочее". В состоянии "построенное" предусматривается уменьшение норм на 10%.
- Максимально допустимое количество механических частиц в помещениях 1-3 классов чистоты соответствует нормам классов А, В (100), С (10000) и D (100000).
- При необходимости производство может быть организовано в помещениях с более высокой степенью чистоты воздуха, которая достигается применением дополнительных ступеней очистки и специальных конструкций.

## **Процедура микробиологического мониторинга воздушной среды**

- выделения микроорганизмов из производственной среды (посев на агаровую поверхность, культивирование)
- учет результатов
- анализ совокупности полученных при мониторинге данных



## **Выбор точек отбора проб**

Расположение точек отбора проб из воздуха является индивидуальным для каждого производителя и устанавливается в процессе первичной или повторной аттестации чистого помещения или чистой зоны.

## **Ключевыми точками для отбора проб при текущем мониторинге являются следующие:**

- зоны наиболее высокой вероятности контаминации продукта
- зоны наибольшего риска скопления микроорганизмов при нормальном рабочем процессе (накопление пыли на поверхностях с электростатическими свойствами , более холодных поверхностях; дверные ручки и т.д.
- труднодоступные зоны для уборки и дезинфекции
- точки смежных зон А, В (100)
- потенциальные источники контаминации
- зоны возмущения воздушного потока рельефом поверхности, смешение потоков

## **Точки отбора проб воздуха , которые могут считаться наиболее существенными**

- Воздух (линия розлива) – точка отбора около наполняемых емкостей.
- Воздух помещения - точки входа и выхода вентиляционной системы, зона манипуляций с продуктом.

**Число контрольных точек на  
одно помещение при  
текущем контроле воздуха:  
не менее 3-х**

# Частота и время отбора проб

**Частота отбора проб зависит от установленного класса чистоты для данного помещения и от вида обработки, которой подвергается продукт далее в процессе его производства.**

- Зоны класса *A* (100) должны проверяться каждую рабочую смену
- Зоны класса *B* (100) также могут проверяться каждую смену или ежедневно
- Зоны класса *C* (10000) - два раза в неделю
- Зоны класса *D* (10 0000) - еженедельно

**Для сравнительного анализа состояний производственной среды, отбор проб должен проводиться в одно и то же, фиксированное в плане время.**

# **Отбор проб воздуха осуществляется во время работы !**

Дополнительно, могут проводиться исследования по окончании работы для оценки бактериальной нагрузки за рабочую смену.

## Объем пробы воздуха

- Объем пробы воздуха должен быть достаточным для обнаружения микроорганизмов и подсчета колоний.
- Оптимальным количеством КОЕ, выросших на мембране, считается менее 30 и на чашках Петри - менее 300 колоний.
- Для импакторов и центрифужных пробоотборников одним из ограничивающих факторов является высыхание поверхности агара при больших объемах проб, а также возможность повреждения целостности агарового слоя (растрескивание).
- Объем пробы воздуха должен устанавливаться опытным путем, с учетом характеристик используемого пробоотборника и концентрации микроорганизмов в тестируемой зоне.

## Выбор питательной среды

- Питательная среда должна поддерживать рост широкого спектра микроорганизмов, включая дрожжи и грибы.
- Приемлемой средой для контроля микробной загрязненности является среда № 1 для бактерий и среда № 2 (агар Сабуро) для дрожжей и грибов.
- Посевы на среде № 1 инкубируются при температуре от 30 до 35°C в течение 48 ч, на агаре Сабуро - от 20 до 25°C в течение 72 ч.
- Перед исследованиями, разлитые в чашки Петри питательные среды необходимо выдерживать в термостате при температуре от 30 до 35°C в течение 24 ч для подтверждения их стерильности. Проросшие чашки бракуют.



# Микробиологический контроль воздушной среды

- Микроорганизмы потенциально всегда присутствуют в воздухе контролируемой рабочей зоны, т. к. НЕРА -фильтры , используемые для очистки, не имеют абсолютной 100 % эффективности, даже тогда, когда работают в специфицированных условиях - класс чистоты А (100) и В (100).
- Основной целью микробиологического контроля воздуха асептической зоны является определение уровня и спектра микробной контаминации, чтобы оценить вероятность ее проникновения в производимый продукт.

# Методы микробиологического контроля воздушной среды на производстве лекарственных препаратов

- пассивный (качественный)
- активный (количественный)

## **Пассивный метод**

**- это экспозиция открытой плотной питательной среды в течение определенного периода времени.**

- **Главные недостатки метода:**
- **выявление только больших быстрооседающих частиц**
- **неопределенность в объеме отобранной пробы**
- **фактически данный метод является качественным и позволяет лишь определить спектр присутствующих микроорганизмов**

# **Пассивный метод контроля микробной контаминации воздуха**

- **Метод заключается в экспозиции плотной питательной среды в открытых чашках Петри.**
- **Частицы, присутствующие в воздухе, со временем осаждаются на поверхность агара.**
- **Время экспозиции составляет от 15 мин до нескольких часов.**
- **Однако длительная экспозиция приводит к высыханию поверхности питательной среды и к ухудшению условий сохранения и культивирования бактерий.**
- **Этот метод широко распространен и его применение целесообразно в сочетании с активным методом контроля микробной контаминации воздуха.**

## Методика проведения

- Открытые чашки Петри располагают в нескольких точках.
- **Например**, при розливе препаратов - как можно ближе к наполняющим иглам и в точки «наихудших условий».
- **В асептических зонах класса А (100) и В (100)** при экспозиции чашек Петри с питательной средой в течение **30 мин во время работы** допускается **рост одной, редко двух колоний**.

# Обработка результата

Формула Омелянского:

$$x = (a \times 5 \times 100 \times 1000) / (\pi r^2 \times t \times 10)$$

*a* - количество колоний

$\pi r^2$  - площадь чашки

*t* – экспозиция открытой чашки

Правило Омелянского предусматривает, что на поверхности агара в чашке Петри площадью 100 см<sup>2</sup> за 5 мин из воздуха оседает такое количество микробов, которое находится в его 10 л.

# Преимущества и ограничения пассивного метода

Преимущества	Ограничения
Простота использования	Отбор только быстро оседающих больших частиц
Не требует процесса посева	Влияние температуры на эффективность сбора
Различные типы питательной среды могут быть использованы для проращивания плесени, грибов, всего спектра микроорганизмов или отдельного вида	Сильное влияние скорости и направления воздушного потока по отношению к поверхности среды на результаты теста
Очень экономичен	Неопределенность объема отобранной пробы

## Активный метод

- Проводится с использованием импакторов и центрифужных пробоотборников предназначенные для отбора проб воздуха.
- В основе их работы лежит принцип импакции - прокачивания заданного объема воздуха через перфорированную пластину на поверхность агаризованной питательной среды.
- Используются стандартные пластиковые 90 мм чашки Петри со средой.
- После отбора воздуха чашки инкубируют и подсчитывают количество выросших колоний микроорганизмов.



**Для выбора приемлемого способа активного отбора проб следует учитывать следующие факторы:**

- способность метода работать в условиях низкой концентрации КОЕ
- чувствительность бактерий к процедуре пробоотбора
- время и продолжительность отбора пробы
- свойства прибора (эффективность, объемы проб)
- возможность деконтаминации прибора

- Наиболее часто в фармацевтической промышленности используются щелевые импакторы и центрифужные пробоотборники типа RCS .
- Учитывая приемлемость по основным характеристикам и удобство использования, рекомендуется применять аэрозольные пробоотборники типа «Флора -100» или Biotest RCS, ПУ-1Б.

# Аэрозольные пробоотборники для контроля бактериальной контаминации воздуха

- Аэрозольный пробоотборник «Флора -100»
- Пробоотборник рекомендуется для работы во всех классах чистоты А, В (100), С (10000), D (100000).



- Возможно применение любого подобного пробоотборника отечественного и зарубежного производства, имеющего сертификат соответствия и удовлетворяющего по диапазону пробоотбора требованиям, предъявляемым уровню допустимой контаминации к классам чистоты А, В (100), С (10000) и D (100000).



Аспиратор ПУ - 1Б

# Устройство и принцип работы аспиратора ПУ-1Б

- Аспиратор ПУ-1Б предназначен для автоматического отбора проб биологических аэрозолей при проведении санитарного контроля воздуха различных помещений и атмосферного воздуха.
- **Аспиратор ПУ-1Б** обеспечивает отбор проб аэрозолей на плотную питательную среду импакционным осаждением (чашки Петри 90 и 100 мм).



# Основные технические данные и характеристики Аспиратора ПУ-1Б

- Объем автоматически отбираемых проб — 50, 100, 250, 500, 1000 л
- Диаметр аэрозольных частиц, улавливаемых с эффективностью 50% - не более 1,4 мкм
- Диапазон измеряемых концентраций микроорганизмов —  $1 \times 10^4$  КОЕ/м<sup>3</sup>

## Обработка результатов

$$C=1000 \times P/Q$$

Где  $C$  — концентрация частиц в воздухе в  $1 \text{ м}^3$

$P$  — вероятное число частиц в отобранной пробе,

$Q$  — объём отобранной пробы, л

- Для расчета концентрации микроорганизмов в воздухе определяют **наиболее вероятное число микробных частиц в пробе.**
- Если количество колоний, не превышает 27, то наиболее вероятное число (Р) колониеобразующих единиц равно числу колоний.
- Если количество колоний (N) более 27, наиболее вероятное число (Р) колониеобразующих единиц определяется по таблице значения вероятного числа микроорганизмов в зависимости от числа колоний.



Значение наиболее вероятного числа осажденных микроорганизмов (Р) в зависимости от числа колоний (N) .

N	P	N	P	N	P
1	1	75	84	150	193
3	3	78	88	153	198
6	6	81	91	156	203
9	9	84	95	159	208
12	12	87	99	162	213
15	15	90	103	165	219
18	18	93	107	168	224
21	21	96	111	171	230
24	24	99	115	174	235
27	28	102	119	177	241

30	31	105	123	180	247
33	35	108	128	183	253
36	38	111	132	186	259
39	41	114	136	189	265
42	45	117	141	192	271
45	48	120	145	195	278
48	51	123	153	198	284
51	55	126	154	200	291
54	58	129	159		
57	62	132	163		
60	65	135	168		
63	69	138	173		
66	73	141	178		
69	76	144	182		
72	80	147	187		

# **КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ВОЗДУХА ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕК**

<b>N п/ п</b>	<b>Наименование помещений</b>	<b>Условия работы</b>	<b>Общее кол-во колоний микробов в 1 куб. м воздуха</b>	<b>Кол-во S.aureus в 1 куб. м воздуха</b>	<b>Кол-во плесневых и дрожжевых грибов в 1 куб. м воздуха</b>
<b>1</b>	<b>Асептический блок, стерилиз ационная (чистая половина)</b>	<b>до работы</b>  <b>после работы</b>	<b>не выше 500</b>  <b>не выше 1000</b>	<b>не должно быть в 250 л</b>  <b>не должно быть в 250 л</b>	<b>не должно быть в 250 л</b>  <b>не должно быть в 250 л</b>

2	Ассистентская, фасовочная, дефектарная, материальная	до работы	не выше 750	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
		после работы	не выше 1000	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
3	Моечная	во время работы	не выше 1000	не должно быть в 250 л	до 12
4	Зал обслуживания	во время работы	не выше 1500	до 100	до 20