

1. Перспективные технологии биотехнологических производств.....	2
2. Схема организации производства GMP и обеспечения качества продукции.....	4
3. Цель и условия обеспечения качества продукции	8
4. Исходные и упаковочные материалы на производстве. Выбор поставщиков материалов...9	
5. Обращение с исходными материалами до передачи в производство.	11
6. Отбор и анализ проб исходных материалов.	12
7. Схема производства по правилам GMP.	15
8. Внутрипроизводственный контроль и протокол на серию продукции.....	15
9. Загрязнения на производстве и защита от перекрестных загрязнений.	16
10. Виды и назначение производственной документации.....	17
11. Характеристики основных видов документов на производстве.....	18
12. Чистые помещения и зоны.....	19
13. Обеспечение требуемых показателей воздуха в производственных зонах.	20
14. Требования GMP к технологическому оборудованию.	22
15. Испытания и аттестация оборудования, приборов, процессов, методов.	22
16. Критические процессы и оборудование.....	24
17. Методы оценки чистоты поверхностей и аттестация процессов очистки оборудования...26	
18. Требования к аналитическим методам и оборудованию.	27
19. Требования правил GMP к персоналу. Чистота и гигиена персонала. Требования к работе персонала в чистых помещениях.	28
20. Типовая схема биотехнологического производства. Основные используемые операции..29	
25. Методы хранения музейной культуры микроорганизмов.....	29
27. Микробиологический контроль на биотехнологическом производстве, объекты и методы контроля, мероприятия по ликвидации микробной контаминации.	30
24. Методы стерилизации материалов, оборудования и питательных сред.....	30
26. Основные требования к работе с главным и рабочим банками культуры клеток.	31
28. Технология получения посевного материала и используемое оборудование. Микробиологический и химический контроль на данной стадии	32
29. Устройство и эксплуатация ферментера. Основные параметры процесса биосинтеза и их контроль.....	33
30. Стерилизация ферментера, калибровка контрольно-измерительного и аналитического оборудования. Технология стерильной подачи питательных растворов. Отбор и анализ проб, основные методики.	34
31. Технология мойки ферментационной линии, методы контроля чистоты оборудования.	36
32. Технология переработки биомассы и получение готового продукта.	37
33. Технологическая схема производства биополимеров.....	38

1. Перспективные технологии биотехнологических производств.

Перспективные области применения биотехнологии очень разнообразны.

Пищевая биотехнология. Это наиболее старое и традиционное использование способностей микроорганизмов в получении пива, вина, кисломолочных продуктов, дрожжей и т.д.

С развитием науки будут совершенствоваться два направления:

- производство микроорганизмов, клеток растений и животных в биореакторах, при этом выход будет существенно выше, чем в сельском хозяйстве;
- повышение производительности биотехнологических процессов за счет использования методов генной инженерии.

Медицинская биотехнология. Получила развитие благодаря достижениям генной инженерии, например, получение интерферона, инсулина, гормонов роста путем клонирования генов человека в микроорганизмы, широко используются в терапии и диагностике различные ферменты. В будущем будут использованы достижения биоэлектрoхимии, например, создаются специальные датчики, определяющие содержание глюкозы, нервных газов, отдельных компонентов крови.

Сельскохозяйственная биотехнология.

В данном случае применение очень разнообразно:

- использование продукции и отходов сельского хозяйства в качестве сырья для получения биотехнологических продуктов: спирт, вино, пиво, энергия. Для развития этого направления надо тщательно изучить кинетику разложения различных субстратов и роль микроорганизмов в процессах;
- использование биотехнологии в ветеринарии для получения вакцин и сывороток;
- получение корма для скота: БВК, дрожжевая масса;
- новые способы улучшения сельскохозяйственных культур по урожайности и качеству;
- использование методов биологической фиксации азота вместо традиционных удобрений;
- использование методов биологического контроля вместо пестицидов.

Будущее сельскохозяйственной биотехнологии – это улучшение свойств растений путем использования генной инженерии.

Промышленная биотехнология.

Энергетика: солнце → биомасса → энергия. В будущем будут созданы биотопливные элементы, например, водород, образующийся при брожении, используется в кислородно-водородном элементе.

Необходимо повысить эффективность конверсии солнечного света в биомассу (обычно это 1 - 2%). Решаются также вопросы получения H_2 путем расщепления H_2O фотосинтезирующими микроорганизмами (сине-зеленые водоросли). Перспективно использование микроорганизмов в нефтедобывающей промышленности как ПАВ или полимеры.

Химические соединения. Биохимический способ их получения имеет преимущества: специфичность, легкость контроля, низкие температуры, экологичность, простота. Можно получать спирт, метан, кислоты, ацетон, аминокислоты, ферменты, антибиотики и др. Но пока традиционные способы синтеза преобладают. В будущем планируется производство пластмасс, эмульгаторов и загустителей.

Материалы.

- биотехнология способствует развитию добычи промышленного сырья, например нефти;
- микроорганизмы используют для производства многих материалов, например, пластмасс;
- разрабатываются способы защиты различных веществ от разрушения микроорганизмами;
- микробиологическое выщелачивание руд.

Экологическая биотехнология.

Давно известны и широко применяются микробиологические способы очистки сточных вод и переработки отходов.

Перспектива – использование микроорганизмов с ранее известными или искусственно созданными катаболическими способностями.

Связь микробиологии с химическими технологиями дала результаты, с внедрением биотехнологии в промышленность произойдет переход от тяжелой индустрии к высоким технологиям. Внедрение биотехнологии в практику изменяет соотношение в системе: человек-производство- природа, повышает производительность труда.

Широкое использование биотехнологических процессов способствует стиранию грани между промышленным и сельским производством, поскольку продукты питания, корма и другие сельскохозяйственные продукты вырабатываются в промышленных условиях.

В настоящее время достижения биотехнологии перспективно использовать в следующих отраслях:

- в промышленности (химическая, нефтяная, фармацевтическая, пищевая);
- в экологии;

- в энергетике;
- в сельском хозяйстве;
- в медицине.

2. Схема организации производства GMP и обеспечения качества продукции.

Производство – все операции и виды контроля, связанные с получением, приёмом и обработкой исходных материалов, упаковкой, выпуском в реализацию, хранением и отгрузкой товара.

В понятие «производство» входят все операции от получения материалов до отгрузки готовой продукции.

СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА СМОТРИ НИЖЕ



Рис. 4.1. Схема производства лекарственных средств

Основными этапами производства являются:

- прием материалов от поставщиков;
- помещение их в карантин, отбор проб и контроль качества материалов;
- выдача материалов на серию продукции и прием их производственным подразделением;

- выполнение технологических операций и проведение внутри-производственного контроля;
- контроль серии готовой продукции, карантинное хранение и получение разрешения на ее реализацию;
- передача продукции на склад готовой продукции.

Особое внимание уделяется исключению перепутывания материалов, этикеток и продукции и пр., недопущению перекрестных и других загрязнений. Ключевым понятием в производстве является «**серия продукции**» (п. 4.6).

На производство работают все:

- коммерческая служба обеспечивает производство материалами и заказами на продукцию (здесь и далее наименования подразделений даны условно);
- инженерные подразделения обеспечивают работу помещений, оборудования, сетей и систем в соответствии с установленными требованиями;
- отдел контроля качества контролирует исходные и упаковочные материалы, промежуточную и готовую продукцию (за исключением внутрипроизводственного контроля, выполняемого производственными подразделениями);
- отдел обучения готовит кадры и т. д.

Вся эта деятельность достигнет цели при условии четкой работы производства, которая должна быть построена в строгом соответствии с правилами GMP (раздел 5 Части I).

Качество – это общая характеристика любой продукции. Она является предметом внимания всех, в том числе и разработчиков стандартов.

Качество – один из ключевых терминов правил GMP и организации любого производства. Качество имеет разный смысл для рынка и для производства.

Нормативные документы в области качества можно разделить на несколько групп:

1) Стандарты *ИСО 9000*, которые носят *общий характер для всех видов* продукции и услуг; это слишком общие документы, они запутывают практиков и служат скорее интересам сертифицированных и бракованных, чем качеству продукции;

2) *Специализированные стандарты* в области качества для отдельных видов продукции, написанные на *основе стандартов ИСО 9000*. Примеры:

- стандарт ИСО 15378 и его модификация на русском языке ГОСТ Р 53699–2009 «Первичные упаковочные материалы для лекарственных средств. Частные требования по применению ИСО 9000–2008 с учетом правил GMP»;

- ГОСТ Р 13485–2004 «Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования».

Они ближе к практике, но все-таки очень засорены надуманными фразами из ИСО 9000 (приложение 4);

3) *Правила GMP* – Правила производства лекарственных средств, являющиеся *специализированным руководством* (в России: ГОСТ Р 52249–2009 – GMP ЕС); в 2007 г. появились правила GMPc – Правила производства косметической продукции, в США действуют правила GMP для производства продуктов питания (глава 18).

Правила GMP были созданы до стандартов ИСО 9000, их источником были нужды производства и конкретные задачи обеспечения безопасности продукции. Они являются руководством к действию и критерием оценки производств;

4) *Руководство ICH Q10 «Pharmaceutical Quality System»* – «Система качества на фармацевтических предприятиях». Это общий документ, в котором сделана попытка описать требования к качеству на всех этапах «жизненного цикла» лекарственного средства. Он носит описательный характер и не является руководством к действию;

5) Специализированный российский стандарт *ГОСТ Р 52537–2006 «Производство лекарственных средств. Система обеспечения качества. Общие требования»* был разработан автором книги при поддержке членов АСИНКОМ. Его цель – дать практическое руководство в развитие общих требований GMP.

14.5 Принципы обеспечения качества

Обеспечение качества лекарственных средств и любой другой продукции основано на следующих принципах (ГОСТ Р 52537–2006):

1) Четкое определение *обязанностей и ответственности* руководителей и всех работников предприятия. Понимание всем коллективом первостепенной роли обеспечения качества.

2) *Документальное оформление* всех процессов производства и контроля качества в конкретной, исчерпывающей и понятной для каждого работника форме с детализацией каждой операции или каждого требования так, чтобы любое действие выполнялось в соответствии с документом и действия по устным распоряжениям или по личной трактовке исключались.

3) *Организация производства* в соответствии с документацией предприятия и действующими нормативными документами.

4) *Прослеживаемость* всего процесса производства и контроля качества за счет *полного документирования* выполнения всех операций и полученных результатов от приема материалов до выпуска продукции.

5) *Контроль* исходных и упаковочных материалов, промежуточной и готовой продукции в полном соответствии с установленными требованиями. Исключение использования иных материалов.

6) Выполнение требований GMP к *помещениям, оборудованию и процессам* достигается наличием *проекта* производства, соответствующего нормативным документам, и его должной реализацией.

7) *Укомплектованность* производства *персоналом*, имеющим необходимую подготовку и дисциплину.

8) *Исполнительская дисциплина* – обязательное и точное выполнение персоналом своих обязанностей, приказов и распоряжений и других документов, а также информирование руководства о ситуациях, связанных с невыполнением порученного дела.

Необходимым условием является *контроль* исполнения.

9) *Постоянный анализ качества продукции*, случаев *отклонения от спецификаций (ООС)* и причин рекламаций, организация отзывов продукции, не соответствующей требованиям; анализ рисков и определение критических точек, проведение самоинспекций, т. е. наличие постоянной обратной связи между результатами работы, с одной стороны, и технологическим процессом, персоналом, материалами и другими ресурсами, с другой.

10) *Культура производства:*

- чистота на предприятии (территории, в производстве, вспомогательных, складских и бытовых помещениях и пр.);
- личная гигиена, аккуратность и пр.;
- культура взаимоотношений (корректная работа руководителей, создание благоприятного психологического микроклимата на всех уровнях).

Система обеспечения качества – это комплекс организационных и технических мер, обеспечивающих выпуск лекарственных средств в соответствии с заданными требованиями.



Рис. 2.1 Схема обеспечения качества

Для того, чтобы выпускать продукцию требуемого качества, нужны:

- хорошие исходные *материалы*;
- *подготовленное производство* (помещения, оборудование, процессы), которые гарантированно производили бы из хорошего сырья продукцию в соответствии с заданными требованиями;
- квалифицированный и дисциплинированный *персонал*, грамотно и точно выполняющий свои обязанности;
- *контроль качества*;
- *организация и управления*, которые обеспечивали бы все взаимосвязи в производственном организме;
- общая *культура*;
- *понимание* всеми работниками предприятия, в первую очередь его руководителями, *сути работы по GMP*.

Все эти вопросы подробно рассмотрены в книге. Здесь отметим лишь основные положения.

3. Цель и условия обеспечения качества продукции

Цель GMP – организовать выпуск качественной продукции. Качество – соответствие продукта заданным требованиям. Эти требования указаны в нормативно-технической документации на выпускаемую продукцию (ТУ или ГОСТ).

Обеспечение качества лекарственных средств и любой другой продукции основано на следующих принципах (ГОСТ Р 52537–2006):

1) Четкое определение **обязанностей и ответственности** руководителей и всех работников предприятия. Понимание всем коллективом первостепенной роли обеспечения качества.

2) **Документальное оформление** всех процессов производства и контроля качества в конкретной, исчерпывающей и понятной для каждого работника форме с детализацией каждой операции или каждого требования так, чтобы любое действие выполнялось в соответствии с документом и действия по устным распоряжениям или по личной трактовке исключались.

3) **Организация производства** в соответствии с документацией предприятия и действующими нормативными документами.

4) **Прослеживаемость** всего процесса производства и контроля качества за счет **полного документирования** выполнения всех операций и полученных результатов от приема материалов до выпуска продукции.

5) **Контроль** исходных и упаковочных материалов, промежуточной и готовой продукции в полном соответствии с установленными требованиями. Исключение использования иных материалов.

6) Выполнение требований GMP к **помещениям, оборудованию и процессам** достигается наличием **проекта** производства, соответствующего нормативным документам, и его должной реализацией.

7) **Укомплектованность** производства **персоналом**, имеющим необходимую подготовку и дисциплину.

8) **Исполнительская дисциплина** – обязательное и точное выполнение персоналом своих обязанностей, приказов и распоряжений и других документов, а также информирование руководства о ситуациях, связанных с невыполнением порученного дела.

Необходимым условием является **контроль** исполнения.

9) **Постоянный анализ качества продукции**, случаев **отклонения от спецификаций (ООС)** и причин рекламаций, организация отзывов продукции, не соответствующей требованиям; анализ рисков и определение критических точек, проведение самоинспекций, т. е. наличие постоянной обратной связи между результатами работы, с одной стороны, и технологическим процессом, персоналом, материалами и другими ресурсами, с другой.

10) **Культура производства:**

- чистота на предприятии (территории, в производстве, вспомогательных, складских и бытовых помещениях и пр.);
- личная гигиена, аккуратность и пр.;
- культура взаимоотношений (корректная работа руководителей, создание благоприятного психологического микроклимата на всех уровнях).

Для того, чтобы **выпускать хорошую продукцию**, нужно:

- использовать только **хорошие материалы**;
- работать на **хорошем оборудовании**, исключающем брак;
- обеспечить требуемую **чистоту помещений и оборудования**;
- иметь полный **комплект документации**;
- научить **персонал** работать **строго по документации**;
- организовать **контроль исполнения**;
- **опираться на передовую нормативную базу**.

4. Исходные и упаковочные материалы на производстве. Выбор поставщиков материалов.

Исходными материалами являются:

- активные фармацевтические субстанции – АФС;
- вспомогательные вещества.

Активные фармацевтические субстанции – основа лекарственных средств, которая определяет их назначение.

Помимо АФС при производстве лекарственных средств используются вспомогательные вещества: сахар, крахмал, разного рода добавки, вода для инъекций и пр.

- **активная фармацевтическая субстанция; АФС:** Любое вещество или смесь веществ, предназначенные для производства лекарственных средств, которые в процессе производства лекарственного средства становятся активным ингредиентом этого лекарственного средства. Такие вещества предназначены для проявления фармакологической активности или другого прямого эффекта при диагностике, лечении, облегчении симптомов или профилактике болезни или для воздействия на структуру или функции организма;

- **исходный материал АФС:** Сырье, промежуточный продукт или АФС, которые используются при производстве АФС и внедряются в структуру АФС в качестве существенного элемента. Исходный материал АФС может быть продуктом (материалом), получаемым от одного или более поставщиков по контракту (коммерческому соглашению), или материалом, производимым на самом предприятии. Как правило, для производства АФС используются исходные материалы с конкретными химическими свойствами и структурой.

Вспомогательные вещества (*excipients, auxiliary substances*) – это вещества, не относящиеся к АФС, но входящие в состав лекарственного средства и оцененные соответствующим образом на безопасность. Назначением вспомогательных веществ может быть:

- защита продукта, создание объема лекарственного средства, обеспечение стабильности и биодоступности;
- облегчение распознавания продукта;
- усиление любых других свойств в плане общей безопасности, эффективности, сохранности или применения.

Эти вещества могут служить вспомогательным средством в производстве лекарственных средств, быть стабилизаторами, консервантами, растворителями, и т. д.

При производстве вспомогательных веществ руководствуются следующими принципами:

1. Контроль посторонних включений и загрязнений.
2. Соответствие характеристик и свойств вспомогательных веществ требованиям
3. Неизменность состава от серии к серии
4. Оформление протокола для каждой серии

«Упаковка»: изделие, предназначенное для размещения, защиты, перемещения, доставки, хранения, транспортирования и демонстрации продукции (сырья и готовой продукции), используемое как производителем, пользователем, так и переработчиком, сборщиком или иным посредником.

Первичные упаковочные материалы: упаковочные материалы, которые применяются для помещения, герметизации или дозирования лекарственных средств и находятся в прямом контакте с ними (ампулы, шприцы, блистерная упаковка для таблеток и др.)

Вторичные упаковочные материалы: упаковочные материалы, не вступающие в контакт с лекарственным средством, например, картон, этикетки, бумага, обертки и пр.

При контроле процесса упаковки продукции на линии следует проверять, как минимум, следующее:

- a) общий вид упаковки;
- b) комплектность упаковки;
- c) правильность использования упаковочных материалов в соответствии с требованиями документации на данную продукцию;
- d) правильность нанесения печатных надписей;
- e) правильность работы устройств контроля на линии.

Не допускается возврат на линию отобранных с нее образцов продукции.

Наиболее распространёнными материалами из которых сделаны упаковочные материалы для лекарственных средств – **пластик и стекло**. Для стекла важным требованием является гидролитическая стабильность, выражаемая в сопротивлении выделению растворимых минеральных веществ стекла в воду при контакте с продуктом, например стекло часто проверяют на выделение мышьяка. Для пластика: продукты не должны адсорбироваться на его поверхности, пластик не должен выделять вещества токсические или те, которые влияют на стабильность продукта; при необходимости пластик должен быть способен выдерживать стерелизацию.

Выбор поставщика:

К выбору производителя и/или поставщика исходных материалов следует подходить в высшей степени тщательно. От этого зависит вся дальнейшая работа.

Исходные материалы

ГОСТ Р 52249–2009, Часть I, указывает:

5.25. Обеспечение исходными материалами является ответственной операцией, требующей полных сведений о поставщиках.

5.26. Исходные материалы следует закупать только у утвержденных поставщиков (указанных в спецификации) и, по возможности, непосредственно у производителей этих материалов. Требования к ним должны быть указаны в спецификациях на исходные материалы, утвержденных производителем лекарственных средств, и согласованы с поставщиком. Все вопросы, связанные с производством и контролем исходных материалов, в т. ч. работа с ними, маркировка, упаковка, порядок предъявления рекламаций и отклонения, должны быть согласованы между производителем и поставщиком.

Следует проводить оценку и аудит поставщика, затем его контроль в ходе дальнейшей работы. Заказчик материалов должен проводить контроль документации и контроль **каждой серии** поступивших материалов.

5. Обращение с исходными материалами до передачи в производство.

Исходные материалы подлежат входному контролю и карантину на складе (для изоляции до получения разрешения на передачу в производство). Входной контроль: отбор образцов и их проверка на соответствие спецификации.

Упаковочные материалы также подлежат вход. контролю. Должны соответствовать требованиям спецификации. Чистота первичных материалов (флаконов, ампул, блистерной ленты и т.д.) должна соответствовать мировому уровню. Некоторые исходные (вода очищ., вода для инъекций) предприятие клепаёт само, оборудование и процессы и тоже это всё должно соответствовать GMP. Правильное хранение материалов в соответствии с заданными их производителем условиями. *Первичные упаковочные материалы* находятся в непосредственном контакте с продуктом, они не должны изменять его свойств, вносить загрязнения и должны обеспечивать его сохранность. Хуёвые упаковочные материалы утилизируются по протоколу.

Приём материалов от поставщиков. Это должны быть супер-поставщики, которые выполняют требования к продукции, о них должны быть составлены полные сведения, согласованы требования (качество, маркировки, упаковка). Поставщик должен быть утверждён. Но на слово не надо верить, нужно чекать документацию и контролировать каждую серию поступивших материалов.

Движение материалов:

отдел снабжения заказывает материалы у супер-поставщиков по спецификациям, согласованным отделом КК → отделу приёма/складу передаётся копия заказной спецификации → материалы принимаются на склад → материалы проверяют (маркировки, накладные, вежую хуйню, соответствие номера серии, целостность тары/упаковки/пломб → очистка тары и упаковки. Если что-то не так (не соответствие серии номеров, указанной в накладной или повреждение) следует срочно держать в курсе отделы снабжения и КК.

Маркировка материалов. Каждый материал должен иметь маркировку, номер серии. На маркировке (этикетке) должно быть указано:

- наименование предприятия, получившего материал
- наименование материала
- внутризаводской код (получил материал – присвоил код, чтобы не потерять или каво)
- внутризаводской номер серии
- статус материала (карантин/испытания/разрешено/отклонено)
- дата получения материала
- срок годности или дата, когда нужно будет провести контроль
- подпись челика, который приклеил этикетку на упаковку

Контроль подлинности материалов. Вот наши материалчики прошли первичную проверку, теперь смотрим подлинность. Это регламентируется спец. инструкциями и методиками и очень важно грамотно отобрать пробы. До получения разрешения от отдела КК нельзя отдавать их производство. Упаковки, откуда были взяты пробы, должны иметь соответствующую маркировку. При поставке из нескольких серий каждую серию следует рассматривать как независимую в отношении отбора проб, проведения испытаний и получения разрешения на использование.

Карантин. Должно быть исключено перепутывание материалов и продукции между собой/другими материалами и продукцией. Следует организовывать карантин по принципу отдельного хранения. И так до получения разрешения на использование и реализацию.

Оформление данных. Работяга со склада (отдела снабжения) заполняет «отчёт о получении материалов» в трёх ~~тёмаж~~ экземплярах. Один себе, другие в отдел КК. Там написано:

- наимен. предприятия
 - наимен. и код материала
 - дата получения
 - наимен. поставщика
 - номер серии поставщика
 - полученное количество (вес, шт.)
 - количество упаковок
 - номер договора (контракта/заказа) с поставщиком
 - внутриводской номер серии
 - особые условия (порядок обращения, требования к чистоте и т.д.)
 - замечания по результатам первич. проверки
 - дату первич. проверки
 - фамилию и инициалы лица, выполнявшего проверку
- Статусные этикетки пишут только ребята из отдела КК.

6. Отбор и анализ проб исходных материалов.

Следует выполнять это в отдельной зоне, предотвращая перекрёстное или прямое загрязнение, в соответствии с утверждёнными инструкциями:

- методика отбора проб
- перечень используемого оборудования
- количество пробы, которое должно быть отобрано
- инструкции по разделению пробы на части (если надо)
- тип и характеристика тары для отбора проб
- нанесение маркировки на тару с отобранными пробами
- специальные меры предосторожности (особенно стерильные и опасные вещества)
- условия хранения

- инструкции по очистке и хранению оборудования для отбора проб
Производится челом из отдела КК.

Представительность проб. Подлинность всей серии материала может быть гарантирована только при взятии проб из каждой упаковки. Но их же много. Допускается отбор из части упаковок если:

- материалы от одного производителя
- поступают непосредственно от производителя или в опечатанной упаковке от супер-поставщика, который НИ РАЗУ не косячил
- аудит производителя и поставщика подтвердил их соответствие установленным требованиям
- есть аттестованная методика, исключая возможность неправильной маркировки упаковки

Объём пробы. Должен быть достаточен для проведения испытаний. И ещё столько же прозапас, вдруг лабораторная ошибка или дефект самого материала.

Персонал. Ну тут понятно – не быдло. Обучен, ответственен, знать зачем он здесь и что от него зависит, готов в случае чего получать пизды.

Требования cGMP США к отбору и анализу проб исходных и упаковочных материалов

§211.84 cGMP США, 21 CFR [16] содержит следующие требования к отбору проб (в США используется термин «*component*», являющийся синонимом европейского термина «*starting material*» – «исходный материал»):

(а) Каждая серия исходных и упаковочных материалов должна быть изъята из обращения до тех пор, пока из нее не будут отобраны и проверены пробы и выдано разрешение отделом контроля качества;

(б) Из каждой серии полученных материалов следует отобрать представительные пробы. Число упаковок, из которых отбираются пробы, и объем пробы из каждой упаковки определяются по определенному критерию, например, статистическому, с учетом изменчивости материала, доверительных пределов и желаемой точности, информации о качестве материалов от данного поставщика в прошлом, необходимом количестве материалов для проведения анализа и резервном объеме пробы согласно §211.170;

(с) При отборе проб должны быть выполнены следующие условия:

(1) Упаковки, из которых отбираются пробы, должны быть, при необходимости, очищены; способ очистки должен исключать попадание загрязнений в материал;

(2) Открывание, отбор проб и герметизация должны выполняться так, чтобы предотвратить загрязнение их содержимого и загрязнение других исходных и упаковочных материалов;

(3) При необходимости следует использовать стерильное оборудование и асептические методы отбора проб;

(4) Если требуется отбирать пробы сверху, из середины или из нижней части упаковки, то следует исключить их смешивание;

(5) Тара с пробами должна иметь маркировку с нанесением следующих данных: наименования материала пробы, номера серии, номера упаковки, из которой отобрана проба, даты отбора проб, фамилии лица, отобравшего пробу;

(6) Упаковка, из которой отобрана проба, должна быть маркирована с указанием, что из нее отобрана проба;

(d) Анализ проб выполняется в следующем порядке:

(1) Проводится как минимум один анализ на идентичность каждого исходного материала. Следует выполнять специфические тесты на идентичность, если они существуют;

(2) Каждый исходный материал должен быть проверен на соответствие всем показателям спецификаций на чистоту, активность

7. Схема производства по правилам GMP.



Основными этапами производства являются:

- прием материалов от поставщиков;
- помещение их в карантин отбор проб и контроль качества материалов;
- выдача материалов на серию продукции и прием их производственным подразделением;
- выполнение технологических операций и проведение внутрипроизводственного контроля;
- контроль серии готовой продукции, карантинное хранение и получение разрешения на ее реализацию;
- передача продукции на склад готовой продукции.

8. Внутрипроизводственный контроль и протокол на серию продукции.

Целью производства является получение готовой продукции (готового продукта), т.е. лекарственного средства, прошедшего все этапы технологического процесса, включая окончательную упаковку (первичную и вторичную). Готовая продукция помещается в карантин, из нее отбираются пробы отделом контроля качества, и продукция находится на карантине до завершения анализов и выдачи разрешения на реализацию уполномоченным лицом.

После выдачи разрешения на реализацию готовая продукция должна храниться на складе готовой продукции в условиях, установленных производителем. Условия хранения должны соответствовать установленным требованиям. Разные серии продукции следует хранить отдельно. Порядок хранения должен учитывать условия оборота продукции (первым пришло, первым ушло).

Протоколом на серию (record) называется документ, отражающий процесс производства серии продукции и разрешение на ее реализацию, и все факторы, имеющие отношение к качеству готовой продукции. Он составляется на каждую серию продукции. Оформлять выполнение работы, т. е. составлять протокол нужно сразу после завершения операции.

9. Загрязнения на производстве и защита от перекрестных загрязнений.

- **Загрязнение** - попадание в продукт посторонних веществ (частиц, смазочных мат., микроорганизмов)
- **Перекрестное загрязнение** – загрязнение материалов и продукции другими материалами или продукцией.

Причина: плохо отчищенное оборудование, осаждение пыли, неправильная организация вытяжки.

Предотвращение перекрестного загрязнения:

- 1) Исключить возможность загрязнения исходных материалов
- 2) Организационные меры (организация вытяжек, хранение спец одежды, контроль моющих средств и т.д)

Про вытяжки

Для открытых и закрытых процессов их организация разная. Воздух должен вытягиваться из помещений наружу, а не в другие помещения . Например, для исключения попадания загрязнений в материал при взвешивании создают воздушные завесы- ламинарный поток

Вытяжки из оборудования делают так, чтобы исключить накапливание там осевшего продукта, для этого устанавливают вытяжные фильтры.

Про фильтры. Должны удерживать загрязнения, для оборудования используют HEPA фильтры

Организация чистых зон для работы с опасными веществами. Это зона пониженного давления, чтобы загрязнения не распространялись в другие помещения

Еще примеры: для гранулирования используют только свежеприготовленные жидкости, таблеточные прессы размещают в отдельных помещениях, осматривают поверхность оборудования, чтобы не произошло загрязнение от него.

10. Виды и назначение производственной документации.

Назначение:

1. Устанавливает требование ко всему производству (технике, действиям, контролю производства)

Здесь документация указывает что, как, когда и кто должен сделать. Также требования к получаемой продукции, методам производства, контроля и тд. Т.е. это документация регламентирующая.

2. Отражает фактическое выполнение работы.

Здесь документация констатирует, что, как, когда и кто сделал и какие получены результаты.

Основные виды документов:

1. Информация о предприятии

Назначение: общая документация предприятия

2. Регламентирующие документы:

- 1) Спецификация.

Назначение: Требования к материалам и продукции

- 2) промышленный регламент

Назначение: Требования к процессам производства

- 3) технологическая инструкция, методики

Назначение: Общие требования для производства конкретной серии продукции

3. Отчетные документы

- 1) протокол на серию

Назначение: отображает фактические данные о производстве конкретной серии продукции

- 2) протокол испытаний

Назначение: отображает произведенные действия

- 3) сертификаты проведения анализа

Назначение: отображает действия при проведении какого-либо анализа

Еще есть документ **Внутрипроизводственная этика**, идентифицирует материалы или продукцию, отображает их статус в производстве

11. Характеристики основных видов документов на производстве.

Правила GMP устанавливают виды документов:

- спецификация: Документ, содержащий требования к материалам и продуктам, используемым или получаемым при производстве, являющийся основой для оценки качества лекарственных средств;
- промышленный регламент, технологическая инструкция и инструкция по упаковке: Документы, определяющие все используемые исходные материалы и операции по производству и упаковке продукции;
- инструкция, методика, процедура: Документ, содержащий указания по выполнению отдельных видов операций: например, по очистке, переодеванию, контролю окружающей среды, отбору проб, проведению испытаний, эксплуатации и техническому обслуживанию оборудования.
- протокол на серию: Документ, отражающий процесс производства каждой серии продукции. В т. ч. разрешение на ее реализацию и все факторы, влияющие на качество готовой продукции. Данные о проведении основных технологических операций. исполнителях и пр. могут оформляться в виде маршрутных карт.
- учетные копии: Копии документов, находящиеся на учете в подразделении, контролирующем ведение документации, и в которые вносятся любые изменения для поддержания их соответствия оригиналу.

В 2010 г. в раздел «документация» правил GMP ЕС внесен ряд изменений: 1. Установлены следующие виды документов:

- «Информация о предприятии»: регламентирующие документы (спецификации, промышленный регламент, технологические инструкции, инструкции по упаковке и контролю, инструкции и методики, технические соглашения); - Отчетные документы (протоколы серий, протоколы испытаний, сертификаты проведения анализа и пр.).

Введены термины: - техническое соглашение (Technical Agreements): соглашение между заказчиком и сторонним исполнителем; - сертификат проведения анализа (Certificates of Analysis): документ, содержащий результаты анализа проб продукции или материалов и оценку их соответствия спецификации

Виды организационно-технологической документации и их назначение показаны в таблице 5.1 .

Таблица 5.1

Виды организационно-технологических документов по GMP		
	Наименование документа	Назначение
1	Информация о предприятии, регистрационное досье, лицензия на производство и пр.	Общая документация предприятия
2	Спецификация	Документ, содержащий требования к материалам или продукции
3	Промышленный регламент, технологическая инструкция, инструкция по упаковке	Документы, устанавливающие требования к процессам производства конкретной продукции
4	Инструкция (методика)	Документ, устанавливающий требования, общие для производств различных видов продукции
5	Протокол на серию	Документ, отражающий фактические данные о производстве конкретной серии продукции
6	Внутрипроизводственная этикетка	Документ, идентифицирующий материалы или продукцию, содержащий указание их статуса в производстве

12. Чистые помещения и зоны.

По чистым помещениям есть целый гост, мб понадобится, ГОСТ Р ИСО 14644

<http://docs.cntd.ru/document/1200157235>

Чистые помещения включают в себя ограждающие конструкции (стены, полы, потолки, окна, двери, передаточные камеры). Системы вентиляции и кондиционирования воздуха со средствами автоматизации, светильники, сантехническое и другое оборудование в контуре чистых помещений.

Правила GMP устанавливают требования к классам чистоты помещений только для производства стерильных лекарственных средств. Но это не значит, что в производстве нестерильных лекарственных средств чистота не нужна. Чистота нужна везде, но требования к ней и методы обеспечения различны.

Правила GMP не устанавливают конкретных количественных требований к чистоте помещений для производства нестерильных лекарственных средств. В то же время на них распространяются общие положения обеспечения минимального риска загрязнения материалов и продукции. Поверхности производственных помещений «должны быть гладкими, без трещин и открытых стыков». Должна быть обеспечена «эффективная система вентиляции, оборудованная устройствами контроля воздуха». Многие предприятия, чтобы выполнить эти требования, используют для

нестерильного производства чистые помещения. хотя в нормативных документах этого требования нет.

чистое помещение (cleanroom): Помещение, в котором контролируется концентрация аэрозольных частиц и которое спроектировано, построено и эксплуатируется так, чтобы свести к минимуму поступление, выделение и удержание частиц в нем.

чистая зона (clean zone): Определенное пространство, в котором контролируется концентрация аэрозольных частиц и которое построено и эксплуатируется так, чтобы свести к минимуму поступление, выделение и удержание частиц в нем.

Чистая зона может находиться внутри чистого помещения или представлять собой изолирующее устройство. Такое устройство может быть установлено как в чистом помещении, так и вне его.

Состояния чистого помещения

3.3.1 построенное (as-built): Состояние, в котором монтаж чистого помещения или чистой зоны завершен, все обслуживающие системы подключены, но отсутствуют оборудование, мебель, материалы или персонал.

3.3.2 оснащенное (at-rest): Состояние, в котором чистое помещение или чистая зона укомплектованы оборудованием и действуют по соглашению между заказчиком и исполнителем, но персонал отсутствует.

3.3.3 эксплуатируемое (operational): Состояние, в котором чистое помещение или чистая зона функционирует установленным образом с работающим оборудованием и заданным числом персонала.

13. Обеспечение требуемых показателей воздуха в производственных зонах.

Не допускается примыкание помещений классов чистоты А, В, С, D к наружным ограждающим конструкциям. Помещения более высокого класса чистоты необходимо располагать внутри помещений более низкого класса. Чистые зоны следует проектировать так, чтобы отсутствовала необходимость входа в них наблюдающего или контролирующего персонала.

В чистых зонах все открытые поверхности должны быть гладкими, непроницаемыми и неповрежденными, чтобы свести к минимуму

образование и накопление пыли и микроорганизмов, а также обеспечить возможность многократного применения очищающих и дезинфицирующих средств.

Различные двери воздушных шлюзов не должны открываться одновременно. Для предотвращения открывания более чем одной двери необходимы системы блокирования или звуковой сигнализации. Смежные помещения с другими классами чистоты должны иметь разницу в давлении 10-15 Па (норма GMP ЕС). В каждом чистом помещении должна функционировать сигнальная система, предупреждающая о нарушении или прекращении процесса подачи стерильного воздуха.

Для обеспечения производства стерильных растворов обеспыленным стерильным воздухом используют как обычные системы турбулентной вентиляции, обеспечивающие стерильность воздуха в помещении, так и системы с ламинарным потоком воздуха по всей площади помещения или в определенных рабочих зонах.

При турбулентном потоке очищенный воздух содержит до 1000 частиц в 1 л, при подаче воздуха ламинарным потоком по всему объему помещения содержание частиц в воздухе в 100 раз меньше.

Помещения с ламинарным потоком – это такие помещения, в которых воздух подается по направлению к рабочей зоне через фильтры, занимающие всю стену или потолок, и удаляется через поверхность, противоположную входу воздуха.

Различают две системы: **вертикальный ламинарный поток**, при котором воздух движется вверх через потолок и уходит через решетчатый пол, и **горизонтальный ламинарный поток**, при котором воздух поступает через одну, а уходит через противоположную перфорированную стенку. Ламинарный поток уносит из комнаты все взвешенные в воздухе частицы, поступающие от любых источников (персонал, оборудование и др.).

В чистых помещениях должен создаваться ламинарный поток. Системы ламинарного воздушного потока должны обеспечивать равномерную скорость движения воздуха: около 0,30 м/с для вертикального и около 0,45 м/с для горизонтальных потоков. Подготовка и контроль воздуха на механические включения и микробиологическую обсемененность, а также оценка эффективности работы воздушных фильтров должны проводиться согласно нормативно-технической документации.

Высокая чистота воздушной среды создается фильтрованием через фильтр предварительной очистки и далее с помощью вентилятора - через стерилизующий фильтр с фильтрующим материалом марки ФПП-15-3,

представляющим слой ультратонких волокон из полихлорвинилового полимера. Внутри помещения дополнительно могут устанавливаться передвижные рециркуляционные воздухоочистители ВОПР-0,9 и ВОПР-1,5, которые обеспечивают быструю и эффективную очистку воздуха за счет механической филтрации его через фильтр из ультратонких волокон и ультрафиолетовой радиации. Воздухоочистители могут использоваться во время работы, т.к. не оказывают отрицательного влияния на персонал и не вызывают неприятных ощущений.

Для создания сверхчистых помещений или отдельных зон внутри него размещается специальный блок, в который подается автономно ламинарный поток стерильного воздуха.

14. Требования GMP к технологическому оборудованию.

- оборудование должно соответствовать своему назначению
- должно быть приспособлено к очистке и тех обслуживанию
- само оборудование, инвентарь не должны быть источниками загрязнения
- не должно ухудшать качество продукции и представлять какую-либо опасность
- точность приборов и шкала измерений должны соответствовать требованиям к параметрам, которые они контролируют
- части технологического оборудования, которые вступают в контакт с продуктом не должны выделять или абсорбировать вещества

15. Испытания и аттестация оборудования, приборов, процессов, методов.

Термин «испытания» применяют при проведении измерений, создании или моделированию определенных условий.

А «аттестация» применяют к методикам, процессам (стерилизации, например), помещениям (аттестация чистых помещений, например).

По смыслу термины равнозначны

- Испытания оборудования проводятся на заводе-изготовителе.
- На месте эксплуатации проводятся испытания критического!!! оборудования и процессов т.е. которые влияют на безопасность. В этом главное отличие от обычной проверки(где проверяют исправность, комплектующие). НЕ НУЖНО ИСПЫТЫВАТЬ ВСЁ, что есть на производстве.

Критическое оборудование и процессы:

- чистые помещения и чистые зоны (ГОСТ Р ИСО 14644-4);
- процессы стерилизации (первичной упаковки, готовой продукции);
- процессы стерилизующей фильтрации в асептическом производстве;
- HEPA фильтры, установленные в технологическом оборудовании;
- процессы лиофилизации;
- процессы обработки (очистки) поверхностей, соприкасающихся с продукцией;
- системы подготовки воды для инъекций и воды очищенной;
- процессы гомогенизации (обеспечения однородности продукции), при необходимости;
- процессы асептического наполнения (ГОСТ Р ИСО 13408-1);
- аналитические методы контроля, не содержащиеся в утвержденных нормативных документах;
- системы с компьютерным управлением и контролем, в том числе с использованием электронных подписей.

Аттестацию также следует проводить для других процессов и видов оборудования, влияющих на качество продукции.

Критические параметры: температура сушки; точность весов; чистота оборудования соприкасающихся с продуктом; чистота сжатого воздуха и т.



Виды аттестации:

- перспективная (перед вводом в эксплуатацию)
- текущая (проводится с периодичностью)
- ретроспективная (проводится для объектов на основе предшествующих данных, например есть отклонения от спецификаций, ошибки)

Проводят аттестацию установленного оборудования (сразу после монтажа-качество швов, правильность установки вентилях, фильтров..), в оснащенном состоянии (проверяют работу, например получилась ли таблетка в таблеточном прессе..) аттестация в эксплуатации (проверяют изделие – действительно ли таблетки получают одинакового веса).

Испытание проводится по методике разработчика-изготовителя, которая входит в комплект поставки оборудования, либо содержится в нормативном

документе (гост). Объекты и состав работ определяются Программой испытаний.

Аттестацией процесса называется соответствие процесса заданным требованиям. Т.е. Недостаточно убедиться только в правильности работы отдельных единиц оборудования (стерилизатора, таблеточного пресса) или систем (подготовка воды). Необходимо учитывать совместную работу «машин», и учитывать для какой продукции их используют (таблетки, лекарства в ампулах). Т.е. это индивидуальные особенности процесса, где влияет каждый этап, но главная его задача получить продукт с заданными свойствами.

16. Критические процессы и оборудование.

Правила GMP из всего, что есть на предприятии, выделяют **критическое оборудование и процессы**, которые непосредственно влияют на качество продукции. Испытания (аттестация) в плане GMP проводятся только для них.

ГОСТ Р 52537–2006

8.6 Помещения, оборудование и процессы, подлежащие аттестации

Аттестации подлежат помещения, оборудование и процессы, имеющие критические параметры. К ним, в первую очередь, относятся:

- чистые помещения и чистые зоны (ГОСТ Р ИСО 14644-4);
- процессы стерилизации (первичной упаковки, готовой продукции);
- процессы стерилизующей фильтрации в асептическом производстве;
- HEPA фильтры, установленные в технологическом оборудовании;
- процессы лиофилизации;
- процессы обработки (очистки) поверхностей, соприкасающихся с продукцией;
- системы подготовки воды для инъекций и воды очищенной;
- процессы гомогенизации (обеспечения однородности продукции), при необходимости;
- процессы асептического наполнения (ГОСТ Р ИСО 13408-1);
- аналитические методы контроля, не содержащиеся в утвержденных нормативных документах;
- системы с компьютерным управлением и контролем, в том числе с использованием электронных подписей.

Аттестацию также следует проводить для других процессов и видов оборудования, влияющих на качество продукции.

Например, при производстве медицинских иммунобиологических препаратов к *критическим процессам* относится культивирование вирусов и микроорганизмов, их инактивация, выделение различных компонентов, очистка и пр.

Критическое оборудование для производства твердых форм

Аттестации подлежат:

- критическое технологическое оборудование (по критическим параметрам);
- критическое оборудование подготовки и распределения технологических сред, соприкасающихся с продуктом.

Оборудование, имеющее критические параметры, является критическим. К **критическому оборудованию** относятся:

- измельчители;
- смесители;
- грануляторы;
- сушилки;
- таблетпрессы;
- капсульные машины;
- системы мойки и очистки на месте;
- НЕРА фильтры, установленные в оборудовании;
- оборудование для первичной упаковки продукции;
- другие виды оборудования.

Весы и другие средства измерения или контроля должны быть поверены или калиброваны.

Критическими также являются чистые помещения и чистые зоны, технологические среды, соприкасающиеся с продуктом (сжатый воздух, вода очищенная, пар, вакуум и пр.).

Для каждого вида критического оборудования следует определять **критические параметры**, подлежащие аттестации.

Примерами критических параметров являются:

- температура сушки;
- точность весов;
- чистота поверхностей оборудования, соприкасающихся с продуктом;
- чистота воздуха внутри оборудования;
- чистота сжатого воздуха и пр.

Для биотехнологии примерами критических факторов являются:

- несоответствие концентрации инокулированных клеток норме;
- загрязнения материала;
- передача материала в биореактор;
- процесс очистки биореактора.

Критическими параметрами и операциями в биотехнологии являются [21]:

- чистота оборудования;
- свойства исходных материалов, в т.ч. клеток;
- взвешивание;
- растворение;
- приготовление сред;
- культивирование;
- параметры в биореакторе (*pH*, растворенный кислород, перемешивание);
- сбор материала;
- очистка;
- наполнение;
- лиофилизация;
- упаковка;
- маркировка.

Наиболее вариабельным процессом является культивирование клеток. Живые микроорганизмы могут выделять белки, после них остается клеточный дебрис. Изменения в их выделении влияют на кривую размножения. Нужно проверить стабильность клеток и их чистоту и специализировать биореакторы по видам бактерий, дрожжей или клеток млекопитающих для исключения перекрестного загрязнения, если не обосновано иное.

17. Методы оценки чистоты поверхностей и аттестация процессов очистки оборудования.

Для оценки чистоты поверхностей применяются методы:

- визуальный осмотр,

Достаточен для не критических поверхностей. Этот осмотр проводят **все** операторы **до начала работы**, независимо от методов отбора и анализа проб. Недостатком является его субъективность, однако человек может оценить чистоту всей видимой поверхности, а не только отдельных мест.

- Отбор проб с последующим анализом

Метод мазков. Ватной палочкой, на конце которой находится тампон из шерсти, хлопка или другого нейтрального материала, проводят по поверхности в определенном порядке. (рекомендуется: площадь поверхности соприкосновения не менее 100 см²). Затем тампон помещается в растворитель, который извлекает остатки загрязнений - прямой метод отбора проб. Порядок отбора проб, включая площадь поверхности, число мазков и выбор мест для взятия проб устанавливаются методикой аттестации с учетом особенностей оборудования и процесса. Мазки следует отбирать в точках, наиболее подверженных накоплению загрязнений (углы, крепежные детали).

Метод смывов. Выполняется ополаскивание поверхности оборудования и последующий анализ собранной (стекшей) с поверхности жидкости. Для съемных частей может использоваться их окунание в емкость с жидкостью с активным ополаскиванием.

- метод плацебо.

После очистки оборудования осуществляется выпуск серии плацебо - вещества, не содержащего активных ингредиентов, а затем эта серия анализируется на наличие посторонних веществ (остатков предыдущего продукта или детергентов). Этот метод имитирует процесс производства и наглядно показывает характер следов предыдущей серии в последующей серии продукции.

Аттестация проводится в несколько этапов:

- расчет предельно допустимых остатков предыдущего продукта, т. е. задание **критерия чистоты**;
- отбор проб;
- анализ проб;
- проверка соответствия критерию допустимости;
- оформление протокола аттестации.

Главное оценить количество остатков предыдущего продукта, которые могут попасть в следующий продукт.

Критерии чистоты.

- а) не более 0, 1 % минимальной терапевтической дозы любого продукта в максимальной дневной дозе последующего продукта;
- б) не более 10 ppm любого продукта, обнаруживаемого в другом продукте;
- с) отсутствие видимых остатков на оборудовании после проведения очистки;
- д) для некоторых аллергенов, пенициллинов остатки должны быть ниже предела обнаружения лучшими имеющимися в распоряжении аналитическими методами; на практике это может означать организацию производства на специализированных предприятиях.

Для аттестации методов очистки достаточно успешного проведения трех последовательных циклов очистки.

18. Требования к аналитическим методам и оборудованию.

ды контроля. Эти методы используются также при аттестации процессов очистки оборудования (оценки остатков предыдущего продукта, моющих средств, продуктов распада) и в других случаях.

Таким образом, областью применения аналитических методов является контроль:

- исходных материалов;
- промежуточной продукции;
- готовой продукции;
- процессов очистки оборудования и пр.

Аналитический метод должен давать одинаковые результаты при работе на одинаковом оборудовании в различных лабораториях и разными операторами.

Для этого необходимо, чтобы:

- сам метод соответствовал заданным требованиям;
- метод был обоснован и утвержден;
- приборы и оборудование функционировали так, как предусмотрено;
- персонал работал грамотно и добросовестно.

Рассматривая аттестацию аналитических методов, следует выделить:

- аттестацию собственно *аналитических методов* (далее аналитические методы и аттестация аналитических методов);
- аттестацию *приборов и оборудования* (далее приборы) в целесообразном объеме;

В описание метода должны входить:

- порядок отбора проб (объем и число проб, метод отбора проб, контейнеры, в которые отбираются пробы, указания по предварительной обработке пробы, при необходимости, и т. д.);
- особые условия хранения проб, при необходимости;
- требования к реагентам;

- описание оборудования;
 - методика проверки работоспособности оборудования;
 - методика проверки работоспособности аналитического метода (например, разделяющей способности хроматографических колонок);
 - требования к условиям проведения контроля, включая условия проведения реакций и использование реагентов для приготовления производных;
 - меры предосторожности;
 - порядок обработки результатов с указанием метода статистического анализа, если это требуется.
- Следует указать контрольные (эталонные) образцы или материалы.

19. Требования правил GMP к персоналу. Чистота и гигиена персонала. Требования к работе персонала в чистых помещениях.

Общими требованиями к персоналу являются:

- дисциплина и обязательность
- поддержание чистоты и порядка на рабочем месте
- элементарная культура
- нахождение на рабочем месте в соответствующей одежде
- пригодность по состоянию здоровья

Чистота и гигиена

Правила гигиены элементарны и связаны с общей культурой человека.

Персонал, прежде всего, должен:

- мыть руки после туалета;
- не вытирать пальцами нос;
- перед посещением туалета снимать халат;
- не чихать и не кашлять в сторону рабочей зоны, а если возникла потребность, чихнуть в перчатку, которую сразу же следует заменить в установленном для того месте.

Каждый, кто работает в чистых помещениях, должен ежедневно принимать дома душ, причем именно душ, а не ванну. (Известный английский специалист по обучению технике чистых помещений Тони Уэринг образно говорит, что мыться в ванной - это мыться в супе из собственных загрязнений).

Мыться нужно в проточной воде. Голову и тело после мытья нужно насухо вытирать.

Всегда нужно носить чистое нижнее белье и чистую одежду.

Нужно следить за полостью рта и ежедневно чистить зубы.

В производстве лекарственных средств особую опасность представляют микроорганизмы.

Для их размножения необходимы три условия:

- тепло,
- влага,
- питательная среда.

Многие части тела дают идеальное сочетание этих условий. В первую очередь к ним относятся голова и другие волосяные покровы (борода, усы и пр.), нос, рот, уши, места за ушами, ногти и области вокруг них, скрытые места тела человека. При мытье им нужно уделять особое внимание.

20. Типовая схема биотехнологического производства. Основные используемые операции.

- 1) Подготовительная стадия – подготовка подпиток, воздуха, проверка оборудования и стерилизация.
- 2) Внесение посевного материала, запуск биореактора – обслуживание процесса биосинтеза, удаление токсичных продуктов обмена, контроль показателей роста культуры и выхода готового продукта.
- 3) Выделение целевого продукта – фильтрация, отстаивание, центрифугирование, методы химической экстракции из культуральной жидкости с целью выделения внутриклеточных или внеклеточных продуктов синтеза.
- 4) Очистка продукта – более тонкая очистка продукта не только от остатков культуральной жидкости, но и от побочных продуктов метаболизма культуры.
- 5) Изготовление готовой формы – доочистка, концентрация с целью придания продукту формы необходимой для коммерческой реализации. Сушка, упаковка и отправка продукции.

25. Методы хранения музейной культуры микроорганизмов.

- Консервация замораживанием при низких температурах (до -130). Температуры достигают хладореагентами и сжиженными газами.
- Консервация высушиванием из замороженного состояния (вода испаряется в условиях вакуума, не нарушая структуру объекта сушки). Лиофилизация требует специального оборудования.
- Консервация высушиванием из жидкого состояния (вакуумная сушка образцов в жидкой фазе). Культура сохраняется в специальной клеточной суспензии.

27. Микробиологический контроль на биотехнологическом производстве, объекты и методы контроля, мероприятия по ликвидации микробной контаминации.

Используется практика “чистых” и “не стерильных” помещений. В не стерильных проводятся операции по подготовки всех процессов необходимых для производства.

Стерильная продукция производится в асептических условиях, которые исключают возможность ее загрязнения микроорганизмами и механическими частицами.

Постоянно проводят мероприятия по проверке чистоты, помещения обрабатываются, количество микроорганизмов на поверхностях и в воздухе контролируется различными методами (специальные приборы, открытые чашки Петри).

При входе в чистые помещения используют специальную одежду, специальная система вентиляции не даёт возможности проникать воздуху из не стерильных помещений.

Программа микробиологического мониторинга включает:

- Определение микробной контаминации воздуха (КОЕ / м³);
- Контроль критических поверхностей, непосредственно контактирующих со стерильным материалом, рук и одежды персонала, работающих в асептических производственных зонах;
- Оценку эффективности дезинфекции; помещений и оборудования;
- Проверку активности дезинфектантов;
- Контроль эффективности работы стерилизующих воздушных фильтров;

24. Методы стерилизации материалов, оборудования и питательных сред.

Методы стерилизации питательных сред и посуды:

Различают термическую и холодную стерилизацию.

Способы термической стерилизации:

- прокаливание в пламени и обжигание,
- сухожаровая стерилизация (горячим воздухом),

- стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование),
- дробная стерилизация (тиндализация), кипячение.

Методы холодной стерилизации:

- стерилизация фильтрованием,
- газообразными средствами,
- ультрафиолетовыми лучами и другими видами излучений

26. Основные требования к работе с главным и рабочим банками культуры клеток.

Главный банк клеток (ГБК) — запас клеток, полученных из одного посевного пула клеток, сохраняемых в контейнерах в равных частях однородного состава на определенном уровне пассажа при температуре не выше минус 70 °С. Предназначен для последующего создания рабочего банка клеток.

Рабочий банк клеток (РБК) — запас клеток однородного состава, полученных из ГБК на определенном уровне пассажа, сохраняемых в контейнерах в равных частях при температуре не выше минус 70 °С. Используются для получения производственной клеточной культуры.

Во время аттестации проверяют следующие показатели ГБК и РБК

- Наименование клеточной культуры;
- Коллекционный шифр (клеточной линии, ГБК, РБК);
- История получения (происхождение) клеточной культуры и создания ГБК и РБК;
- Запас клеток (количество сохраняемых контейнеров в банках клеток, количество клеток в емкости);
- Номер пассажа и дата закладки клеток на хранение;
- Условия криоконсервации, режим хранения и жизнеспособность клеток после размораживания;
- Ростовые свойства (способ культивирования, питательная среда, посевная концентрация, метод снятия клеток, кратность посева, температура культивирования, частота пассирования);
- Подлинность (морфология, кариологическая характеристика, молекулярно-генетические методы исследования);
- Стерильность (отсутствие микробных агентов, в том числе микоплазм);
- Присутствие посторонних вирусов, в том числе эндогенных;

- Туморогенность (если применимо);
- Онкогенность (если применимо);
- Стабильность биологических свойств (количество рекомендованных для производства пассажей)
- Сфера применения, чувствительность к производственному штамму вируса.

28. Технология получения посевного материала и используемое оборудование. Микробиологический и химический контроль на данной стадии

При подготовке посевного материала необходимо пройти 3 стадии (на каждой стадии должны соблюдаться методы асептики и предотвращения заражения):

- 1) Подготовка и стерилизация оборудования и растворов
- 2) Приготовление посевного инокулята
- 3) Мероприятия по микробиологическому контролю

На первом этапе, мы подготавливаем всю необходимую нам лабораторную посуду (колбы, шпатели, пипетки, цилиндры и тд.). Они стерилизуются в автоклаве. Далее производят подготовку растворов и сред (фосфатный буфер, железо, магний, м.э и тд.), которые также стерилизуются.

Далее в ламинарном шкафу мы вносим в пробирку со скошенным агаром небольшое количество среды и петлёй смываем культуру с поверхности агара в колбу. Далее добавляем растворы и источник углерода (масла, глюкоза, фруктоза). И ставим на мешалку.

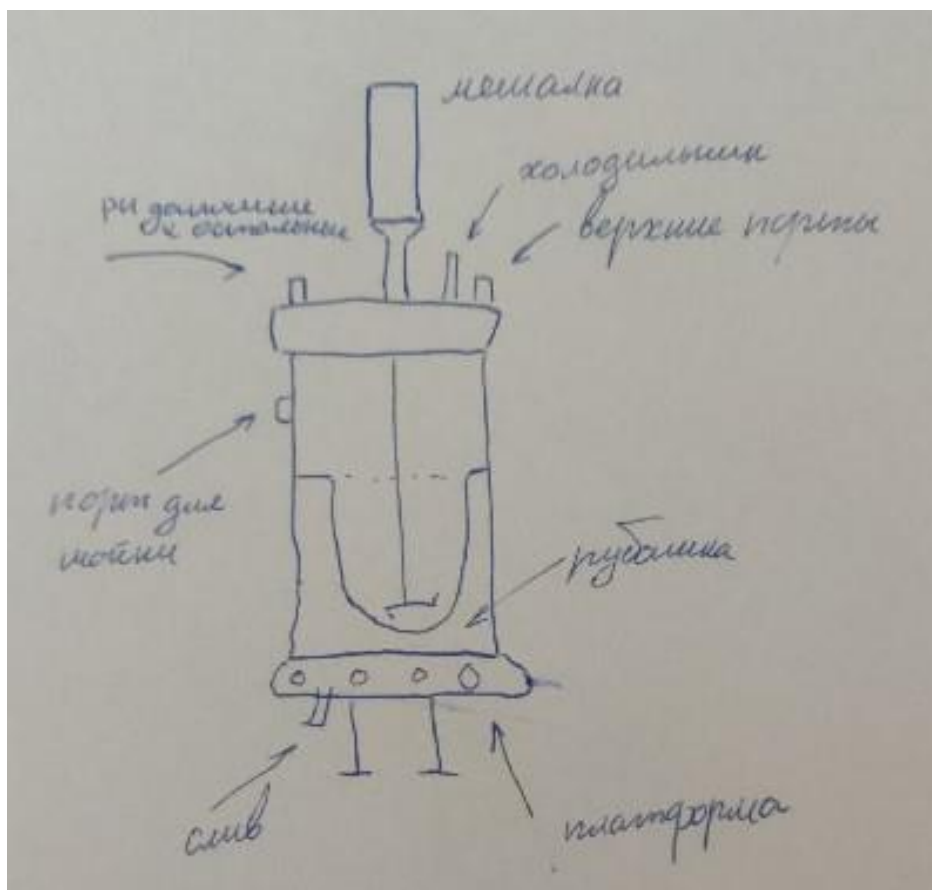
Во время подготовки инокулята микробиологический контроль проводят 2 раза. Первый после смыва музейной культуры в колбу, второй – перед посевом бактерий в ферментёр. Микробиологический контроль проводят методом посева в чашки петри на плотную питательную среду, предварительно при этом разводя культуру.

При необходимости проводят исследование био/химических показателей в инокуляте (концентрации азота, глюкозы, фруктозы, оптической плотности и тд.)

29. Устройство и эксплуатация ферментера. Основные параметры процесса биосинтеза и их контроль.

Эксплуатация. Программа BioSCADA Lab оборудование:

- термодатчик,
- рН-датчик,
- датчик растворённого кислорода,
- манометр,
- обороты мешалки,
- подача воздуха и питательных веществ,
- антипенная система.



30. Стерилизация ферментера, калибровка контрольно-измерительного и аналитического оборудования. Технология стерильной подачи питательных растворов. Отбор и анализ проб, основные методики.

Для подготовки ферментера к процессу стерилизации, необходимо провести следующие последовательные процедуры:

- помыть ферментер мыльным раствором с ополаскиванием дистиллированной водой;
- залить в ферментёр фосфатного буфера;
- поставить датчик рН, место присоединения кабеля закрыть колпачком;
- поставить датчик DO, место прикрепления кабеля закрыть фольгой;
- взять из ремкомплекта ферментера резиновую/силиконовую мембрану, поставить в порт технологический и закрепить с помощью шестигранника на 2 мм;
- поставить пробоотборник;
- поставить воздушные фильтры PTFE 0.2 μm $\varnothing 73$ mm (воздух должен подаваться от направления надписи на фильтре) на систему подачи и выпуска воздуха;
- поставить на трипорт подачи питательных сред отрезки шлангов и обернуть фольгой;
- закрыть фольгой гнездо двигателя мешалки;
- закрыть зажимы на пробоотборнике;
- поставить ферментёр на стерилизацию в автоклав. Для предотвращения избыточного давления - гайки ферментёра завинтить не плотно;
- стерилизовать ферментер в автоклаве при давлении 1 атм., температуре 121°C, продолжительности 30 минут, после чего оставить остывать в автоклаве до комнатной температуры;
- извлечь ферментер из автоклава после остывания, предварительно закрутив гайки на крышке ферментера, и поставить на рабочую платформу.

Датчик рН калибруется по двум буферным растворам с известной величиной рН (4,00 и 7,00).

Для стерильной подачи во всех ферментационных системах предусмотрены перистальтические насосы, которые не позволяют осуществлять прямой контакт с подаваемыми питательными средами: устанавливается шланг с иглой, которая пробитием вставляется через стерильный вкладыш в верхний порт.

Для **отбора пробы** необходимо:

- подсоединить емкость для сбора пробы;
- открыть зажим перед шприцом и шприцом создать вакуум в емкости для сбора пробы;
- открыть зажим возле штуцера пробоотборника;
- после наполнения емкости, закрыть зажим возле штуцера пробоотборника, затем закрыть зажим перед шприцом;
- отсоединить емкость для сбора пробы от пробоотборника.

Анализ пробы включает в себя:

- Определение сухого веса;
- Входной контроль биомассы;
- Определение оптической плотности растущей культуры;
- Определение концентрации глюкозы в процессе ферментации;
- Определение содержания азота;
- Анализ выполняется не реже одного раза в два часа, аналогично стадии;
- Микробиологический контроль.

31.Технология помывки ферментационной линии, методы контроля чистоты оборудования.

Помывка ферментёра проводится через боковые порты на колбе. В них устанавливается помывочная головка и производится специальной СІР-мойкой:

- Запуск СІР-мойки;
- Мойка ферментера водой (50°С);
- Помывка ферментера раствором щелочи (1,4% раствор КОН, 75°С);
- Помывка ферментера раствором кислоты (1,4% раствор Н₂SO₄, 65°С);
- Промывка ферментера водой и продутие воздухом.

Так же осуществляется помывка мыльным раствором и дистиллированной водой.

После стерилизации, стерильную посуду и инвентарь нужно хранить в ламинарном шкафу в стерильных условиях.

Методы контроля чистоты оборудования:

- Визуальный осмотр;
- Мазки с внутренних поверхностей;
- Отбор проб моющей жидкости после последней промывки;
- Контроль загрязнений в следующей серии;
- Методы непосредственного контроля для определения остаточного загрязнения.

32. Технология переработки биомассы и получение готового продукта.

Концентрирование биомассы:

- Сгущение биомассы с использованием вакуумно-выпарного аппарата УВВ-50 или ультрафильтрационной установки Владисарт;
- Отделение из биомассы, оставшейся после сгущения культуральной жидкости проводят с использованием центрифугирования;
- Выделение полимера:
- Бактериальная паста, через загрузочный люк помещается в экстрактор. Далее в фильтр, где происходит отделение экстракта от шрота. Полученный экстракт собирается в отстойнике, а шрот возвращается в экстрактор на последующую экстракцию;
- Полимер отделяется от растворителя на фильтре. Происходит удаление растворителя под вакуумом, затем полимер отжимается и продувается воздухом для удаления паров растворителя;
- Отжатый и продутый воздухом полимер высушивается в сушильном шкафу;
- Физико-химический контроль;
- Утилизация экстрагента и осадителя.

33. Технологическая схема производства биополимеров.

