МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ

В чем состоит смысл GMP для процессов стерилизации? Во-первых, стерилизация – критический процесс, обеспечивающий безопасность лекарственного средства. Во-вторых, нужно правильно выбрать процесс стерилизации, оборудование для стерилизации и построить весь процесс так, чтобы стерилизация дала требуемый эффект. В-третьих, нужно показать, что процесс стерилизации действительно дает нужный эффект. Для подтверждения этого применяются биологические и химические индикаторы (п.п. 1.8 и 1.9).

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

Требования правил GMP к стерилизации. Согласно приложению 1, п. 80 и 81 к ГОСТ Р 52249-2009, следует:

– определять исходное микробное загрязнение материала или продукта, т. е. его бионагрузку, до начала стерилизации,

– определять уровень исходного загрязнения для каждой серии продукции как в асептическом производстве, так и в производстве продукции, подлежащей финишной стерилизации; если применяется режим стерилизации overkill, то проверку исходного загрязнения можно проводить периодически по утвержденному графику;

– установить предельные значения загрязнения материала (продукта) непосредственно перед стерилизацией; эти значения определяются с учетом эффективности применяемого метода стерилизации;

– при выпуске продукции по параметрам проверять исходное загрязнение для каждой серии продукции, включив это в систему внутрипроизводственного контроля;

– при необходимости проводить испытания на пирогенностъ;

– обеспечивать стерилизующую фильтрацию всех растворов (особенно инфузионных растворов больших объемов); фильтры следует устанавливать, по возможности, непосредственно перед наполнением, в зоне А;

– стерилизовать компоненты первичной упаковки, оборудование и другие предметы, используемые в чистых зонах асептического производства, причем эти предметы должны поступать в чистую зону через проходные стерилизаторы, герметично встроенные в стены, либо передаваться другим способом, защищающим от внесения загрязнений;

– обеспечивать стерилизующую фильтрацию технологических газов (негорючих).

ФИНИШНАЯ СТЕРИЛИЗАЦИЯ

Стерилизация паром

Предпочтительным методом стерилизации, особенно для водных растворов, является стерилизация насыщенным паром под давлением. Европейской фармакопеей (п. 5.1.1) для водных растворов в качестве номинального режима принята стерилизация при температуре не менее 121 °С в течение 15 мин. Это – не догма. Могут выбираться и другие режимы (глава 2).

Стерилизация сухим горячим воздухом и депирогенизация

Этот метод стерилизации может выполняться для обработки стеклянной первичной упаковки, инструментов, оборудования и отдельных видов материалов и продукции, выдерживающих высокую температуру. Для стерилизации сухим горячим воздухом в наихудших условиях требуется температура 160-170 °С, для депирогенизации (разрушения бактериальных эндотоксинов) – 250 °С.

Радиационная стерилизация

Радиационная стерилизация (стерилизация ионизирующим излучением) используется в случаях, когда продукция или материалы не допускают стерилизации теплом, но выдерживают радиацию.

Продукт подвергается воздействию ионизирующего излучения (гамма-излучения) радионуклидов, например, кобальта 60, или пучка электронов от ускорителя электронов. Стерилизующая доза (минимальная поглощенная доза, необходимая для достижения установленного уровня стерильности) должна составлять 25 кГр. Могут быть использованы другие дозы, если они обеспечат требуемую летальность микроорганизмов (гарантированный уровень стерильности < 10^{-6}, п. 5.1.1).

Испытания процесса стерилизации должны проводиться для каждой схемы загрузки и учитывать возможные изменения этой схемы. В качестве дополнительного средства контроля, особенно при использовании ускорителей электронов, рекомендуется использовать биоиндикаторы (п. 1.9). Порядок испытаний показан на рис. 1.

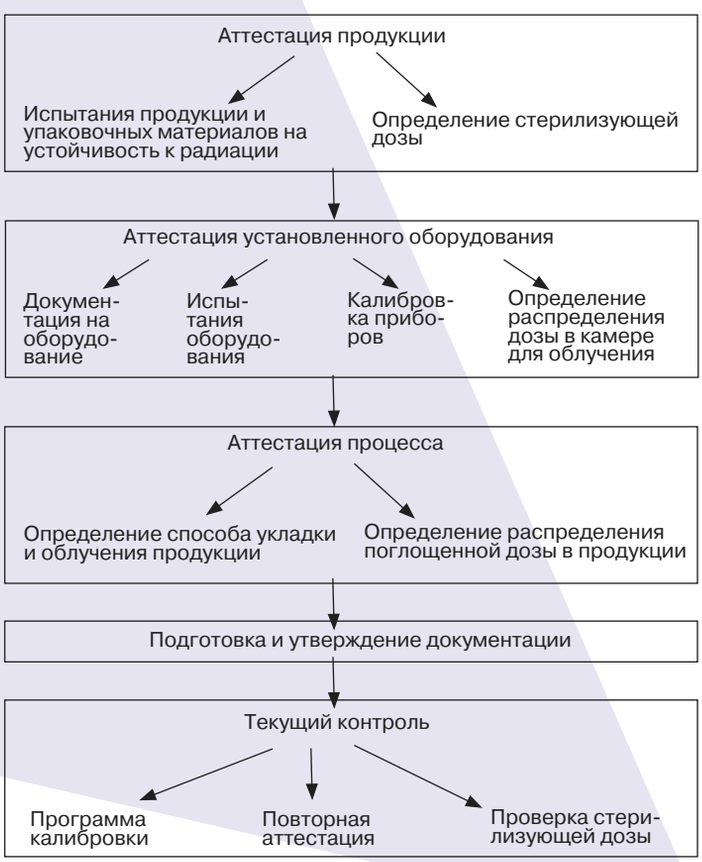

Рис. 1. Порядок испытаний процесса радиационной стерилизации

Радиационную стерилизацию допускается применять только при условии отсутствия ее отрицательного влияния на продукт. Требования к ней даны в ГОСТ Р ИСО 11137-1-2008 и др. Согласно правилам GMP, приложение 1, во время процесса стерилизации следует измерять поглощенную дозу ионизирующего излучения при помощи дозиметров. Показания дозиметров не должны зависеть от мощности излучения. Дозиметры должны показывать поглощенную дозу самой продукцией. В течение времени стерилизации должна быть набрана суммарная поглощенная доза излучения.

Следует принимать меры предосторожности для предотвращения перепутывания облученной и необлученной продукции. С этой целью на каждую упаковку следует наносить индикаторы, изменяющие цвет при облучении.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ ГАЗОМ

Стерилизация газом может применяться только в случаях, когда использование других методов невозможно. Условием стерилизации газом является проникание газа во все точки материала, а затем полное удаление газа.

Поскольку газы, например, этиленоксид, токсичны, требуется доказательство снижения их концентрации и продуктов реакции ниже предельно допустимого уровня. С этой целью после завершения стерилизации материалы должны находиться в вентилируемых зонах. Этот процесс также подлежит аттестации.

В каждом цикле стерилизации следует регистрировать длительность цикла, давление, температуру и влажность в камере во время процесса, концентрацию газа и общее количество использованного газа. Эти данные должны быть включены в протокол на серию готовой продукции.

До начала стерилизации следует привести температуру и влажность загрузки в соответствие с требованиями процесса. Обязательным условием стерилизации газом является контроль процесса биологическими индикаторами. Эти индикаторы должны быть распределены равномерно по всему объему загрузки (п. 12.8). Полученная информация должна быть оформлена документально и входить в протокол на серию готовой продукции. Подробно требования к стерилизации этиленоксидом даны в ГОСТРИСО 11135-2000.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ ПРОДУКТА ДО НАПОЛНЕНИЯ

Стерилизация продукта на предварительных стадиях, до наполнения в окончательную первичную упаковку осуществляется путем стерилизующей фильтрации. Она применяется:

– при производстве продукции, которая не подлежит финишной стерилизации (асептическое производство);

– для стерилизации растворов, подлежащих финишной стерилизации с целью снижения микробной нагрузки.

В первом случае на процесс фильтрации накладываются особые требования, поскольку он непосредственно обеспечивает безопасность лекарственного средства.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ

Биологические индикаторы (биоиндикаторы) предназначены для подтверждения эффективности процесса стерилизации. Биоиндикатор представляет собой носитель (герметично укупоренный стеклянный или пластиковый флакон, пробирку, картридж, ампулу, или фильтровальную бумагу), в который помещен штамм контрольных микроорганизмов. Сам носитель должен быть инертным. Требования к биоиндикаторам установлены Европейской фармакопеей и стандартами серии ГОСТ Р ИСО 11138.

Для каждого типа процессов стерилизации (паром, сухим жаром и пр.) выбирается вид микроорганизмов, наиболее устойчивый к данному процессу стерилизации. Таким образом, обеспечивается выполнение условий наихудшего случая для испытаний с помощью биоиндикаторов.

Биоиндикаторы должны быть стандартными. Это означает, что биоиндикатор должен содержать строго определенное количество спор микроорганизмов данного вида в стандартно исполненной упаковке (носителе). Эта упаковка должна предохранять споры от внешних воздействий до использования биоиндикатора по назначению и обеспечивать контакт микроорганизмов со стерилизующим агентом. Упаковка должна сохранять свойства биоиндикатора неизменными в течение заданного срока хранения.

Характеристики биоиндикатора:

– наименование вида микроорганизмов;

– номер штамма в первоначальной коллекции;

– величина D.

Величина D представляет собой значение параметра стерилизации (времени или поглощенной дозы), необходимого для снижения числа жизнеспособных микроорганизмов данного вида в 10 раз по сравнению с исходным значением в заданных условиях.

Для оценки эффективности стерилизации биоиндикаторы следует помещать в точки, в которых условия стерилизации являются наихудшими. Эти точки должны быть определены при испытаниях процесса стерилизации. Если после инкубации наблюдается рост микроорганизмов, то режим стерилизации неэффективен, о чем можно судить по изменению цвета биоиндикатора. Примеры биоиндикаторов показаны на рис. 2. При росте микроорганизмов цвет биоиндикатора меняется от насыщенного голубого до ярко-желтого.

Требования к микроорганизмам, входящим в биоиндикатор:

– устойчивость штамма к данному методу стерилизации по сравнению с другими микроорганизмами, которые могут попасть в продукт;

– отсутствие патогенности;

– легкость культивирования.

Согласно правилам GMP, приложение 1:

п. 87. Биологические индикаторы следует рассматривать в качестве дополнительного метода контроля стерилизации;

п. 91. Допускается использовать химические и биологические индикаторы, но они не должны заменять проведение физических измерений.

До стерилизации | Стерилизация прошла успешно (роста микроорганизмов нет) | Стерилизация не выполнена (есть рост микроорганизмов)

До стерилизации | Стерилизация прошла успешно | Стерилизация не выполнена (есть рост микроорганизмов)

a) процесс стерилизации паром

b) процесс стерилизации этиленоксидом

Рис. 2. Биоиндикаторы SGM Biotech Inc. (предоставлены фирмой Miclev AB)

Биоиндикаторы являются дополнительным средством подтверждения эффективности стерилизации как при проведении испытаний, так и в серийном производстве. Они не отменяют необходимость проведения полного цикла испытаний с анализом физических параметров и регистрации параметров при текущем контроле процесса стерилизации. Европейская фармакопея рекомендует использование биоиндикаторов для ряда процессов стерилизации.

Стерилизация паром

При испытаниях процессов стерилизации паром рекомендуется использовать биоиндикаторы, содержащие споры Geobacillus stearothermophilus (ранее Bacillus stearothermophilus). Число жизнеспособных спор на одном носителе должно быть более 5 x 10^5. Величина D при температуре 121 °C превышает 1,5 мин. Доказано, что после воздействия пара на биоиндикаторы при температуре 121 ± 1 °C в течение 6 мин жизнеспособные споры остаются, но при температуре 121 ± 1 °C в течение 15 мин все жизнеспособные споры гибнут.

Стерилизация сухим горячим воздухом

При испытаниях процессов стерилизации сухим горячим воздухом (сухим жаром) рекомендуется использовать биоиндикаторы, содержащие споры Bacillus atrophaeus (ранее Bacillus subtilis). Число жизнеспособных спор на одном носителе должно быть более 1 x 10^5. Величина D при температуре 160 °C составляет от 1 до 3 мин. Вместо биоиндикаторов можно проверять снижение числа устойчивых к теплу бактериальных эндотоксинов в 1000 раз.

Радиационная стерилизация

Биоиндикаторы могут использоваться при текущем контроле процессов радиационной стерилизации (стерилизации ионизирующим излучением) в качестве дополнительного средства контроля, особенно при использовании ускорителей электронов. Рекомендуется использовать биоиндикаторы, содержащие споры Bacillus pumilus. Число жизнеспособных спор на одном носителе должно быть более 1 x 10^7. Величина D превышает 1,9 кГр. Доказано, что рост контрольных микроорганизмов при поглощенной дозе 25 кГр отсутствует. Это значение принято в качестве минимальной поглощенной дозы.

Стерилизация газом

Использование биологических индикаторов обязательно для всех видов стерилизации газом, как для испытаний, так и для текущего контроля. Для процессов стерилизации этиленоксидом рекомендуется использовать биоиндикаторы, содержащие споры Bacillus atrophaeus.

Число жизнеспособных спор на одном носителе должно быть более 5 x 10^5. Величина D превышает 2,5 мин при концентрации этиленоксида 600 мг/л при температуре 54 °C и относительной влажности 60%. Доказано, что при указанных выше условиях все контрольные микроорганизмы гибнут в течение 60 мин.

ХИМИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ

Химические индикаторы предназначены для контроля процессов стерилизации паром, сухим горячим воздухом, ионизирующим излучением и газами (этиленоксид, пары формальдегида). Их отличие от биоиндикаторов состоит в следующем:

– биологические индикаторы дают прямую оценку эффективности стерилизации по гибели микроорганизмов, содержащихся в биоиндикаторе;

– химические индикаторы дают косвенную оценку по физическому или химическому изменению вещества при достижении им конечного состояния, свидетельствующему о выполнении условий стерилизации.

Биоиндикатор требует термостатирования и затрат времени для получения результата. Химический индикатор, помещенный в загрузку, дает экспресс-оценку эффективности процесса стерилизации сразу после его завершения по изменению состояния индикатора, например, цвета.

Химические индикаторы разделяются на шесть классов (ГОСТ Р ИСО 11140-1-2009 «Стерилизация медицинской продукции. Химические индикаторы. Часть 1. Общие требования»):

1) **Индикаторы процесса** (класс 1) предназначены для использования с изделиями или отдельными упаковками (например, пакетами, коробками) с целью подтверждения того, что данные изделия прошли стерилизационную обработку. Они позволяют отличить стерилизованные изделия (упаковки) от нестерилизованных;

2) **Индикаторы для специальных испытаний** (класс 2) предназначены для использования в специальных испытаниях стерилизацион-ного оборудования; к ним относятся индикаторы Бови-Дика контроля стерилизации изделий со скрытыми полостями (глава 2);

3) **Одновременные индикаторы** (класс 3) реагируют на одну из критических переменных и указывают на проведение стерилизации при установленном значении выбранной переменной;

4) **Многопеременные индикаторы** (класс 4) реагируют на две или более критических переменных;

5) **Интегрирующие индикаторы** (класс 5) реагируют на все критические переменные; выбираются так, чтобы быть равноценными или превосходить характеристики биоиндикаторов по стандартам серии ГОСТ Р ИСО 11138;

6) **Имитирующие индикаторы** (класс 6) реагируют на все критические переменные для специальных режимов стерилизации.

Каждый индикатор должен иметь ясную маркировку с указанием метода стерилизации, для которого он предназначен.

ВЫПУСК ПО ПАРАМЕТРАМ

Проблема

Выпуск по параметрам означает, что продукция может быть выпущена на основе данных о значениях параметров, полученных в ходе технологического процесса без контроля готовой продукции. На первый взгляд это звучит непривычно, но, если вдуматься, то выпуск по параметрам полностью отвечает идеологии GMP. Бывает, что принятие такого решения неизбежно. Срок годности некоторых лекарственных средств, например, радиационных фармацевтических препаратов на основе короткоживу-щих изотопов, исчисляется часами или десятками часов, а для контроля стерильности требуется две недели.

В других случаях выпуск по параметрам также разумен и рационален. Рассмотрим производство инфузионных растворов – стерильной продукции, подлежащей финишной стерилизации. Гарантированный уровень стерильности продукции должен быть не менее 10^6, т. е. в одном миллионе единиц продукции в наихудшем случае должно быть менее одной контаминированной единицы.

Как это проверить? В серийном производстве – никак. Чтобы доказать соответствие этому уровню, нужно проверить на стерильность миллионы единиц продукции, т. е. все производство должно работать на контроль. В действительности контроль стерильности проводится на ограниченной выборке из серии продукции. Такой контроль ни о чем не говорит. Абсолютно негодные серии продукции могут с успехом пройти контроль стерильности и соответствовать требованиям фармакопеи разных стран (п. 9.6).

Это объясняется статистическим, случайным характером появления нестерильных единиц, что особенно выражено при больших размерах серий и малых выборках для контроля. Если при проверке серий продукции обнаруживается рост микроорганизмов, то такое производство нужно закрывать. Если ничего не будет обнаружено, то это также не является доказательством приемлемого уровня производства. Продукцию можно выпускать только в случае соответствия производства требованиям GMP. Это означает наличие датчиков температуры в стерилизаторах, непрерывный контроль температуры и давления в камере в процессе стерилизации, включение распечатки диаграммы этих параметров в протокол серии и многое другое.

Если все это выполнено и соответствует нормам, то микроорганизмов в продукции не будет. Зачем тогда контроль стерильности? Вопрос перестает быть риторическим, если прикинуть, во что обходится карантинное хранение продукции на период проведения контроля стерильности, какие для этого нужны площади, скажем при объеме выпуска 10 млн пакетов инфузионных растворов в год. Такие расчеты проведены. Они показали внушительные цифры затрат, причем затрат ненужных, если производство соответствует GMP. А если не соответствует, то продукцию выпускать нельзя, и любые склады бесполезны.

В результате длительных обсуждений в правила GMP ЕС в 2001 г. было включено приложение 17, которое так и называется: «Выпуск по параметрам».

Первоначально предполагалось использовать выпуск по параметрам для производства инфузионных препаратов, завершающей стадией которого является стерилизация. К настоящему времени стерилизация – хорошо контролируемый процесс, и промышленность давно освоила выпуск стерилизаторов в соответствии с требованиями GMP. Это отмечено в п. 3.4 приложения 17 к правилам GMP:

«В настоящее время выпуск по параметрам допускается только для препаратов, подлежащих финишной стерилизации».

Но жизнь требует идти дальше. Появились диагностические и химиотерапевтические препараты с малым сроком годности, не допускающие финишной стерилизации. Возникла необходимость в распространении выпуска по параметрам на асептическое производство этих препаратов. Такой опыт есть.

Общие требования к выпуску по параметрам

Главным требованием является устойчивая работа производства в соответствии с GMP и наличие положительного опыта работы. Решение о введении выпуска продукции по параметрам должно быть обосновано и согласовано с надзорным органом.

По сравнению с обычной схемой работы приложение 17 к правилам GMP дает ряд специальных указаний в отношении:

– контроля микробного загрязнения (бионагрузки) продукции перед стерилизацией;

– проверки протоколов стерилизации на соответствие требованиям спецификаций с привлечением не менее двух лиц; такой контроль может проводиться двумя сотрудниками или сотрудником и компьютерной системой, прошедшей аттестацию.

Следует исключить возможности перепутывания продукции, прошедшей и не прошедшей стерилизацию (например, физическое разделение, электронный учет) и проверять протоколы стерилизации.

Перед выпуском каждой серии продукции следует дополнительно подтвердить:

– выполнение всех плановых работ по обслуживанию и текущих проверок стерилизатора;

– согласование всех ремонтных работ и изменений с микробиологом и инженером, которые несут ответственность за процесс стерилизации;

– калибровку (поверку) приборов;

– не истек ли срок действия аттестации (испытаний) стерилизатора для данной загрузки.

Комплекс мер по обеспечению стерильности включает в себя:

a) учет требований стерилизации при разработке продукта;

b) получение данных об исходных материалах и технологических средах (например, газах и смазочных материалах) и, по возможности, их микробиологический контроль;

c) контроль загрязнений в ходе технологического процесса;

d) предотвращение перепутывания производственных потоков стерилизованной и нестерилизованной продукции;

e) сохранение целостности продукции;

f) разработку процесса стерилизации;

g) систему качества, в т. ч. систему обеспечения стерильности, а именно: контроль изменений, обучение персонала, наличие письменных инструкций, контроль за выпуском продукции, плановое техническое обслуживание, анализ ошибок и предотвращение ошибок по вине человека, аттестацию (испытания), калибровку (поверку) и т. д.

Если получено разрешение на выпуск стерильной продукции по параметрам, то следует уделить особое внимание аттестации (испытаниям) и текущему контролю всего технологического процесса.

ВИДЫ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

К парентеральным препаратам относятся стерильные лекарственные средства, предназначенные для введения путем инъекций, инфузий или имплантации в тело человека или животного.

В состав парентеральных препаратов могут входить добавки (вспомогательные вещества), например, для придания изотонических свойств по отношению к крови, регулирования pH, повышения растворимости, предотвращения изменения свойств активного ингредиента, или придания антимикробных свойств. При этом не должны изменяться свойства лекарственного средства, связанные с его назначением, или они не должны становиться токсичными или приводить в местному раздражению при заданных концентрациях.

Первичные упаковочные материалы для парентеральных препаратов должны, по возможности, изготавливаться из материалов с достаточной прозрачностью для проведения визуального контроля, за исключением имплантатов и в других установленных случаях.

Парентеральные препараты поставляются в стеклянной или другой первичной упаковке, например, в пластиковых контейнерах или в наполненных шприцах (лекарственным средством). Упаковка должна быть прочной (надежной), а укупорка герметичной и не допускающей проникания микроорганизмов и других загрязнений внутрь. В то же время укупорочный материал должен допускать извлечение части или всего содержимого из упаковки без снятия укупорки. Пластики и эластомеры обладают достаточной прочностью и эластичностью для проникания иглы с минимальным отделением частиц. Укупорочные материалы для многодозовых упаковок должны быть достаточно эластичными и обеспечивать герметизацию отверстия после удаления иглы.

Инъекционные препараты

К инъекционным препаратам относятся стерильные растворы, эмульсии или суспензии. Они готовятся путем растворения, эмульгирования или суспендирования активных субстанций и вспомогательных веществ в воде или другой жидкости или в их смеси.

Многодозовые упаковки включают в себя антимикробные добавки, за исключением случаев, когда сам препарат обладает антимикробными свойствами. Препараты на водной основе, приготавливаемые в асептических условиях и не подлежащие финишной стерилизации, могут содержать антимикробные добавки. Если инъекционный препарат содержит диспергированные (взвешенные) частицы, то при его производстве должен быть предусмотрен контроль частиц по размерам исходя из назначения препарата, а также должна обеспечиваться чистота (отсутствие других частиц).

Объем препарата в упаковке должен быть достаточным для извлечения и введения номинальной дозы препарата.

Инфузионные препараты

К инфузионным препаратам относятся стерильные растворы или эмульсии в воде. Как правило, они обладают изотоническим свойством по отношению к крови. Их принципиальным отличием является то, что они вводятся в большом объеме. Инфузионные препараты не содержат антимикробных добавок.

Концентраты для инъекций и инфузий

К концентратам для инъекций и инфузий относятся стерильные растворы, предназначенные для введения после растворения. Перед введением их следует растворить в требуемом объеме определенной жидкости. После растворения они должны отвечать требованиям к инъекционным или инфузионным препаратам.

Порошки для инъекций и инфузий

Порошки для инъекций и инфузий являются твердыми стерильными веществами, находящимися в окончательной упаковке, которые щж встряхивании после введения в упаковку стерильной жидкости быстро образуют прозрачные и практически не содержащие частиц растворы или однородные суспензии. После этого они должны отвечать требованиям к инъекционным или инфузионным препаратам. Лиофилизированные препараты для парентерального введения рассматриваются как порошки для инъекций или инфузий.

Для подтверждения однородности содержания и однородности массы лиофилизированных препаратов для парентерального введения предусматривается внутрипроизводственный контроль раствора до сублимации (лиофильного высушивания). На этикетке должно быть дано указание о получении инъекционной или инфузионной формы.

Гели для инъекций

К стерильным гелям для инъекций относятся стерильные гели с вязкостью, требуемой для надежного выделения активного ингредиента в зоне инъекции.

Имплантаты

Имплантаты – стерильные твердые препараты с размерами и формой, необходимыми для парентеральной имплантации и выделения активного ингредиента в течение продолжительного времени. Каждый имплантат выпускается в стерильной упаковке.