ИСПЫТАНИЯ НА СТЕРИЛЬНОСТЬ В ИЗОЛЯТОРЕ:
НОРМАТИВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ, ВОЗМОЖНЫЕ ВАРИАЦИИ, ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ОШИБОК НА КОНКРЕТНЫХ ПРИМЕРАХ

На современном этапе развития фармацевтической промышленности постоянно увеличивается количество лекарственных средств, выпускаемых в стерильной форме. Одновременно растет доля высокомолекулярных препаратов, которые не выдерживают финальной стерилизации традиционными средствами. Чтобы обеспечить безопасность данной категории лекарственных средств для пациента, традиционно применяется тест на стерильность препарата. Тест проводится в рабочем пространстве максимальной степени чистоты.

По мере накопления данных по различным схемам контроля качества, обеспечения стерильности и надлежащей производственной практики фармацевтических препаратов сформировались следующие тенденции:

1. Обеспечение качества через рациональную организацию производства и эффективную деконтаминацию («quality by design»). К сожалению, по ряду причин отдельные пробы на стерильность не гарантируют безопасность препарата, равно как микробный рост в пробе не всегда указывает на контаминацию партии. Ситуация осложняется существованием жизнеспособных, но некультивируемых микроорганизмов (VBNC), тем, что выборочными тестами невозможно определить низкую степень заражения партии, когда микробы есть не во всех образцах.

2. Переход в производстве и контроле качества от «открытых» систем (например, шкафов биологической безопасности с ламинарным потоком) к «полностью изолированным», т.е. изоляторам.

3. Автоматизация и внедрение надежного, быстрого и валидируемого способа биодеконтаминации, такого как пары пероксида водорода (HPV).

4. Индивидуальный подход к контролю качества разных препаратов за счет модульной конструкции и специализированной процедуры биодеконтаминации изоляторов, занятых в производстве, обеспечении и контроле качества.

Европейские нормы определяют рабочую область изоляторов чистотой Класса А/5 ISO (согласно Приложению №1 правил GMP об асептических процессах), что подразумевает <1 КОЕ. Любой случай обнаружения микробов требует расследования причин, отнимающего много времени и сил, но не гарантирующего устранения источника заражения.

Изолятор QUBE.
Основной модуль с устройством для деконтаминации парами пероксида водорода HPV для дезинфекции и первичной обработки образцов. Дополнительный модуль со встроенным насосом для тестов на стерильность. Модуль перемещения материалов

Стандарт США для асептических работ, USP<797>, тоже ссылается на ISO 5. Специалисты Европы и США ведут дискуссии об оптимальном способе обнаружения микроорганизмов в изоляторах: детектирование из проб воздуха и подсчет КОЕ, что имеет свои ограничения, или подсчет случаев контаминации, количество которых по микробиологическим требованиям стандарта USP<1116> не должно превышать 0,1%. Однако специалисты сходятся во мнении, что контаминация в «открытых» системах Класса А происходит чаще, чем в изоляторах того же класса, что связано с присутствием человека, даже экипированного соответствующим образом.

Изоляторы, особенно с модульной конструкцией, позволяют оптимальным образом проектировать процесс контроля качества и производства благодаря легкой интеграции с другим оборудованием без нарушения асептических условий.

Обеспечением чистоты Класса А выгоды использования изоляторов не исчерпываются: в замкнутом пространстве легко автоматизировать процесс биодеконтаминации. Эффективность ручной деконтаминации с применением жидкого антисептика или спрея и губки сильно зависит от квалификации персонала и особенностей продуктов, помещаемых в чистую зону (форма, упаковка и т.д.), но и в благоприятных условиях уступает автоматическим способам – таким как стандартная для изоляторов деконтаминация парами пероксида водорода HPV. Валидация автоматического процесса также проще, а ошибки в нем практически исключены.

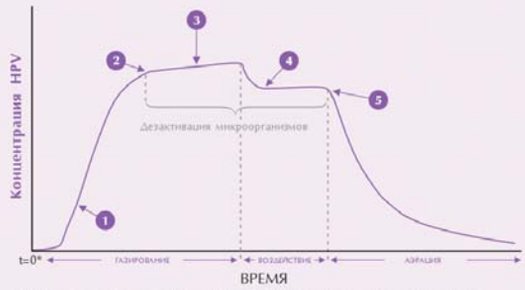
Кроме обязательной по нормам деконтаминации, изолятор позволяет использовать дополнительную полезную функцию – непрерывный контроль числа частиц непосредственно в рабочей области, что позволяет в реальном времени отслеживать потенциальное заражение и прерывать тест на стерильность, чтобы избежать ложных положительных результатов, ведущих к забраковке партии и крупным материальным потерям.

Для тонкой настройки контроля стерильности для отдельных препаратов были разработаны четыре группы методик:

а) обработка парами пероксида водорода HPV целой партии и всех материалов в изоляторе;

б) асептические условия в изоляторе и передаточная камера, в которой идет обработка парами пероксида водорода HPV всех вносимых в изолятор материалов. Сам изолятор подвергается профилактической деконтаминации HPV;

Технология обработки парами пероксида водорода



* Предварительная фаза (до достижения генератором пара необходимой температуры) не отражена.

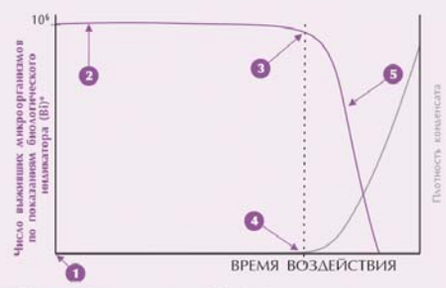
Примечание: значения на графике меняются, например, в зависимости от размеров помещения (и соответствующего температурного эффекта)

Схема распределения концентрации паров пероксида Bioquell по времени

1. HPV введен – начальное быстрое возрастание концентрации паров пероксида
2. Насыщение парами / достижение «точки росы» – начало быстрой биодеконтаминации
3. Концентрационное плато – поддержание микро-конденсации, обеспечивающей биодеактивацию
4. Период действия (контактное время)
5. Аэрация – процесс удаления паров пероксида из атмосферы, обычно каталитической конверсией в пары воды и кислород. В результате пары пероксида удаляются без остатка

Схема точки росы и динамики гибели микроорганизмов

1. Начальное введение паров пероксида в пространство (t=0)
2. Небольшое снижение популяции микроорганизмов до достижения точки росы
3. Быстрая гибель микроорганизмов начинается сразу после достижения насыщения/ «точки росы» – процесс оптимизирован для достижения стабильного сокращения количества спор на шесть порядков на всех поверхностях
4. Начало микро-конденсации совпадает с началом быстрой биодеактивации
5. Биодеактивация достигнута через микро-конденсацию (невидимый слой) пероксида водорода (2-6мкм)



* Типовой биоиндикатор: Tyvek®, заполненный спорами Geobacillus stearothermophilus, с чувствительностью уменьшения количества спор на 6-ть порядков (10^6)

в) асептические условия в изоляторе и две передаточные камеры, одна из которых предназначена для обработки вносимых материалов парами пероксида водорода HPV, а другая служит для транспорта предметов, не выдерживающих обработки пероксидом водорода. В последнем случае используют другой способ деконтаминации. Сам изолятор подвергается профилактической деконтаминации HPV;

г) асептический изолятор с функцией биодеконтаминации парами пероксида водорода HPV и защитой оператора от токсичных или биологически опасных образцов.

В первом случае материалы, загружаемые в изолятор для проведения теста, располагаются на специальных подставках или крючках, что обеспечивает оптимальное проникновение HPV при обработке. Если требуется перенести образцы после теста (например, для инкубации), рекомендуется использовать стерильные контейнеры.

Во втором случае малый объем передаточной камеры обеспечивает быструю обработку материалов за 20-30 мин., сам же изолятор обрабатывается для профилактики по заданному графику.

В случае несовместимости материалов для теста с пероксидом водорода обычно прибегают к ручной деконтаминации, которую дополняет HEPA фильтр в передаточной камере, снижающий риск контаминации изолятора. Сама камера нуждается в периодической деконтаминации пероксидом водорода HPV, чтобы исключить возможность размножения микроорганизмов.

Изолятор для тестирования токсичных, радиационно- или биологически опасных объектов оснащен защитой оператора. Для токсичных веществ это специфические системы обработки (ручные и автоматические), устраняющие опасное загрязнение с поверхностей. Для биологических объектов – системы, уничтожающие любые опасные заражения, включая наиболее устойчивые (например, HPV эффективен для всех биологических объектов вплоть до прионов).

Ошибки в процедуре деконтаминации ведут к ложным положительным и отрицательным результатам тестов на стерильность.

Источники ложных положительных результатов:

1) действия оператора, особенно в утомительных и повторяющихся процедурах;

2) нарушение эргономики рабочего пространства;

3) недостаточная деконтаминация тестируемых образцов;

4) нарушение асептических условий перед работой с оборудованием и образцами. Типичная причина при отсутствии деконтаминации;

5) пренебрежение правилами асептической работы при перемещении образцов, особенно с «открытыми» системами;

6) плохая деконтаминация сточного коннектора;

7) контаминация плохо запечатанного образца еще до теста;

8) неудачный забор проб среды в изоляторе на стерильность, особенно если метод не предусмотрен конструкцией изолятора. Заражение проб при заборе или транспортировке (часто пробы среды культивируют вместе с пробами препарата – дополнительная опасность).

Снизить риск ложного положительного результата можно с помощью нескольких мер:

а) Строгая организация контроля стерильности посредством валидированных методик;

б) Использование модульного изоляторного оборудования с эргономичным расположением рабочих устройств;

Передаточная камера Clarus PORT в комплекте с генератором паров пероксида водорода HPV

в) Использование валидированной автоматической процедуры деконтаминации, такой как стандартная для изоляторов обработка парами пероксида водорода HPV;

г) Надлежащая обработка образцов и оборудования;

в) Контроль условий среды (число частиц и т.д.).

Причинами ложных отрицательных результатов могут быть проникновение дезинфектанта в продукт (уничтожение микробов до теста) или в питательную среду (уничтожение во время инкубации), некультивируемые микроорганизмы, частичная контаминация. Избавиться от остатков пероксида водорода помогает надлежащая упаковка образцов, применение материалов, не адсорбирующих посторонние вещества, и эффективной процедуры аэрации. Бороться с микроорганизмами позволяет стандартная процедура обработки HPV.

За долгие годы работы компании Bioquell в области деконтаминации изоляторов накопилось большое количество поучительных примеров. Для лучшего понимания особенностей организации контроля стерильности стоит их разобрать. Все примеры реальны, компании-клиенты анонимны.

Пример №1. Производственный изолятор с функцией дезинфекции HPV.

Характер контаминации: спорадические случаи обнаружения микроорганизмов, живущих на человеке; обычно наблюдалась 1 КОЕ в образце.

После всех необходимых проверок с использованием биологических индикаторов Bioquell было установлено, что HPV работает корректно. Внимание специалиста, расследовавшего инцидент, привлек факт роста колоний только с одной стороны чашек. Как оказалось, заражение происходило уже при транспортировке – чашки с образцами для переноса в места инкубации покрывали нестерильной упаковочной пленкой.

Вывод: надо тщательнее подходить к разработке процедуры анализа и к сохранности образцов.

Пример №2. Изолятор для тестов на стерильность на фармацевтическом производстве.

Характер контаминации: мазок с пальцев периодически давал небольшое (1 КОЕ) количество микроорганизмов из человеческого источника.

Генерация HPV проходила правильно, образцы не покидали пределов изолятора до завершения теста. Все материалы в изоляторе обрабатывались единовременно. Однако процедура деконтаминации, специально разработанная сотрудником Bioquell, была изменена: менялось количество и расположение образцов в изоляторе. Именно после этого микроорганизмы стали периодически появляться.

Вывод: не следует нарушать валидированную процедуру деконтаминации, т.к. это может привести к появлению зон, где могут выжить микробы.

Пример №3. Изолятор для теста на стерильность в контрактной лаборатории.

Характер контаминации: постоянное присутствие спор.

Деконтаминация в изоляторе проводилась правильно, однако сами образцы привозили со всей страны. Для сохранности их упаковывали в несколько слоев пленки, а перед началом обработки HPV погружали в спирт. Однако следы спирта не давали HPV убить споры, а сам спирт уничтожал только вегетирующие клетки.

Вывод: не пренебрегать правилами деконтаминации и подготовки образцов.

Пример №4. Фармацевтический изолятор с ручной дезинфекцией.

Характер контаминации: случайное, но регулярное заражение сверх норм GMP.

К сожалению, полностью устранить контаминацию при ручной обработке почти невозможно, особенно в труднодоступных местах (крепление перчаток, коннекторы, сливы, острые углы и т.д.)

Вывод: размещение в изоляторе интегрированных устройств Bioquell для деконтаминации.

Пример №5. Фармацевтический изолятор с комбинацией HPV и ручной деконтаминации.

Характер контаминации: высокое количество микробов.

Обработка HPV использовалась только для профилактики раз в 1-2 недели. Для быстрого переноса материалов в изолятор применялась ручная обработка. Процедура деконтаминации работала нормально. Как показали результаты исследования образцов, около 10% проб показывали рост микробов. После переобучения персонала количество зараженных проб снизилось до 5%.

Вывод: невозможно добиться соблюдения норм GMP при обработке только ручным методом, особенно если образцы обладают сложной поверхностью.

Пример №6. Фармацевтический двухмодульный изолятор с передаточной камерой, обладающей функцией деконтаминации.

Характер контаминации: заражение спорами и грибами.

Асептическое состояние изолятора поддерживалось обработкой HPV каждые две недели. При расследовании причин заражения было выяснено, что концентрация HPV в изоляторе была ниже нормы, что явилось следствием несогласованности в техническом обслуживании оборудования между поставщиком и заказчиком и недостаточного контроля условий обработки. Микробы проникали в асептическую область из-за неправильного расположения материалов в загрузке.

По публикациям James Drinkwater, Chairman of PHSS – Pharmaceutical & Healthcare Sciences Society, для Bioqull Ltd