

**Производство лекарственных средств
ВАЛИДАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПРОИЗВОДСТВА
СТЕРИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**Вытворчасць лекавых сродкаў
ВАЛІДАЦЫЯ ПРАЦЭСАЎ ВЫТВОРЧАСЦІ
СТЭРЫЛЬНЫХ ЛЕКАВЫХ СРОДКАЎ**

Издание официальное

Департамент фармацевтической
промышленности Министерства
здравоохранения Республики Беларусь

Минск

УДК 615.014

МКС 11.120.10

КП 01

Ключевые слова: стерилизация, валидация, распределение тепла, проникание тепла, температурный датчик, камера, цикл, процесс, испытание, фильтр, среда

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

- 1 РАЗРАБОТАН Научно-производственным республиканским унитарным предприятием «ЛОТИОС» ВНЕСЕН Департаментом фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь
- 2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Департамента фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29 ноября 2012 г. № 88
- 3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ (с отменой МУ 09140.02-2004)

Настоящий технический кодекс установившейся практики не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Департамента фармацевтической промышленности

Издан на русском языке

Содержание

Введение	IV
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки.....	1
3 Термины и определения	1
4 Общие положения.....	2
5 Валидация процессов стерилизации в производстве стерильных лекарственных средств	2
6 Валидация процессов производства лекарственных средств в асептических условиях	12
Приложение А (справочное) Различные подходы к разработке циклов стерилизации	32
Приложение Б (справочное) Величины D, z и F [18], [19]	34
Приложение В (рекомендуемое) Определение уровня контаминации для данного количества наполненных питательной средой контейнеров [17].....	38
Библиография	40

Введение

В настоящем техническом кодексе установившейся практики обобщен современный отечественный и зарубежный опыт валидации процессов производства стерильных лекарственных средств.

В целом валидация технологических процессов производства стерильной продукции проводится с использованием тех же методических приемов, что и валидация процессов производства нестерильных лекарственных средств. Чаще всего применяются такие подходы, как проведение более обширных испытаний промежуточной и готовой продукции, провокационные испытания (например, с использованием биологических индикаторов или изолятов из бионагрузки), а также дополнительный контроль параметров процесса и окружающей среды.

Особое внимание должно уделяться валидации наиболее критической стадии производства – стерилизации, которая может выполняться различными методами. Разработка цикла стерилизации должна учитывать физические и химические характеристики стерилизуемых объектов, условия биологической нагрузки, конфигурацию загрузки, конечный уровень гарантии стерильности. Необходимо документально подтвердить пригодность любого разработанного цикла стерилизации во время валидации процесса производства промышленных серий продукции.

При валидации асептических процессов применяется специальный подход – полная имитация процесса путем фасования питательной среды. Данный метод позволяет оценить соблюдение асептических условий с учетом всех неблагоприятных факторов, способных повлиять на стерильность продукции.

ТЕХНИЧЕСКИЙ КОДЕКС УСТАНОВИВШЕЙСЯ ПРАКТИКИ

**Производство лекарственных средств
ВАЛИДАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПРОИЗВОДСТВА СТЕРИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**
**Вытворчасць лекавых сродкаў
ВАЛІДАЦЫЯ ПРАЦЭСАЎ ВЫТВОРЧАСЦІ СТЭРЫЛЬНЫХ ЛЕКАВЫХ СРОДКАЎ**

Manufacture of medicinal products
Sterile drugs manufacturing processes validation

Дата введения 2013–03–01

1 Область применения

Настоящий технический кодекс установившейся практики (далее – технический кодекс) устанавливает требования к валидации процессов производства стерильных лекарственных средств в соответствии с правилами надлежащей производственной практики (GMP). В техническом кодексе рассматриваются процессы, являющиеся специфическими для производства стерильной продукции – стерилизация влажным и сухим жаром, стерилизующая фильтрация, технологические операции, выполняемые в асептических условиях.

Общие требования к валидации процессов производства устанавливаются в ТКП 434.

2 Нормативные ссылки

В настоящем техническом кодексе использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ТКП 030-2013 (02040) Надлежащая производственная практика

ТКП 199-2009 (09140) Производство лекарственных средств. Порядок подготовки и контроля чистоты пара, сжатого воздуха и газов

ТКП 434-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация процессов производства нестерильных лекарственных средств

ТКП 435-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Аттестация чистых помещений

ТКП 437-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация процессов очистки

ТКП 441-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Микробиологический мониторинг производственной среды

СТБ ЕН 554-2004 Стерилизация медицинских изделий. Валидация и текущий контроль процесса стерилизации с использованием влажного тепла

ГОСТ ИСО 11134-2002 Стерилизация медицинской продукции. Требования к валидации и текущему контролю. Промышленная стерилизация влажным теплом

Примечание – При пользовании настоящим техническим кодексом целесообразно проверить действие ТНПА по каталогу, составленному на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим техническим кодексом следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем техническом кодексе применяют термины с соответствующими определениями, установленные в ТКП 030, ГОСТ ИСО 11134, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 асептическое производство (aseptic processing): Включает все технологические процессы, проводимые в асептических условиях, в том числе и асептическое наполнение контейнеров продукцией в контролируемой окружающей среде, в которой обеспечение воздухом, материалами, оборудованием и персоналом регулируется так, чтобы загрязнение микроорганизмами и частицами не выходило за установленные пределы.

3.2 биологический индикатор (biological indicator): Готовый к применению инокулированный носитель в первичной упаковке, обеспечивающий определенную резистентность (устойчивость) к конкретному режиму стерилизации.

Примечание – Микроорганизмы часто используются на носителе, который представляет собой материал подложки с находящимися на нем тест-микроорганизмами.

3.3 бионагрузка (bioburden): 1) Популяция живых микроорганизмов в лекарственном средстве или на упаковочных материалах до стерилизации. 2) Популяция живых микроорганизмов на материалах и оборудовании, поступивших в зону асептического производства.

3.4 заключительная стерилизация (terminal sterilization): Процесс, при котором продукция стерилизуется в герметичной первичной упаковке и который позволяет проводить измерения и количественную оценку летального воздействия на микроорганизмы.

3.5 лиофилизация (lyophilization): Физико-химический процесс высушивания, предназначенный для удаления растворителей из водных и неводных систем путем сублимации и десорбции.

3.6 окружающая среда: Пространство и элементы, являющиеся внешними по отношению к производству, но оказывающие на него влияние.

3.7 поверхности, контактирующие с продукцией (product contact surfaces): Поверхности оборудования, которые вступают в контакт со стерилизованной продукцией или контейнером/упаковкой.

3.8 стерилизация (sterilization): Валидированный процесс, обеспечивающий отсутствие живых микроорганизмов в продукции или в/на других объектах.

Примечание – Число микроорганизмов, которые выживают после процесса стерилизации, может быть выражено в вероятностном виде. Вероятность может быть снижена до очень малого значения, но никогда не может быть снижена до нуля.

3.9 фасование питательной среды – «имитация процесса» (media fills): Метод оценки асептического процесса с использованием питательной среды для микроорганизмов.

4 Общие положения

4.1 К производству стерильных лекарственных средств предъявляются особые требования, чтобы свести к минимуму риск их загрязнения микроорганизмами, механическими частицами и пирогенными веществами. Ввиду высоких критериев по чистоте стерильную продукцию необходимо производить в классифицированных чистых помещениях и зонах с постоянным контролем степени их загрязненности.

4.2 В производстве стерильной продукции должны применяться тщательно организованные и прошедшие валидацию технологические процессы. Процессы производства стерильных лекарственных средств имеют неоспоримую приоритетную важность для программы валидации фармацевтических предприятий, производящих такую продукцию. Никакая конечная стадия процесса или испытание готовой продукции не могут рассматриваться в качестве единственного фактора, удостоверяющего стерильность или другие аспекты качества.

4.3 В производстве стерильных лекарственных средств выделяют два основных типа технологических операций:

- производство с заключительной стерилизацией;
- производство в асептических условиях.

4.4 При заключительной стерилизации продукция стерилизуется в первичной герметизированной упаковке (ампулах, флаконах, бутылках, пластмассовых контейнерах и т.п.). Когда продукция не может быть подвергнута стерилизации в упакованном виде, технологический процесс проводится на всех или на нескольких последних стадиях в асептических условиях. Для валидации данных типов процессов производства стерильных лекарственных средств применяются принципиально разные подходы.

4.5 При валидации таких стадий производства стерильных лекарственных средств, как приготовление растворов, фасование (розлив или рассыпка), упаковывание используются методы, применяемые при валидации аналогичных стадий производства нестерильной продукции.

4.6 Специфические подходы требуются для валидации стадий стерилизации (в том числе стерилизующей фильтрации), депирогенизации, лиофилизации, валидации с использованием метода фасования питательных сред.

4.7 Требования к организации работ по валидации, необходимой документации по валидации процессов производства стерильных лекарственных средств аналогичны требованиям, приведенным в ТКП 434.

5 Валидация процессов стерилизации в производстве стерильных лекарственных средств

Контроль стерильности готовых лекарственных средств всегда носит разрушающий характер, поэтому задачей производителя является обеспечение стерильности с учетом сохранения всех других показателей качества готового лекарственного средства. В случае лекарственных средств, подвергающихся

заключительной стерилизации в первичной упаковке, это достигается валидацией процесса стерилизации, для продукции, производимой в асептических условиях, – валидацией процесса стерилизующей фильтрации и последующих асептических операций в целом.

Основным методом стерилизации продукции в первичной герметизированной упаковке является термическая стерилизация с использованием в качестве стерилизующих агентов или источника тепла насыщенного пара в определенном диапазоне температур, паровоздушной смеси, перегретой воды. Сухой жар используется для стерилизации и депирогенизации компонентов первичной упаковки, термоустойчивых масел и масел, твердых субстанций и вспомогательных веществ, некоторого оборудования и непористых материалов. Заклучительная стерилизация, в особенности с использованием влажного тепла, должна рассматриваться методом выбора в производстве стерильных лекарственных средств, так как она является наиболее эффективным способом уничтожения микроорганизмов и обеспечивает контролируемый уровень гарантии стерильности.

Производители, выбравшие способ производства стерильных лекарственных средств без их заключительной стерилизации, должны быть готовы обосновать свое решение, продемонстрировав, что данная продукция не может быть стерилизована в первичной упаковке даже при менее жестких режимах обработки, разработанных на основе реальной биологической нагрузки в производимой серии продукции.

Примечание – Руководство по выбору оптимального метода стерилизации продукции приводится в [1].

5.1 Разработка цикла стерилизации

5.1.1 При разработке цикла термической стерилизации применяются два основных подхода: избыточной обработки и подход, основанный на вероятности выживания. Резюме по основным действиям, выполняемым при разработке и валидации различных циклов стерилизации, приводится в таблице А.1 (приложения А).

5.1.2 Термины F и D, используемые ниже для того, чтобы описать эти методы, рассматриваются в приложении Б.

5.1.3 Метод избыточной обработки используется, если продукция может выдерживать избыточную тепловую обработку, такую, например, как $F_0 \geq 12$, без неблагоприятных последствий. Данный подход основывается на предпосылке, что процесс стерилизации должен быть рассчитан на инактивацию высокой концентрации микроорганизмов, которая не обязательно соответствует бионагрузке перед стерилизацией (т.е. учитывается «наихудший случай»). Данные по реальной бионагрузке и ее резистентности не требуются для определения необходимых величин F_0 . Устанавливаются такие параметры цикла, чтобы гарантировать, что самая холодная точка внутри загрузки получит такое количество тепла, которое обеспечит, по крайней мере, редукцию в $12 \lg$ микроорганизмов, имеющих величину D_{121} по крайней мере 1 мин (т.е., $F_0 \geq 12$).

Примечание – Стандартные условия стерилизации, приведенные в [2] (121°C в течение 15 мин), по сути являются требованиями к избыточному (с большим запасом) воздействию тепла на продукцию и материалы. Требование к режиму стерилизации на основе избыточной обработки (121°C в течение 12 мин), устанавливаемое в [3], позволяет достичь вероятности контаминации упаковки с продукцией 10^{-6} при наличии предстерилизационной нагрузки спорами с величиной резистентности $D_{121}=1$ мин в количестве 10^6 на отдельную упаковку.

5.1.4 Подход вероятности выживания используется главным образом для недостаточно термоустойчивой продукции, в том числе для сохранения ее более продолжительной стабильности. При этом подходе валидируется процесс стерилизации продукции для того, чтобы достичь разрушения предстерилизационной бионагрузки (например, 10^2) ниже уровня 10^0 , с минимальным дополнительным фактором редукции в $6 \lg$ (10^{-6}). Таким образом, вероятность того, что какая-либо упаковка с продукцией контаминирована, составляет и в этом случае не более чем 10^{-6} . В настоящее время такое значение рассматривается как приемлемый уровень гарантии стерильности. При данном подходе используются два метода: абсолютный метод бионагрузки и комбинированный метод с использованием биологического индикатора/бионагрузки.

5.1.5 Определение минимальной величины F_0 при подходе вероятности выживания основывается на количестве микроорганизмов (бионагрузке), обнаруженном в данной продукции, и их устойчивости к тепловой обработке.

5.1.6 Как при использовании метода избыточной обработки, так и метода вероятности выживания необходимо провести изучение распределения и проникания тепла в камере стерилизатора, чтобы определить количество тепла, поступающее к наиболее медленно нагреваемой единице продукции в каждой загрузке. Валидационные испытания должны гарантировать, что эта единица получает минимально необходимую величину F_0 .

5.2 Выполнение испытаний с биологическими пробами (микробиологический тест)

5.2.1 Внесение известного количества специальных микроорганизмов с установленной величиной D и оценка снижения их количества во времени являются подходящим способом испытаний, если используется подход вероятности выживания. Данные биологические испытания могут проводиться совместно с изучением проникания тепла (см. 5.3.4).

5.2.2 Степень биологической тестовой нагрузки, выбранная для испытаний, должна учитывать как сезонные вариации, так и изменчивость от серии к серии в бионагрузке продукции (количество микроорганизмов и величину D) и должна быть такой, чтобы вероятность выживания 10^{-6} подтверждалась во всех случаях. Для контроля стерилизации с использованием влажного тепла также приемлемо использование спор *Geobacillus stearothermophilus* в качестве «наихудшего случая» бионагрузки или других термоустойчивых видов (например, *G. subtilis*, *G. coagulans*, *Clostridium sporogenes*).

5.2.3 Размещение биологических проб должно быть определено и документально оформлено. Пробу необходимо помещать в контейнеры с продукцией (флаконы, бутылки, ампулы), если это осуществимо на практике, чтобы учесть реальные условия обработки. Кроме того, пробы должны размещаться в непосредственной близости от температурных датчиков, если прогон совмещается с изучением проникания тепла. Необходимо выполнить минимум три испытания для каждой исследуемой конфигурации загрузки.

5.2.4 Необходимо использовать положительные контроли для каждой загрузки для подтверждения жизнеспособности организмов, используемых для испытаний.

5.2.5 Следует вести записи по типу организмов, величине D, их количеству, номеру партии, размещению биологических проб в загрузке и результатах роста. Рост любой пробы после любого из прогонов указывает на то, что стерилизация не была достигнута. Должны быть оценены параметры процесса. Если не было установлено никаких ошибок в стерилизационной обработке, процесс признается неприемлемым.

5.2.6 Если оценка результатов указывает на потенциально неблагоприятный эффект проникания тепла, биологические испытания необходимо повторить.

5.3 Валидация процесса стерилизации с использованием влажного тепла

5.3.1 Основные требования

В данном разделе приводится общее описание элементов процесса стерилизации влажным теплом, требующих валидационной оценки, а также подходов к эффективному достижению этой цели способами, приемлемыми с точки зрения GMP. Другие подходы, с помощью которых достигаются эквивалентные результаты, также могут быть приемлемыми.

Валидация процессов стерилизации влажным теплом заключается в выполнении всех программ стерилизации со всеми видами продукции с последующим расчетом эквивалентного времени стерилизации (величины F_0) для различных участков загрузки и определении стерильности загрузки по заложенным в нее биологическим индикаторам и по микробиологическому анализу самой загрузки.

Примечание – Заключительная стерилизация влажным теплом в настоящее время считается методом выбора для обеспечения стерильности лекарственных средств. Чтобы предоставить достаточную гарантию стерильности, вся стерильная продукция на водной основе должна подвергаться заключительной стерилизации влажным теплом. Исключение составляют случаи, когда заключительная стерилизация невозможна из-за деградации продукции. Такие случаи полностью оцениваются и документируются.

Каждая стадия оценки эффективности и воспроизводимости процесса стерилизации влажным теплом должна быть основана на предварительно разработанном и утвержденном подробном письменном плане в соответствии с выбранным подходом. Необходимо установить документированные процедуры по контролю изменений для того, чтобы предотвратить неавторизованные изменения плана или процесса и ограничить изменения на всех стадиях до тех пор, пока соответствующие данные не будут оценены.

Персонал, участвующий в валидации процесса стерилизации, должен быть обучен, достаточно квалифицирован и обладать необходимым опытом выполнения работы в соответствии со своими обязанностями.

Валидация процесса стерилизации конкретной загрузки определенного вида продукции является лишь конечной стадией, подтверждающей пригодность разработанного цикла стерилизации, и должна выполняться после выполнения стадий аттестации монтажа стерилизационного оборудования, аттестации его функционирования и эксплуатации. Перед началом изучения проникания тепла в конкретную стерилизационную загрузку, выполнением испытаний с биологическими пробами необходимо проверить и аттестовать оборудование, предоставив документированное подтверждение того, что оно соответствующим образом установлено, укомплектовано и функционирует в соответствии со своими техническими спецификациями. Валидация процесса стерилизации в целом является аттестацией стерилизатора, валидацией режимов стерилизации продукции и конфигурации загрузки. Валидация собственно процесса стерилизации выполняется в стандартном эксплуатационном режиме с загрузкой реальной продукции.

5.3.2 Аттестация стерилизационного оборудования

5.3.2.1 Аттестация монтажа стерилизационного оборудования должна включать:

- демонстрацию соответствия оборудования проектным и эксплуатационным характеристикам, указанным в документации;
- проверку правильности установки стерилизатора (уровень камеры, обвязка, герметизация трубопроводов);
- проверку документации на оборудование;

- проверку сертификатов конструкционных материалов;
- проверку правильности подвода вспомогательных систем и электропитания;
- проверку систем аварийной сигнализации и систем блокировки дверей;
- проверку калибровки рабочих и контрольных измерительных приборов;
- демонстрацию эффективности удаления воздуха и герметичности камеры (если необходимо).

Для уже имеющегося оборудования (при проведении текущей или ретроспективной валидации) аттестация монтажа заключается в изучении схемы стерилизационного оборудования и его установочных параметров, взятых из записей или путем непосредственной оценки. Затем оценивается способность оборудования удовлетворять всем параметрам процесса, определяется необходимость любой модернизации оборудования или изменений процедур с тем, чтобы оборудование соответствовало требованиям процесса.

5.3.2.2 Аттестация функционирования состоит из испытания оборудования в предварительно определенных и установленных диапазонах, чтобы подтвердить его постоянную работоспособность. Может быть выполнено три или больше испытательных прогона, чтобы показать посредством документированных доказательств, что:

- устройства контроля, предупреждения, управления и индикации функционируют нормально;
- в камере поддерживается необходимое давление;
- в камере поддерживается необходимое разрежение, если применяется;
- инструкции и документированные процедуры точно отражают работу оборудования;
- достигаются рабочие характеристики, соответствующие предварительно установленным критериям для каждого испытательного прогона (распределение тепла в пустой камере).

5.3.2.3 Аттестация эксплуатации стерилизационного оборудования должна показать:

- воспроизводимость процесса (путем проведения достаточного количества циклов);
- однородность температуры в диапазоне указанных пределов внутри камеры и загруженных единиц продукции (распределение тепла в загруженной камере и проникание тепла внутрь загрузки);
- соотношение между контрольными и фактическими параметрами;
- зависимость между физическими параметрами и летальностью микроорганизмов по литературным данным и проведенным исследованиям;
- соответствие требованиям при максимальной и минимальной загрузке специфической продукции;
- репрезентативность имитирующей загрузки (если она применяется) по отношению к реальной загрузке;
- соответствие продукции и упаковки спецификациям после стерилизации и, если нужно, повторной стерилизации.

Примечание – Как правило, стадия аттестации эксплуатации стерилизатора совмещается с валидацией процесса стерилизации какого-нибудь вида продукции.

Работа по валидации может быть значительной по объему, так как для демонстрации воспроизводимости процесса необходимо большое количество точек замеров и проведение повторных измерений.

Таким образом, обязательным начальным условием выполнения валидации процесса стерилизации влажным теплом является успешно проведенная и запротоколированная процедура аттестации стерилизационного оборудования. Особое внимание при аттестации стерилизаторов следует уделять калибровке средств измерений, так как стабильность поддержания необходимых температур и давления имеет критическое значение для процесса стерилизации. Приборы и средства измерений, требующие калибровки, включают:

- устройства записи температуры и стационарные температурные датчики;
- температурные датчики, используемые для валидации;
- датчики давления для измерения давления в кожухе и камере;
- таймеры;
- мониторы удельной электропроводности охлаждающей воды, если применимо;
- измерители потока (расходомеры) для воды/пара;
- индикаторы уровня воды, если используется охлаждающая вода;
- термометры, включая те, которые используются для сравнения с термопарами, мониторинга камеры и всех лабораторных испытаний.

Приборы и средства измерений необходимо калибровать по прослеживаемым эталонам перед тем, как выполнять любую аттестацию функционирования/эксплуатации. Документированные процедуры калибровки должны определять методы, которые необходимо использовать. Необходимо сохранять записи по каждой калибровке, включая действительно полученные результаты.

Повторная калибровка необходима после любого обслуживания инструмента, а для независимых термопар, используемых для оценки физических параметров цикла – до и после каждого валидационного прогона (серии прогонов), проводимых как часть испытаний распределения или проникания тепла.

5.3.3 Изучение распределения тепла

Изучение распределения тепла выполняется для того, чтобы определить изменения температуры по всей камере, оно должно быть закончено до проведения изучения проникания тепла. Эти испытания должны охватывать оценку пустой и загруженной камеры и должны выполняться в соответствии с документированными процедурами с использованием датчиков, измеряющих температуру. Если для измерений используются термопары, они должны быть откалиброваны до и после каждого прогона. Должны быть определены требования к однородности температуры, основанные на типе стерилизатора и специфических параметрах процесса.

Примечание – В качестве примера можно привести требования к температуре внутри камеры в течение времени выдержки, приведенные в СТБ EN 554 и ГОСТ ИСО 11134 или других руководствах [3], [4], [5].

Прогоны по изучению распределения тепла с использованием пустой камеры, как правило, выполняются во время аттестации функционирования оборудования. Эти прогоны должны быть выполнены, используя максимальное и минимальное время цикла и температуры, специфицированные для оборудования. Испытательные прогоны необходимо повторить, по крайней мере, трижды для каждого предварительно установленного времени и температуры цикла, указанного в плане, для того, чтобы идентифицировать картину распределения тепла в камере, определив точки с самым медленным разогревом. Испытания должны показать, что однообразие стерилизационной среды во всей камере находится внутри пределов температурной изменчивости, установленных планом/протоколом. Количество используемых температурных датчиков при изучении распределения тепла может варьировать в зависимости от размера стерилизатора, при этом следует избегать контакта сенсорных элементов датчиков с внутренней поверхностью камеры.

В каждом испытательном прогоне должно использоваться множество температурных устройств (температурных датчиков). Эти устройства должны быть способны к одновременной генерации данных в течение предварительно установленных интервалов времени для того, чтобы обнаружить медленно и быстро нагревающиеся зоны внутри камеры. Должно быть документировано местоположение каждого устройства. Размещение датчиков должно обеспечивать уверенность в том, что по всей камере стерилизатора достигается однообразное распределение тепла. Данные, полученные из всех прогонов, должны быть сведены в температурный профиль камеры.

Изучение распределения тепла в загруженной камере необходимо выполнять при максимальной и минимальной конфигурациях загрузки камеры с учетом следующих факторов:

- температурные датчики размещаются по всей камере – но не внутри единиц загрузки для того, чтобы определить эффект любой схемы загрузки на распределение тепла внутри камеры;
- испытательные прогоны должны выполняться с различными размерами контейнеров, используя параметры стерилизации, определенные для реального технологического процесса;
- позиция каждого температурного датчика в каждом прогоне должна быть документально зарегистрирована;
- точка(и) самого медленного разогрева, или холодное пятно(а) должны определяться в каждом прогоне и документироваться;
- необходимо выполнить повторные прогоны, чтобы установить, фиксировано или изменяется положение холодного пятна(ен) для данной конфигурации загрузки;
- должен быть составлен профиль распределения температуры для каждой конфигурации загрузки камеры.

Примечание – При использовании подхода избыточной обработки допустимый диапазон температур может считаться приемлемым, если ее изменение составляет менее $\pm 1^\circ\text{C}$ от средней температуры камеры в установившемся режиме. Для стерилизационных циклов с использованием подхода биологической нагрузки и комбинированного метода биологической нагрузки/биоиндикаторов допустимый диапазон, как правило, меньше: $\pm 0,5^\circ\text{C}$ от средней температуры камеры в установившемся режиме. Температурные изменения большие, чем $\pm 1^\circ\text{C}$, являются проблемной ситуацией и могут приводить к недопустимо широкому диапазону величины F_0 внутри загрузки.

Если не продемонстрировано постоянство (внутри выбранных критериев) приемлемого распределения температуры, дальнейшая валидация данного стерилизационного цикла невозможна.

Каждый выполненный испытательный прогон необходимо оценить. Выполненные испытания необходимо утвердить перед началом изучения проникания тепла.

5.3.4 Изучение проникания тепла

Для того чтобы удостовериться, что температура стерилизации была достигнута во всех исследуемых участках загрузки, подвергнутой стерилизации влажным теплом, необходимо провести изучение проникания тепла. Эти испытания проводятся для гарантирования того, что самая холодная единица внутри предварительно определенной схемы загрузки (включая минимальную и максимальную загрузки) будет постоянно подвергаться достаточному летальному воздействию тепла (минимальная величина F_0).

Изучение проникания тепла должно проводиться в соответствии с подробными документированными процедурами с использованием температурных датчиков, которые, как правило, калибруются до и после каждого валидационного прогона и которые способны к одновременной генерации данных в течение

предварительно установленных интервалов времени для того, чтобы определить наиболее медленно и быстро нагреваемые единицы загрузки в камере.

В плане валидации необходимо учесть такие переменные, как размер контейнеров, их конструкция, материал, вязкость раствора и объем наполнения. Емкость должна иметь максимальный объем наполнения раствором с тепловыми характеристиками, соответствующими наиболее медленно нагреваемому раствору, стерилизуемому в определенном цикле.

Изучение проникания тепла должно проводиться с максимальной и минимальной загрузкой для каждого стерилизационного цикла с использованием параметров стерилизации, определенных для обычного производственного цикла.

В зависимости от размера контейнера может понадобиться провести начальное изучение по картированию емкостей температурными датчиками, помещенными внутри контейнера с продукцией, для идентификации его характеристик по прониканию тепла и определения «холодного пятна» в контейнере. Во время изучения проникания тепла, датчики должны размещаться в наиболее медленно нагреваемых участках контейнеров, если это применимо на практике. Большинство из этих контейнеров должны размещаться в наиболее медленно нагреваемом участке при данной схеме загрузки, определенной в ходе изучения распределения тепла.

Необходимо контролировать поступление тепла к наиболее медленно нагреваемой единице загрузки и использовать эти данные для расчета минимального эквивалентного времени стерилизации (величины F_0). После идентификации наиболее медленно нагреваемой единицы загрузки необходимо выполнить, по меньшей мере, три повторных прогона для подтверждения того, что необходимая величина F_0 процесса может быть воспроизводимо достигнута для всей загрузки. Процесс считается пригодным после того, как такое постоянство летального воздействия было соответствующим образом установлено.

5.3.5 Валидация процесса при непосредственном контакте влажного тепла со стерилизуемой загрузкой

Процесс стерилизации некоторых материалов (одежды, резиновых пробок, полимерных трубок, съемных элементов оборудования с полостями и отводами) выполняется, как правило, с использованием насыщенного водяного пара. Критическими факторами являются: чистота пара, поскольку происходит непосредственный контакт пара со стерилизуемыми поверхностями, полнота удаления воздуха из загрузки, герметичность камеры, остаточная влажность простерилизованных материалов. Основные показатели качества пара приведены в ТКП 199. Анализ конденсата чистого пара выполняется в соответствии с [4] или [5]. Дополнительно оцениваются соответствие характеристик пара насыщенному состоянию, выполняется тест Бови-Дика, определяется влажность загрузки, при использовании стадии вакуумирования выполняется тест на герметичность камеры.

5.3.6 Валидация стерилизации и целостности вентиляционных фильтров

Необходимо установить эффективность процесса стерилизации вентиляционного фильтра стерилизатора. Целостность фильтра после повторяющихся циклов стерилизации также должна быть предметом пристального внимания. Стерилизацию фильтра можно подтвердить посредством прямой инокуляции спор *B. Stearothermophilus* на внутреннюю поверхность мембраны фильтра или используя индикаторные полоски, прикрепленные к поверхности фильтра. Целостность фильтра следует оценивать после процесса паровой стерилизации любым из общепринятых методов испытания на целостность (см. 6.1.27). Данные по продолжительности использования фильтра могут быть взяты у производителя и подтверждены в реальных условиях эксплуатации.

5.4 Валидация процесса стерилизации с использованием сухого жара

При выполнении валидации процесса сухожаровой стерилизации используются подходы и процедуры, аналогичные валидации процесса стерилизации влажным теплом. Следует понимать, что горячий воздух является гораздо менее эффективной средой для теплопередачи и оказания летального воздействия по сравнению с паром или другими видами влажного тепла.

Валидация процесса стерилизации с использованием сухого жара должна включать проверку распределения тепла, проникания тепла внутрь загрузки, определение предстерилизационной бионагрузки и содержания эндотоксинов (при депирогенизации), проверку целостности фильтров, провокационные испытания с искусственным внесением эндотоксинов в обрабатываемые объекты.

Требования к разработке циклов стерилизации и аттестации сухожаровых стерилизаторов аналогичны требованиям, приведенным в 5.1, 5.3.1 и 5.3.2, сформулированным, в основном, для процессов стерилизации с использованием влажного тепла. Дополнительными испытаниями, необходимыми для аттестации сухожаровых шкафов и депирогенизационных туннелей, является проверка целостности НЕРА-фильтров, скорость и равномерность циркуляционного потока воздуха, концентрация аэрозольных частиц в камерах (см. ТКП 435).

Примечание – Следует соблюдать осторожность при использовании масляных аэрозолей для проверки целостности фильтров, особенно фильтров, установленных в камерах стерилизации туннелей. При высоких температурах может происходить ускоренное испарение аэрозоля из фильтров и загрязнение части материалов первичной упаковки.

Информация по определению эквивалентного времени стерилизации F_H с использованием сухого жара приводится в приложении Б. При использовании сухожаровой стерилизации должен достигаться такой же уровень гарантии стерильности (10^{-6}), как и для стерилизации влажным теплом. Приемлемая степень депирогенизации загрузки эквивалентна снижению содержания эндотоксинов *E. Coli* не менее чем на 3 log.

Полученные в валидационных прогонах результаты (температурные профили при изучении распределения и проникания тепла, время разогрева и охлаждения, величина F_H) должны оцениваться по воспроизводимости с использованием общепринятых статистических методов. Необходимо подтвердить, что во всех прогонах для самого холодного участка загрузки достигается необходимое время эквивалентной стерилизационной обработки.

5.4.1 Испытания в пустой камере сухожарового стерилизатора [6]

Выполняются начальные испытания в пустой камере стерилизатора или туннеля для определения однородности распределения тепла и обнаружения наиболее горячих и холодных участков. Температурные датчики размещаются равномерно по всему объему камеры стерилизатора или туннеля таким образом, чтобы можно было получить статистически значимый температурный профиль. Рекомендуется размещать дополнительные термодатчики с учетом того, что отдельные датчики могут быть забракованы по результатам поствалидационной калибровки. Пример размещения температурных датчиков в камере с использованием пустых стеллажей с полками приведен на рисунке 1. Как правило, температурные датчики размещаются по углам стеллажей и рядом с внутренними датчиками стерилизатора. Концы термодатчиков не должны касаться твердых поверхностей. Для сухожаровых шкафов приемлемая разница температуры между отдельными участками пустой камеры составляет $\pm 15^\circ\text{C}$ во время последних 3-5 мин выдержки, для очень больших стерилизаторов она может достигать $\pm 25^\circ\text{C}$.

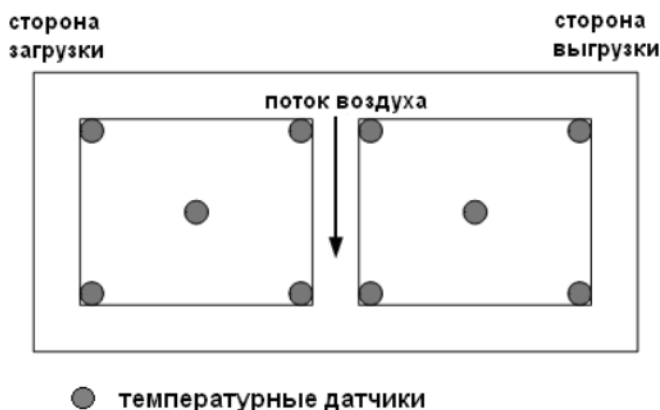


Рисунок 1 – Пример размещения температурных датчиков в пустой камере сухожарового стерилизатора

Для изучения распределения тела в пустом стерилизационном/депирогенизационном туннеле температурные датчики размещаются равномерно по ширине туннеля как показано на рисунке 2. Как правило, достаточно одного прогона для данной комбинации заданной температуры и скорости движения конвейерной ленты. Датчики закрепляются, например, на стальном бруске, при этом их температурочувствительные концы должны находиться на уровне стерилизуемых предметов и измерять температуру обдувающего их воздуха. На практике считается приемлемым диапазон колебания температур между разными участками стерилизационной зоны туннеля не более $20-25^\circ\text{C}$.

Концентрация частиц в пустой камере сухожарового стерилизатора и в зонах стерилизационного туннеля должна соответствовать требованиям, установленным для чистой зоны А, причем в условиях как температуры окружающей среды, так и температуры стерилизации. Для подобных измерений может понадобиться дополнительное охлаждение воздуха, поступающего в измерительную ячейку оптического счетчика частиц.

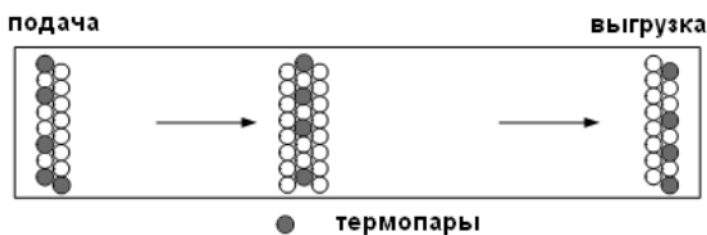


Рисунок 2 – Пример размещения температурных датчиков в пустом туннеле

Во время изучения распределения тепла в пустом стерилизаторе необходимо также контролировать такие параметры цикла, как время нагрева до начала выдержки и время охлаждения после окончания стерилизационной выдержки для доказательства их стабильности. Значительные вариации в продолжительности нагрева или охлаждения камеры стерилизатора могут свидетельствовать о неправильном функционировании или сбоях в работе электрического или механического оборудования.

Размещение температурных датчиков должно быть достаточно точно документировано с целью сравнения текущих данных по распределению тепла с результатами измерений, полученными при повторной аттестации.

5.4.2 Испытания сухожарового стерилизатора в загруженном состоянии [6]

Для целей валидации загрузка камеры стерилизатора должна быть репрезентативной в отношении вида и количества стерилизуемых объектов. В идеальном случае необходимо провести изучение проникания тепла в материалы каждого типа и размера. При изучении проникания тепла рекомендуется устанавливать температуру и время выдержки на нижних пределах установленного диапазона, а в стерилизационных туннелях – устанавливать верхний предел скорости движения ленты конвейера. Репрезентативные загрузки должны включать наименее и наиболее крупные предметы, а также объекты, проникание тепла в которые может быть затруднено, например, плотноупакованные материалы или компоненты с большой массой и плотностью.

Необходимо подробное документирование схемы размещения температурных датчиков, так как «холодные» и «горячие» участки с большой долей вероятности будут различными для разных типов загрузок. Местоположение конкретных температурных датчиков в разных прогонах следует менять для получения более достоверного температурного профиля загрузки. Следует также помещать термодары рядом с контрольными и регистрирующими температурными датчиками стерилизатора и дополнительно – в некоторых местах камеры для изучения распределения тепла в загруженной камере (для оценки влияния загрузки). Таким образом, изучение проникания тепла в загрузку и распределения тепла в загруженной камере должно выполняться одновременно.

Примечание – На практике температура в загруженном состоянии может изменяться в меньшем диапазоне по сравнению с пустой камерой, вследствие чего частично загруженная камера может представлять «наихудший случай» для изучения распределения тепла в загруженном стерилизаторе.

Концы термодар, предназначенных для изучения проникания тепла, должны касаться поверхности стерилизуемых материалов, то есть регистрировать температуру поверхности, а не воздуха.

Типичные схемы размещения температурных датчиков для изучения проникания тепла приведены на рисунках 3 и 4. В сухожаровом шкафу с наибольшей долей вероятности наиболее холодными участками загрузки будут компоненты, расположенные на нижней полке и возле двери. В стерилизационном туннеле «наихудшим случаем» будут первый и последний ряды стерилизуемых контейнеров, а также середина загрузки (из-за ухудшения основных условий для переноса тепла).

Необходимо документировать время нагрева и охлаждения, как воздуха, так и материалов загрузки.

Примечание – Компоненты загрузки нагреваются до заданной температуры с некоторым запаздыванием по сравнению с воздухом, вследствие худших условий для конвекции и теплопроводности в более плотном материале загрузки. Во время валидации должен быть определен интервал времени между моментом достижения воздухом необходимой температуры (по датчикам, размещенным в камере) и достижением температуры стерилизации в материале загрузки (по датчикам, предназначенным для изучения проникания тепла). Как правило, наибольшая разница наблюдается при максимальной загрузке стерилизационной камеры/туннеля. С учетом наблюдаемой разницы могут быть скорректированы установочные параметры для контрольного датчика стерилизатора или увеличено время выдержки.

В целом, для стерилизационных туннелей по сравнению с сухожаровыми шкафами наблюдается более сильная вариабельность температурного профиля между последовательными прогонами, что вызвано короткой продолжительностью нахождения объектов в зоне стерилизации.

Дополнительными испытаниями для загруженного состояния сухожарового шкафа/туннеля являются измерение концентрации аэрозольных частиц и частиц на поверхности стерилизуемых контейнеров.

Примечание – Для определения количества частиц на внутренних стенках контейнеров можно добавить в контейнер профильтрованную воду для инъекций и после встряхивания подсчитать количество частиц с использованием счетчика или визуально с использованием микроскопа. Приемлемым может считаться содержание не более 5 частиц/мл размером не менее 5 мкм.

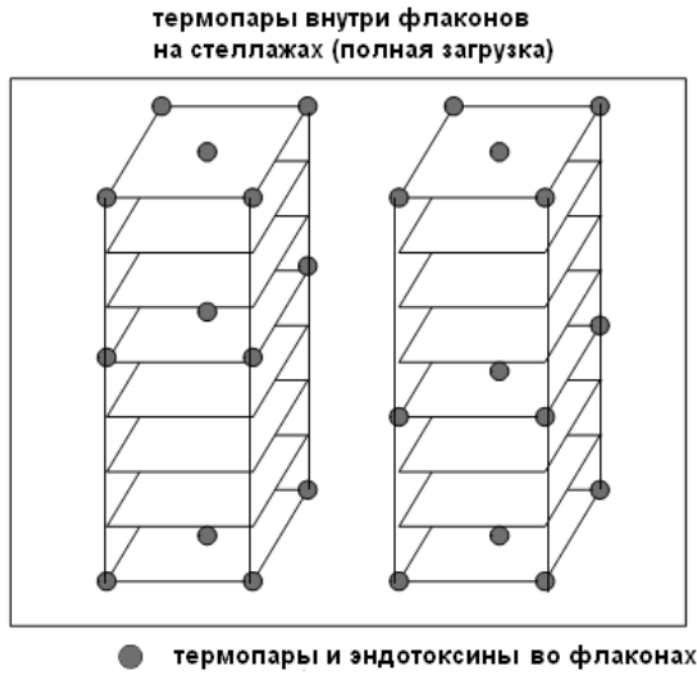


Рисунок 3 – Пример размещения температурных датчиков внутри флаконов при изучении проникания тепла в сухожаровом шкафу



Рисунок 4 – Пример размещения температурных датчиков внутри флаконов при изучении проникания тепла в стерилизационном/депирогенизационном туннеле

5.4.3 Биологические испытания

Провокационные испытания должны подтвердить летальность условий стерилизации для микроорганизмов (биоиндикаторы или бионагрузка) или эффективность депирогенизации специально внесенных в загрузку эндотоксинов. Количество микроорганизмов в одной пробе и количество проб должно быть достаточным для подтверждения необходимого уровня гарантии стерильности (как правило, более 10^6 спор/пробу). Биологические испытания могут выполняться одновременно с изучением проникания тепла или после него. Биоиндикаторы следует помещать в самые холодные участки загрузки, для которой во время изучения проникания тепла была установлена минимальная величина F_H . При совмещении биологических испытаний и изучения проникания тепла в одних и тех же прогонах биоиндикаторы закладываются рядом с температурными датчиками.

Для циклов, предназначенных для депирогенизации материалов, в отдельные элементы загрузки необходимо вносить пробы, содержащие очищенные эндотоксины *E. Coli* в количестве превышающем 10^3 едЭ [7]. После обработки материала должно достигаться снижение количества эндотоксинов минимум в 1000 раз. Использование бактериальных спор в этом случае не является обязательным.

Примечание – На практике снижение эндотоксиновой нагрузки до 1/1000 от начальной величины эквивалентно вероятности контаминации гораздо ниже 10^{-6} .

5.5 Поствалидационный мониторинг

Поствалидационный мониторинг заключается главным образом в текущей проверке условий, в которых проводятся циклы стерилизации и сравнении их с валидованными циклами, регулярном отборе проб для определения бионагрузки и обслуживании оборудования.

Каждый стерилизационный цикл необходимо контролировать, чтобы быть уверенным в том, что

условия цикла соответствуют специфицированным, и что параметры времени, температуры и давления были такими же, как и в валидированном цикле. Эта проверка должна быть зарегистрирована в протоколах стерилизации/журнале эксплуатации стерилизационного оборудования.

Требование выполнять мониторинг должно быть занесено в отчет о валидации.

При выполнении процедур мониторинга использование биологических проб должно подробно документироваться. Размещение, число, тип и номер серии пробы необходимо включать в записи вместе с действительными результатами испытаний.

Отклонения от определенных условий обработки должны быть документально оформлены, исследованы и оценены на предмет соответствия валидационному протоколу. Отклонения, выходящие за пределы любого из предварительно установленных условий, должны расцениваться как компрометирующие процесс стерилизации.

Для циклов стерилизации, основанных на подходе вероятности выживания, образцы для испытания на биоагрузку должны быть получены для каждой серии лекарственного средства перед стерилизацией.

Образцы, отобранные в начале и конце технологической операции наполнения контейнеров продукцией, должны использоваться для определения количества микроорганизмов и термостойкости наиболее устойчивых культур, выделенных из продукции. Объем отбора проб может изменяться в зависимости от накопленных исторических данных по испытанию продукции.

Для любого валидированного процесса стерилизации перед стерилизацией наполненных и укуренных контейнеров должно быть установлено максимальное микробное количество и максимальная микробная термоустойчивость. Количество микроорганизмов или термоустойчивость, превышающие эти уровни, должны расцениваться как компрометирующие процесс стерилизации.

Для того чтобы удостовериться, что оборудование и вспомогательные системы постоянно функционируют в пределах спецификаций валидационного протокола, должна быть документированная программа по обслуживанию каждой части оборудования, определенной в протоколе. Программа обслуживания должна подробно указывать элементы, которые необходимо проверять, частоту обслуживания и калибровку контрольных приборов. Необходимо вести подробные записи обо всем выполняемом обслуживании. Записи должны просматриваться руководящим персоналом для гарантии того, что процесс не был скомпрометирован.

5.6 Контроль изменений, повторная аттестация и валидация

Если какие-либо изменения, даже направленные на улучшение, предполагается внести в продукцию, упаковку, схему загрузки, цикл стерилизации или стерилизатор, то результаты первичной валидации должны считаться недействительными до тех пор, пока не будет произведена оценка влияния этих изменений на эффективность стерилизации.

Валидацию процесса стерилизации необходимо повторять через промежутки времени, установленные графиком, но не реже одного раза в год, а также всегда в случае внесения существенных изменений в оборудование. Необходимо тщательно документировать схему и характер загрузки, а также расположение дополнительных датчиков во время выполнения исследований, чтобы их можно было точно воспроизвести во время ревалидации.

Изменения, которые требуют проведения повторной аттестации стерилизатора, включают:

- замену поставляемых компонентов среды стерилизации, выпускных клапанов или уплотнений двери;
- изменения во внутренних стенках камеры;
- изменения в генерировании стерилизующей среды или поступлении охлаждающей среды и их контрольных системах;
- изменения в стерилизационных тележках или поддонах.

Профиль распределения тепла необходимо повторно подтверждать, если изменения в оборудовании могут повлиять на однообразие стерилизационной среды в камере.

Проникание тепла необходимо повторно проверять, если изменения в стерилизационном процессе могут повлиять на проникание тепла в обрабатываемую продукцию.

Повторная аттестация стерилизатора/валидация процесса проводится в соответствии с подробными документированными процедурами. В качестве критериев используются первоначальные параметры валидации и пределы. Испытания при повторной аттестации должны подробно документироваться, а результаты – сравниваться с результатами первоначальной валидации и оцениваться в той же самой степени. Если результаты удовлетворительны, система считается аттестованной. Если результаты не удовлетворительны, для такой измененной системы потребуются новые валидационные испытания.

При изменениях в схеме загрузки, новой системе упаковки или параметрах цикла необходимо проведение не повторных, а новых валидационных испытаний, так как первоначальные параметры валидации были другими. Условия, описанные выше, в данном случае не применимы.

Необходимо, чтобы изменения выполнялись только после оценки последствий, к которым они могут привести. Если нет системы тщательного документирования любого фактора, то изменения могут остаться незамеченными и необходимая ревалидация не будет проведена.

6 Валидация процессов производства лекарственных средств в асептических условиях

6.1 Валидация процесса стерилизующей фильтрации

Общие положения

6.1.1 Фильтрация является общим методом стерилизации растворов лекарственных средств, производимых в асептических условиях. Существует множество критических факторов, влияющих на процесс стерилизующей фильтрации, и которые необходимо учитывать при разработке плана валидации (см. таблицу 6.1).

Таблица 6.1 – Критические факторы, влияющие на процесс стерилизующей фильтрации [8]

Физико-химические факторы			Биологические факторы
фильтры	процесс	продукция	
<ul style="list-style-type: none"> – тип и партия фильтра – площадь поверхности фильтра – распределение размеров пор – материал фильтров и других элементов, вступающих в контакт с продукцией – экстрагирование и адсорбция веществ – устойчивость к гидравлическим ударам и стерилизации паром/сухим жаром 	<ul style="list-style-type: none"> – перепад давления на фильтрах – скорость потока фильтрата – продолжительность (время контакта) – температура 	<ul style="list-style-type: none"> – размер серии – pH раствора – вязкость – осмолярность – ионная сила – поверхностное натяжение – органические растворители 	<ul style="list-style-type: none"> – размеры – форма – количество микроорганизмов

6.1.2 Для достижения уровня гарантированной стерильности лекарственного средства в асептическом производстве применяются системы фильтрации, включающие фильтры стерилизующего уровня для удаления микроорганизмов, а также чистые помещения и локальные зоны со своей инфраструктурой, обеспечивающие асептическую среду вокруг этих систем фильтрации.

6.1.3 Фильтр стерилизующего уровня должен обладать следующими характеристиками и свойствами, которые подтверждаются при валидации:

- способностью удерживать микроорганизмы;
- наличием достоверного метода контроля удерживающих свойств фильтра;
- наличием 100 %-контроля целостности в производстве и эксплуатации;
- прохождением жидкости с заданным значением потока;
- контролем экстракции веществ;
- соответствием нормативным документам по уровню привносимых бактериальных эндотоксинов;
- стойкостью к механическим стрессам;
- устойчивостью к воздействию пара или другого стерилизующего агента.

6.1.4 Часть требуемых характеристик заимствуется из аттестационных документов фирмы-производителя, а те свойства, которые определяются спецификой применения в конкретных производственных условиях и с конкретными лекарственными средствами, должны быть подтверждены самостоятельно пользователем фильтров во время валидации (см. таблицу 6.2). Валидация эксплуатационных качеств фильтров должна включать, прежде всего, микробиологические испытания, имитирующие «наихудший случай», а также тестирование целостности фильтров и проверку химической совместимости продукции и компонентов системы фильтрации.

6.1.5 Аттестационные документы на фильтры стерилизующего уровня должны представлять собой набор следующей информации и документов:

- описание фильтра (назначение, материалы конструкции и их химическую совместимость, технические характеристики, сертификаты качества и т.д.);
- результаты аттестации фильтров (биологические и физические испытания).

Примечание – Биологические испытания включают тесты на удержание микроорганизмов и токсичность конструкционных материалов, тесты на общую безопасность, исследование содержания цитотоксинов, бактериальных эндотоксинов и т.п. Физические испытания включают тесты на механическую целостность конструкции, замеры скоростей потока воды и органических растворителей через фильтр, стойкость к гидравлическим и тепловым стрессам, гравиметрический анализ экстрагируемых фильтром компонентов, стойкость к окислению и т.п.;

– подробное описание схемы оборудования и методик, по которым проводились вышеуказанные тесты.

Примечание – При отсутствии у производителя фильтров аттестационных документов, пользователь должен самостоятельно провести опыты по документальной наработке данных, подтверждающих аттестационные требования к фильтрам стерилизующего уровня.

6.1.6 При валидации фильтров стерилизующего уровня необходимо использовать надежный метод контроля целостности мембраны. Наиболее распространенными методами такого контроля являются: метод «точки пузырька», метод диффузионного потока, метод удерживания давления, которые позволяют установить корреляционную зависимость между структурой мембраны и ее свойством удерживать микроорганизмы.

Примечание – Во время изготовления фильтров устанавливается численная взаимосвязь удерживающей способности мембраны по отношению к микроорганизмам (см. 6.1.10) со значением прикладываемого давления воздуха при физическом методе испытания целостности фильтра. Наличие вышеуказанной корреляции, значимость которой доказана производителем мембран, позволяет потребителям фильтров быстро и гарантированно в условиях своего технологического процесса подтвердить свойства фильтров стерилизовать растворы.

6.1.7 После проверки выполнения аттестационных требований начинается самостоятельная работа пользователей фильтров в лаборатории и непосредственно на производственных линиях по валидации процесса фильтрации в целом. На этой стадии с помощью отдельных валидационных испытаний подтверждаются стерилизующие свойства фильтра при его применении в конкретных производственных условиях и с конкретной продукцией.

Таблица 6.2 – Пример валидационных испытаний и данных, предоставляемых производителем фильтров стерилизующего уровня

Вид испытаний	Валидация, выполняемая пользователем фильтров	Данные, предоставляемые производителем фильтров
Корреляция между удерживающей способностью фильтра и результатами теста на целостность	–	результаты аттестационных испытаний мембранных фильтров и фильтрационных установок
Целостность фильтра при использовании продукции	Тест № 1	–
Удерживающая способность фильтра при фильтрации продукции: – водные растворы – растворы на основе органических растворителей	Тест № 9 Тест № 10 Тест № 11	результаты аттестационных испытаний с использованием модельных растворов и жидкостей
Влияние совместимости фильтра и продукции на целостность фильтра	Тест № 1	результаты аттестационных испытаний с использованием различных растворителей
Токсичность материалов фильтрующей установки	–	результаты биологических испытаний
Экстрагируемые вещества	–	результаты аттестационных испытаний
Извлекаемые в фильтрат вещества	Тесты № 2, 3, 4	–
Адсорбция веществ из продукции	Тесты № 5, 6, 7	–
Влияние стерилизации фильтра на целостность и удерживающую способность	Тест № 1, 11 Тест № 11	результаты аттестационных испытаний

6.1.8 Чтобы показать воспроизводимость данных, обычно необходимо выполнить валидацию, по крайней мере, с использованием трех последовательных серий продукции. Важным аспектом валидации процесса фильтрации является его проверка при самых неблагоприятных условиях. Для операций фильтрации такие факторы, как свойства лекарственного средства, параметры технологического процесса, характеристики микроорганизмов и самой мембраны, так и флуктуации значений давления и скорости потока, обусловленные работой насоса, и т.п., являются критическими переменными, которые должны быть рассмотрены во время исследований свойств фильтра. Условия валидационных испытаний в целом должны включать проверку рабочих параметров в их экстремальных значениях (верхних или нижних технологических пределах).

6.1.9 Для выполнения условия «наихудшего случая» при проведении испытания удерживающих свойств мембраны необходимо использовать фильтры, имеющие измеренные значения «точки пузырька» вблизи предельного значения, определенного производителем фильтра, и отраженного в спецификации. Данные фильтры обладают самыми слабыми свойствами по удержанию микроорганизмов, и будут моделировать самые неблагоприятные условия процесса фильтрации тестового раствора реального лекарственного средства, с внесенной суспензией тестовых микроорганизмов.

Биологические испытания фильтров

6.1.10 Следует помнить, что номинальный размер пор фильтрующего материала не является показателем удерживающей способности фильтра или его стерилизующего уровня.

6.1.11 Фильтр классифицируется как стерилизующий, если он выдерживает микробиологическую нагрузку в виде клеток *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146) в количестве не менее 10^7 КОЕ/см² эффективной площади фильтра и обеспечивает стерильный поток на выходе [8], [9]. Данные микроорганизмы, будучи правильно выращенными и культивированными, являются одними из самых мелких бактерий (средний диаметр приблизительно 0,3 мкм). Данное обстоятельство является очень важным, так как необходимо испытать номинальную пористость фильтра 0,22 мкм и ниже, имитируя самые мелкие бактерии, которые могут присутствовать в продукции.

6.1.12 Необходимо определить бионагрузку нерасфасованных растворов для того, чтобы проанализировать характеристики потенциальных контаминантов. В определенных случаях, при обосновании эквивалентности или предпочтительности по сравнению с *Brevundimonas diminuta*, можно проводить испытания удерживающей способности фильтров, используя изоляты из бионагрузки.

6.1.13 Количество тестовых микроорганизмов в провокационном испытании является очень важным, так как фильтр может содержать некоторое количество более крупных пор по сравнению с номинальным размером и потенциально может пропускать микроорганизмы. Вероятность такого пропускания увеличивается по мере повышения количества клеток (бионагрузки) в фильтруемом материале. Поэтому обычно используется минимальная концентрация *B. diminuta* 10^7 КОЕ/см² эффективной зоны фильтрации. Реальная бионагрузка производственных растворов, подлежащих фильтрации, не должна содержать микроорганизмы меньших размеров и в большей концентрации, чем провокационная нагрузка, применявшаяся в валидационных испытаниях.

6.1.14 Прямая инокуляция в состав лекарственного средства позволяет оценить эффект лекарственного средства на материал фильтра и микроорганизм. Однако, прямая инокуляция тестовой суспензии микроорганизмов в лекарственное средство часто невозможна из-за антимикробной активности фильтруемого раствора. При достаточном обосновании, воздействие компонентов лекарственного средства на целостность фильтра может оцениваться соответствующими альтернативными методами. В этом случае, например, жидкое лекарственное средство фильтруют через стерилизующий фильтр, имитируя самую неблагоприятную комбинацию условий («наихудший случай»), а затем фильтруют при тех же условиях взвесь тестовой культуры микроорганизмов в растворе, содержащем соответствующим образом модифицированное лекарственное средство (т.е. не содержащее антимикробных консервантов или других антимикробных компонентов). Любое отклонение от имитации при использовании реальной продукции и условий обработки должно быть обосновано.

6.1.15 Разрабатывая план валидации, важно обращать внимание на воздействие экстремальных факторов на способность фильтра давать на выходе стерильный фильтрат. Проверка фильтров должна проводиться с использованием условий «наихудшего случая», таких как максимально возможное давление и время использования фильтра. Не обязательно проводить испытания по валидации стерилизующей фильтрации, включая провокационную микробную пробу, в производственной зоне. Однако, является обязательным, чтобы лабораторные эксперименты имитировали условия реального производства.

Оценка совместимости фильтра и системы фильтрации с продукцией

6.1.16 Безопасность фильтра и фильтрационной системы следует оценивать биологическими и химическими методами, чтобы убедиться, что они не выделяют нежелательных веществ и механических частиц в проходящие через них газы или жидкости.

6.1.17 Если в фильтре (фильтрационной системе) используются любые пластмассы, то для каждого вида пластмассы следует иметь результаты контроля биологической безопасности материалов. Необходимо также выполнить оценку фильтров на присутствие эндотоксинов. Производители фильтров, как правило, выполняют такие исследования, используя воду в качестве наиболее распространенного растворителя. Результаты испытаний, предоставляемые поставщиком фильтров, должны соответствовать, по крайней мере, требованиям Американской Фармакопеи (тесты на биологическую реактивность *in vitro* и *in vivo*), требованиям по содержанию эндотоксинов, установленным для воды для инъекций.

Примечание – Необходимо учитывать тот факт, что в процессе эксплуатации фильтров деградация удерживаемых микроорганизмов во время стерилизации фильтров может приводить к последующему попаданию эндотоксинов в продукцию. По этой причине пользователю необходимо проверять содержание эндотоксинов в фильтрате после определенного срока эксплуатации фильтра для подтверждения его пригодности.

6.1.18 Кроме того, все смачиваемые компоненты фильтра и фильтрационной системы в целом должны быть исследованы на совместимость с обрабатываемым раствором. При этом необходимо учитывать следующее:

- компоненты системы не должны привносить существенные загрязнения (то есть, из них не должны экстрагироваться вещества) в стерилизуемый раствор лекарственного средства, и сама система не должна существенно воздействовать на продукцию неблагоприятным образом (например, приводить к денатурации белков на гидрофобных поверхностях);

– обрабатываемый раствор не должен вызывать преждевременный отказ мембранных элементов или других смачиваемых частей, например, если компоненты из полиэфира подвергаются воздействию едких высококонцентрированных веществ. Совместимость компонентов со всеми обрабатываемыми жидкостями должна рассматриваться во время работы, стерилизации, очистки, депирогенизации и любых других операций.

6.1.19 Исходя из установившейся практики, пользователь фильтров должен показать отсутствие посторонних соединений в фильтрате, применяя разнообразные аналитические методы: измерение содержания общего органического углерода, Фурье-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором. Тест на извлекаемые вещества должен проводиться в более жестких условиях по сравнению с рабочим режимом: например, многократная циркуляция небольшого объема продукции или модельного раствора через фильтр при температуре, близкой к верхнему рабочему пределу.

6.1.20 Заключительные критерии для оценки совместимости – качество продукции и сохранение целостности системы во время продолжительного использования. Исследования должны включать:

- изменения в экстрагировании веществ после длительного воздействия обрабатываемых растворов, которые содержат органические растворители (например, ацетонитрил, спирты), разъедающие вещества (например, гуанидина гидрохлорид) или являются химически активными (например, сильные окислители), а также воздействие высоких температур;
- порядок технического обслуживания фильтров для сохранения эффективности работы системы и выполнение тестов на целостность;
- изменения в прохождении продукции через фильтр или удерживающих свойств фильтра во время его многократной эксплуатации.

6.1.21 Оценка совместимости не должна ограничиваться только характеристиками мембран или фильтров. Производственное оборудование должно быть осмотрено на следы коррозии в трубопроводах, клапанах, сварных швах и насосах (если применимо), что является частью изучения совместимости.

6.1.22 Следует оценить сорбцию фильтром фармацевтической субстанции, консервантов и любых других компонентов лекарственного средства. Данное испытание выполняется, как правило, с применением методов разделения и количественного определения компонентов раствора до и непосредственно после фильтрации (первых порций фильтрата как «наихудший случай»). Должно быть продемонстрировано отсутствие статистически значимых различий в количественном содержании исследуемых компонентов раствора до и после фильтрации, а также других важных характеристик, например, pH, активности и/или пространственной структуры (конформации) биополимеров.

Заключительная стадия валидации

6.1.23 После завершения валидационных тестов в лабораторных условиях, включающих моделирование самых неблагоприятных условий фильтрации, и получения удовлетворительных результатов, осуществляется заключительная стадия, во время которой подтверждаются свойства фильтра и фильтрационной системы в целом в производственных условиях. На этой стадии проводится стерилизующая фильтрация трех серий лекарственного средства при обычных рабочих режимах и обычной, а не специально созданной обсемененности исходного раствора и контролируется стерильность фильтрата.

Подтверждение целостности в эксплуатации

6.1.24 Следует определить свойство фильтра или его корпуса сохранять целостность при стерилизации и прохождении через него газа или жидкости (учитывая изменения давления или потока).

6.1.25 Валидационная проверка физической целостности технологического фильтра должна производиться после его использования без нарушения корпуса и сборочных элементов фильтра.

6.1.26 В качестве основы для валидационного метода могут использоваться инструкции или рекомендации изготовителя фильтра.

Примечание – Неразрушающие методы контроля целостности фильтров основаны на измерении потока газа или воздуха через увлажненные фильтры. Благодаря капиллярным силам жидкость заполняет каналы пор.

Параметры потока газа через увлажненные мембраны могут оцениваться в определенном диапазоне давления. После полного увлажнения мембраны фильтра на верхнюю поверхность фильтра подается газ или воздух при постоянно увеличивающемся давлении. По мере роста давления газ начинает диффундировать через заполненные жидкостью поры – наблюдается диффузионный поток, который можно измерить расходомером. При достижении некоторого критического давления газ вытесняет жидкость из наиболее крупных пор – появляются первые пузырьки в жидкости, в которую опущен конец трубки на выходе из фильтра и поток газа резко возрастает. Значение давления, при котором происходит скачкообразное увеличение потока газа через смоченный фильтр, называется давлением «точки пузырька» (см. рисунок 5).

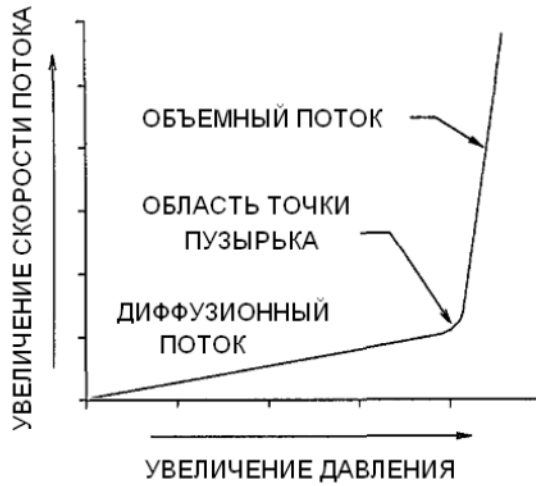


Рисунок 5 – Взаимосвязь между прикладываемым давлением газа и скоростью потока через увлажненный фильтр [8]

6.1.27 Приемлемыми тестами на физическую целостность технологического фильтра являются «диффузный поток», «поддержание постоянного давления», «точка пузырька».

Примечание – К традиционным, проверенным на практике методам контроля целостности фильтров относятся: метод «точки пузырька», метод диффузионного/прямого потока, тест на удерживание давления (вариант метода прямого потока). Эти методы контроля применимы как к гидрофильным, так и гидрофобным фильтрам, могут выполняться как вручную (см. рисунок 6), так и автоматически с использованием специальных приборов. Каждый из представленных методов имеет свои преимущества и недостатки. В частности, чувствительность метода «точки пузырька» существенно снижается при увеличении площади фильтра, наоборот, метод диффузионного потока более чувствителен для фильтров с большей площадью поверхности. Наиболее приемлемым методом контроля целостности фильтров является комбинированный метод, включающий в себя измерение текущего потока газа (как диффузионного, так и обычного) через увлажненный фильтр в большом диапазоне прикладываемого к поверхности фильтра давления.

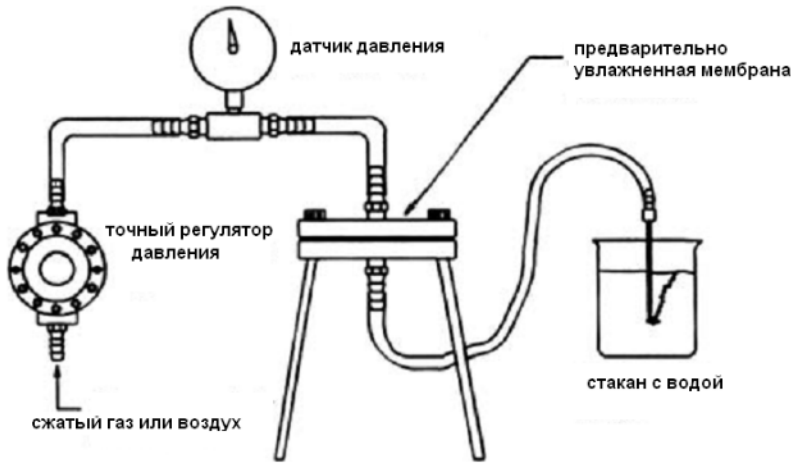


Рисунок 6 – Ручная установка для измерения «точки пузырька» [8]

Валидация регенерации стерилизующих фильтров

6.1.28 Процедуры очистки и стерилизации фильтров и системы в целом (с помощью автоклава, CIP/SIP или другим способом) должны быть разработаны так, чтобы при их выполнении не были повреждены мембрана и фильтрационная система, а также не было воздействия на последующие серии продукции.

6.1.29 Эффективность удаления моющих средств после процесса очистки перед повторным использованием системы фильтрации, то есть процедуры ополаскивания, должны гарантировать удаление этих веществ до приемлемого низкого уровня. Валидация циклов очистки часто выполняется анализом промывных растворов, проводимых после использования и очистки. Первый подход заключается в том, чтобы выполнить промывку системы водой для инъекций и показать, что вода после промывки все еще удовлетворяет требованиям к воде для инъекций. При втором более предпочтительном варианте анализируется содержание общего органического углерода (ООУ) в промывной воде системы как меры общего количества остаточной продукции и моющих средств. Другие подходы могут включать

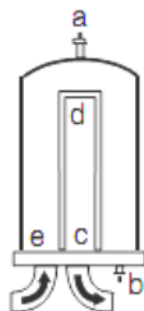
№ 202311110930 19.194847.34800.34800 Рабочий экземпляр Производственное республиканское унитарное предприятие "Минскинтеркаш" дата печати: 11.11.2023 09:30:19 Распечатан Сиволош Юрий Николаевич для Сиволош Юрий Николаевич

прямой анализ промывной воды на остаточную продукцию (прямое определение белков, иммунологические исследования) или на отдельные химические соединения (пероксиды, хлор, пирогены и т.д.).

6.1.30 Моделируемое или фактическое исследование процесса может использоваться для подтверждения эффективности рекомендованной или выбранной процедуры очистки, стерилизации и хранения фильтров. Например, депирогенизация системы химическими веществами при заданных параметрах концентрации, температуры, времени, скорости рециркуляции и давления должна продемонстрировать адекватное удаление пирогенов из системы.

6.1.31 Практически все фильтры разработаны для термической стерилизации посредством автоклавирования или обработки текущим паром. Возможность и эффективность стерилизации этими методами должна быть продемонстрирована изготовителем фильтров или системы с выдачей соответствующих рекомендаций по эксплуатации (режимов стерилизации, максимальному количеству циклов).

6.1.32 Пользователь должен адаптировать рекомендуемые процедуры к фильтрационной системе, установленной в конкретном производственном помещении, и подтвердить, что они пригодны и воспроизводимы для всей системы. Необходимо продемонстрировать разрушение биологических индикаторов или нанесенной на внутреннюю сторону мембраны суспензии спор, расположенных в наиболее критических местах конструкции фильтров, а также подтвердить достижение и поддержание требуемой для стерилизации температуры во всех критических участках системы с использованием температурных датчиков (см. рисунок 7). Процедуры стерилизации паром в линии или автоклавирования должны включать достижение заданных валидированных параметров, таких как время, температура, давление в течение цикла, а также порядок охлаждения. Если процесс стерилизации приводит к высушиванию мембран, валидация должна показать, что мембраны могут быть адекватно повторно увлажнены без потери функциональных свойств, что мембраны остаются стерильными и их целостность сохранена.



- a – воздушный клапан;
- b – слив конденсата;
- c – внутренняя зона фильтрационного картриджа;
- d – верхняя точка (воздух);
- e – нижняя точка (конденсат)

Рисунок 7 – Пример размещения температурных датчиков для измерения температуры во время стерилизации системы фильтрации

6.1.33 Во время валидации должно быть установлено количество циклов очистки/стерилизации фильтров и соответственно количество серий фильтруемой продукции для каждого типа фильтров. В идеальном случае фильтры стерилизующего уровня должны использоваться в производстве только одной серии продукции [8], [9].

Важные факторы, учитываемые при валидации стерилизующей фильтрации

6.1.34 При валидации фильтрование проводят в течение того же периода времени и в тех же условиях, при которых осуществляется реальная стерилизующая фильтрация. Время, затрачиваемое для фильтрации известного объема раствора и перепад давления, создаваемый на фильтре, должны быть определены во время валидации. Какие-либо значительные отклонения от данных параметров должны быть отмечены и исследованы. Экспериментальные данные могут быть получены и в лаборатории, но необходима максимально возможная имитация технологического процесса. Лабораторные испытания должны воспроизводить производственные условия: скорости потока, давление, температуру. Если возможности лаборатории недостаточны для проведения валидационных испытаний, такая работа может быть выполнена сторонней организацией или производителями фильтров. Тем не менее, обязанностью пользователя фильтров является изучение и оценка данных по валидации процесса стерилизующей фильтрации.

6.1.35 В условиях реального асептического производства рекомендуется вести мониторинг бионагрузки на фильтрационную установку. Необходима уверенность, что действительная бионагрузка не содержит микроорганизмы, размер и/или концентрация которых снизит уровень гарантии стерильности. В большинстве случаев считается допустимой концентрация микроорганизмов в стерилизуемой жидкости 10 КОЕ/100 мл. Если это условие не соблюдается, необходимо использовать предварительную фильтрацию через удерживающий бактерии фильтр, чтобы достичь достаточно низкого уровня бионагрузки.

6.1.36 После того, как процесс стерилизующей фильтрации успешно валидирован для данного вида продукции, процесса и фильтра, важно удостовериться, что замена идентичными фильтрами (мембранами или картриджами) стерилизующей установки, не повлияет на стерильность продукции.

6.1.37 Тестирование целостности фильтра выполняется после его сборки и стерилизации перед использованием. Однако, необходимо, чтобы тестирование проводилось и после фильтрации, для того чтобы обнаружить любые неплотности или перфорации, которые могли образоваться во время технологического процесса.

6.1.38 Чтобы контролировать изменения в мембранах во время их использования, могут использоваться измерения скорости потока воды или продукции. Измерения должны выполняться согласованным способом при стандартных рабочих режимах (давление на входе, температура и перепад давления). Такие опыты устанавливают базовое значение потока, с которым могут сравниваться будущие значения, чтобы оценить эффективность процедур очистки мембраны. После начального воздействия продукции замеры потока раствора могут быть полезны для мониторинга срока службы мембраны, особенно если может быть установлена корреляция с ее эксплуатационными качествами.

Примечание – При рассмотрении данных не следует забывать, что значение потока раствора, полученное до первого контакта мембраны с продукцией, будет почти всегда большим, чем последующие.

6.2 Валидация процесса лиофилизации

6.2.1 Процесс лиофилизации должен быть валидирован как составная часть общей валидации асептического производства. Валидация процесса должна выполняться после аттестации монтажа и функционирования лиофильной установки.

Во время аттестации оборудования выполняются:

- проверка целостности лиофильной установки (тесты на утечку);
- проверка системы контроля температуры;
- контроль последовательных операций цикла лиофилизации;
- распределение температуры в камере лиофильной установки.

6.2.2 Валидации подлежат следующие элементы процесса лиофилизации:

- перемещение продукции в лиофильную установку и из нее;
- процесс окончательного укупоривания флаконов;
- стерилизация лиофильной установки;
- стерилизация передаточных кассет или поддонов;
- дезинфекция передаточных устройств.

6.2.3 Во время валидации следует учитывать факторы, приводящие к ситуации «наихудшего случая»:

- максимальный интервал времени между повторными стерилизациями установки;
- максимальный интервал времени между стерилизацией и лиофилизацией;
- количество загружаемых поддонов, продолжительность операций загрузки, продолжительность стадии сушки.

6.2.4 Лيوфилизованная продукция должна быть испытана для подтверждения соответствия специфицированным показателям: стерильность, стабильность, остаточное содержание растворителя, способность к растворению, внешний вид, активность и однородность. Испытания должны выполняться согласно утвержденному плану отбора проб.

6.2.5 Программа мониторинга, включая регулярное испытание по «имитации процесса», должна учитывать все валидируемые параметры.

6.2.6 В случае существенных изменений в процессе должна быть проведена повторная валидация.

Параметры контроля процесса лиофилизации

6.2.7 Поскольку воздух из камеры удаляется, а затем вновь в нее подается во время процесса лиофилизации, места ввода патрубков удаления и подачи воздуха должны быть оснащены стерилизующими фильтрами. Если в емкость с продукцией предусмотрена подача других газов (например, азота, углекислого газа) для сброса вакуума или защиты продукции, то линии ввода этих газов также должны быть оснащены финишными стерилизующими фильтрами.

6.2.8 Чтобы показать способность оборудования контролировать и поддерживать процесс лиофилизации (давление, температуру, время) и обеспечить надежное воспроизведение приемлемого уровня влажности в готовой продукции, следует проводить анализ содержания влаги в готовой продукции и документально оформлять его результаты. Отклонения в поддержании требуемого уровня влажности в

готовой продукции могут привести к тому, что готовая продукция будет менее активной и менее стабильной, чем это указано на этикетке.

Маршрут процесса

6.2.9 Планировочное решение помещения, относящееся к оборудованию наполнения, лиофилизации и укупоривания, должно быть выполнено так, чтобы перемещение открытой продукции было сведено до минимума.

Перемещение в лиофильную установку

6.2.10 Валидация перемещения продукции в лиофильную установку и из нее должна включать:

- аттестацию помещений и локальных зон с однонаправленным потоком фильтрованного воздуха с использованием как физических, так и микробиологических методов;
- аттестацию персонала, вовлеченного в данный процесс, с использованием микробиологических методов;
- использование питательной среды при имитации реальных технологических процессов и условий перемещения продукции, исключая операцию лиофилизации.

Очистка и дезинфекция лиофильной установки

6.2.11 Следует должным образом проводить очистку и дезинфекцию внутренних поверхностей лиофильной установки, включая линии стока водного конденсата. Методы очистки и дезинфекции лиофильной установки должны пройти валидацию.

Стерилизация лиофильной установки

6.2.12 Леофильная установка должна проходить стерилизацию через определенные интервалы времени.

6.2.13 Эти интервалы, которые могут зависеть от вида продукции или других факторов, должны быть подтверждены при валидации.

6.2.14 Должен быть определен максимально допустимый интервал времени между стерилизацией и началом нового цикла лиофильной сушки.

6.2.15 Методы стерилизации лиофильных установок должны быть валидированы.

Примечание — Методы стерилизации лиофильных установок паром или газом являются предпочтительными.

6.2.16 Валидация стерилизации лиофильной установки должна включать:

- установление однородности температуры стерилизации;
- определение «холодных пятен»;
- подтверждение воспроизводимости результатов.

6.2.17 Физические методы испытаний могут подкрепляться микробиологическими тестами с помощью биоиндикаторов. Биоиндикаторы следует размещать в точках возможных воздушных «карманов» или в точках накопления конденсата.

Мониторинг окружающей среды по микроорганизмам и частицам

6.2.18 Должна быть введена программа микробиологического мониторинга и контроля содержания частиц в воздухе при перемещении продукции и проведении лиофилизации.

Особенности выполнения имитации процесса при валидации процесса лиофилизации

6.2.19 Валидация процесса лиофилизации путем наполнения питательной средой (имитатором) может вызвать определенные трудности из-за повышенного числа манипуляций и вмешательства персонала.

6.2.20 При валидации методов очистки, дезинфекции и стерилизации должно быть показано, что пролитые среды во время проведения работ с имитатором удаляются.

6.2.21 Испытания путем наполнения питательной средой должны имитировать условия окружающей среды и течение технологического процесса, включая: наполнение емкости питательной средой, надевание пробки, загрузку кассеты и перемещение ее в лиофильную установку, процесс вакуумирования, плотное укупоривание или запаивание.

6.2.22 Во время процесса лиофилизации могут производиться ручные манипуляции, включая удаление крышек противней или поддонов в камере при загрузке флаконов и ампул, выполнение соединений термпар или термодатчиков и разгрузку камеры. Во время «имитации процесса» должны быть учтены все подобные ручные манипуляции и вмешательства.

6.2.23 Наполнение средой должно дублировать процесс лиофилизации настолько это возможно, за исключением стадии замораживания, исходя из практических соображений, включая частичное вакуумирование и продолжительность выдерживания среды в камере, соответствующую данной питательной среде.

Примечание – Необходимо учитывать возможную потерю влаги питательной средой.

6.2.24 Следует избегать фактического замораживания или «закипания» жидкой питательной среды.

Примечание – Если лиофилизация нерасфасованной продукции проводится не во флаконе или ампуле, то вмешательство человека в процесс лиофилизации увеличивается. В таких случаях лиофилизацию проходят целые поддоны с материалом. Материал должен измельчаться, чтобы продукция превратилась в однородную пудру до продолжения дальнейшего асептического процесса. При этом продукция оказывается экспонированной

окружающей среде в течение более длительного времени, что может повлиять на гарантию стерильности продукции.

6.3 Валидация процесса дезинфекции

6.3.1 Должны быть установлены и документально оформлены процедуры, описывающие приготовление и хранение дезинфицирующих и моющих средств. Эффективность дезинфицирующих средств и минимальное время их контакта с различными поверхностями в асептическом производстве должны обязательно подвергаться валидации. Эффективность и частота процедур дезинфекции должна определяться как часть валидации процессов производства стерильных лекарственных средств. Оценка эффективности применения дезинфицирующего средства проводится в процессе текущего мониторинга окружающей среды по степени уменьшения видов и общего количества микроорганизмов на поверхностях оборудования и помещений.

6.3.2 Процедуры проверки антимикробной эффективности дезинфицирующих средств приводятся в разных стандартах [10]–[14].

Примечание – В соответствии со стандартными методами дезинфицирующие средства, предназначенные для обработки поверхностей, должны вызывать снижение количества жизнеспособных клеток (на 4-5 log в зависимости от вида) хорошо охарактеризованных референсных микроорганизмов при строго контролируемых условиях экспозиции как в их высококонцентрированной суспензии, так и на поверхности различных искусственно обсемененных тест-объектов. Данные процедуры содержат множество экспериментальных деталей и, как правило, должны выполняться производителем дезинфицирующего средства еще на стадии его разработки. Процедуры, приведенные в [10]–[14], используются также в качестве стандартного метода в независимых лабораториях, аккредитованных на проведение данного вида испытаний. Производитель/поставщик дезинфицирующего средства должен предоставить доказательства того, что подобные испытания были выполнены (в виде сертификата, заключения или отчета).

6.3.3 В фармацевтическом производстве, как правило, применяется упрощенная процедура верификации эффективности дезинфицирующих средств. Для этого в лабораторных условиях на поверхность из того же самого материала, как у обрабатываемых поверхностей, наносится небольшое количество тестовых микроорганизмов, имитирующее реальное микробиологическое загрязнение производственной среды.

Примечание – Для вегетативных клеток нельзя допускать полного высыхания суспензии на анализируемой поверхности, для спор, наоборот, добиваться полного ее высушивания.

6.3.4 После обработки тестируемой поверхности проверяемым дезинфицирующим средством согласно внутривыпускной СОП, выполняется отбор проб с поверхностей методами смывов или с использованием контактных пластин. Как правило, должна достигаться полная деконтаминация поверхности после заданного времени экспозиции.

Примечание – В составе питательных сред необходимо использовать соответствующие нейтрализаторы.

6.3.5 При выполнении верификации не обязательно использовать высокие концентрации микроорганизмов и соблюдение условий, приведенных в стандартном методе. Результаты оценки являются скорее качественными, однако этого достаточно для подтверждения пригодности использования дезинфицирующего средства производителем лекарственного средства в конкретных условиях производства.

6.3.6 Кроме того, следует выполнить валидацию методов удаления остатков моющих и дезинфицирующих средств с поверхностей, которые контактируют с продукцией. Более подробно валидация процессов очистки и дезинфекции рассматривается в ТКП 437.

6.3.7 Дезинфицирующие и стерилизующие средства должны обладать бактерицидным, фунгицидным и вирулицидным действием в отношении микроорганизмов и вирусов. Для этих целей непригодны вещества, только задерживающие размножение микробов, т.е. обладающие бактериостатическим действием. Необходимо использовать только протестированные, валидированные и разрешенные к применению моющие и дезинфицирующие вещества. Обязательно следует чередовать и обновлять используемые дезинфицирующие средства, так как микрофлора окружающей среды может приобретать к ним устойчивость.

6.3.8 После приготовления дезинфицирующие средства, используемые при асептическом производстве, должны быть стерильными и использоваться ограниченное время, как определено в документированных процедурах. В течение этого срока дезинфицирующие средства должны сохранять микробицидную активность по отношению к обычной микрофлоре и быть эффективными против спорообразующих микроорганизмов.

Примечание – Следует заметить, что многие обычные дезинфицирующие средства неэффективны против спор, например, 70 % этиловый или изопропиловый спирт неэффективны против спор *Bacillus spp.* Спороцидные агенты необходимо применять регулярно для предотвращения контаминации асептической производственной среды, иначе будет чрезвычайно трудно избавиться от спорообразующих бактерий и грибов.

6.3.9 После начальной оценки процедур санитарной обработки, последующую эффективность дезинфекции необходимо систематически контролировать путем выполнения программы мониторинга

производственной среды, в которой должен быть определен порядок действий при превышении пределов содержания микроорганизмов в пробах. Оценка эффективности очистки и дезинфекции должна быть составной частью общей программы контроля производственной среды.

6.3.10 При появлении необычных результатов микробиологического контроля или необычной устойчивости микроорганизмов нужно провести и документально оформить исследование по обнаружению источника загрязнения.

6.4 Валидация технологических процессов производства лекарственных средств в асептических условиях [15]

6.4.1 Общие замечания

Для успешной валидации асептических процессов является критическим, чтобы продукция, материалы, компоненты и т.д., которые обрабатываются в асептических условиях, а также любое оборудование, емкости или поверхности (например, резервуары, трубопроводы, установки наполнения), которые способны контактировать с простерилизованными продукцией/материалами, были ранее подвергнуты стерилизационной обработке, прошедшей валидацию. При любом процессе асептического наполнения является важным обеспечение целостности контейнера и элементов укупорки. Доказательство того, что это достигается на самом деле, должно быть представлено как часть общей документации по валидации.

Для того чтобы обеспечить стерильность продукции, предназначенной быть стерильной, как стерилизация, так и операции по наполнению/укупориванию в асептических условиях должны быть адекватно валидованными. Цель даже наиболее эффективного процесса стерилизации может быть не достигнута, если стерильные компоненты продукции (лекарственное средство, контейнер и элементы укупорки) соединяются вместе в условиях, при которых возможна их контаминация. Аналогичным образом, стерильность продукции нарушается, если элементы продукции не являются стерильными во время их сборки.

Валидация всех процессов в целом, проводимых в асептических условиях, должна заканчиваться испытанием, моделирующим эти процессы, путем розлива питательной среды. Процесс фасования питательной среды должен по возможности полностью имитировать все операции с продукцией и компонентами первичной упаковки после их стерилизации [16].

При валидации асептических производственных операций необходимо использовать питательную среду для микроорганизмов вместо реальной продукции. Этот подход получил название «наполнение средой» или «имитация процесса». Питательная среда подвергается воздействию поверхностей оборудования, контактирующего с продукцией, компонентов первичной упаковки, окружающей среды и технологических операций, которые наиболее приближенным способом имитируют экспозицию самой продукции. Герметизированные контейнеры, наполненные средой, затем инкубируются для обнаружения микробной контаминации. Результаты оцениваются с целью определить вероятность контаминации для каждой данной единицы лекарственного средства во время выполнения реальных технологических асептических операций. Данные по контролю производственной среды являются составной частью валидации процессов в асептических условиях.

При выполнении валидации процессов производства лекарственных средств в асептических условиях важно учитывать следующие аспекты подготовки, проведения и оценки испытаний:

- в качестве необходимой предпосылки все испытания необходимо проводить в соответствии с подробными, предварительно разработанными планами, или серией протоколов, которые, в свою очередь, должны подвергаться процедурам контроля изменений;
- персонал, проводящий испытания и участвующий в испытательных прогонах, должен быть соответствующим образом обучен и квалифицирован, быть пригодным и компетентным для выполнения предназначенных для него задач;
- все данные, полученные во время испытаний, должны быть формальным образом рассмотрены и утверждены путем их сравнительной оценки с предварительно установленными критериями приемлемости;
- необходимо иметь пригодные средства измерений, оборудование, инструменты и валидованные методики испытаний;
- необходимо иметь соответствующие чистые помещения в отношении как зоны асептического производства, так и «фоновой» окружающей среды. Уверенность в том, что производственная среда чистых помещений специфицирована, должна обеспечиваться посредством их начальной аттестации и последующим применением программы текущего контроля и мониторинга;
- все производственное оборудование должно быть соответствующим образом установлено, аттестовано и обслуживаться в соответствии с документированными процедурами;
- если вышеперечисленным аспектам было уделено должное внимание, асептические процессы можно валидировать путем испытаний «наполнения средой» (или «имитации процесса»);
- процессы необходимо повторно валидировать через установленные интервалы времени;

– необходимо иметь всеобъемлющую и полную документацию для того, чтобы, описать и подтвердить процесс валидации в целом.

Если процесс наполнения реальной продукции продолжается в течение длительного периода времени, т.е. дольше 24 часов, испытание путем «имитации процесса» должно выполняться в течение всего стандартного периода наполнения. Для того чтобы предотвратить наполнение слишком большого количества единиц, обычно считается приемлемым выполнять прогон в течение разумного промежутка времени, если в результате такого допущения не уменьшается достоверность имитации.

Необходимо учитывать, что инертные газы препятствуют росту аэробных микроорганизмов. Поэтому для имитации процесса и для снятия вакуума необходимо использовать стерильный фильтрованный воздух вместо инертных газов. Однако в тех случаях, когда при производственном мониторинге или контроле стерильности обнаруживаются анаэробы, инертный газ может использоваться для «имитации процесса», поскольку он поддерживает рост анаэробных микроорганизмов.

Необходимы некоторые предварительные объяснения по приготовлению жидкой питательной среды, которая используется в большинстве таких испытаний. Среда должна растворяться в воде для инъекций в стандартной технологической емкости для приготовления растворов. Если для растворения требуется нагревание, следует использовать только минимальный нагрев среды. Необходимо измерить pH среды и довести его до требуемого диапазона. Среда следует профильтровать в асептический сосуд, предназначенный для временного хранения, используя обычный производственный стерилизующий фильтр и производственную процедуру.

6.4.2 Жидкая продукция

6.4.2.1 Продукция в стеклянных флаконах

Жидкая питательная среда для имитации процесса готовится, как изложено выше, и хранится в сосуде максимально допустимое время перед началом имитационного испытания. Если нерасфасованный раствор хранится охлажденным, такие же условия должны соблюдаться и для среды. Подготовка упаковочных материалов (флаконов и пробок/крышек) должна выполняться как при обычном производстве.

6.4.2.2 Стерильная продукция в пластмассовых контейнерах

Ушные и глазные капли обычно упаковываются в пластмассовые контейнеры. Контейнеры, прокладки, элементы укупорки и, где применимо, дополнительные укупорочные приспособления подвергаются обработке как при обычном производстве. Вместо стерилизации теплом используется облучение или обработка оксидом этилена. Несмотря на то что, при проведении испытания путем имитации асептических процессов часто используют прозрачные контейнеры, пластмасса обычно не достаточно прозрачная и это затрудняет идентификацию контаминированных контейнеров, которые демонстрируют только легкое помутнение среды. В таких случаях визуальный осмотр при естественном и комнатном освещении будет неудовлетворительным. Если используются непрозрачные контейнеры для испытания по «имитации процесса», необходимо извлечь все содержимое контейнера для исследования.

6.4.2.3 Продукция в ампулах

Могут использоваться открытые или закрытые типы ампул. Ампулы должны быть простерилизованы сухим жаром и впоследствии применяться для «имитации процесса», как и в обычном серийном производстве.

Мойка ампул выполняется таким же способом, как при обычном производстве.

6.4.3 Инъекционные порошкообразные лекарственные средства

Существует две возможности для имитации этого процесса: наполнение стерилизованной жидкой питательной средой стерильных контейнеров или добавление порошка (инертного или сухой питательной среды) до или после добавления стерильного разбавителя (жидкая питательная среда или вода для инъекций). Обычно используются следующие инертные порошкообразные вещества: полиэтиленгликоль 8000 или карбоксиметилцеллюлоза. Эти материалы предварительно стерилизуют путем облучения.

6.4.4 Суспензии

Данная процедура должна выполняться аналогично наполнению жидкой продукцией за исключением стадии процесса по поддержанию суспензионного состояния ингредиентов. Перемешивание или рециркуляция среды должны быть частью «имитации процесса». Если в реальном производстве осуществляется асептическое добавление компонентов в нерасфасованный раствор, это должно имитироваться путем добавления инертных стерильных жидкостей/порошков.

6.4.5 Лиофилизированная продукция

Нельзя допускать кристаллизацию среды, так как это может уменьшить вероятность последующего роста микроорганизмов.

Традиционно используются два метода имитации. При первом подходе разбавленная до определенной степени среда подвергается циклу лиофилизации, который удаляет воду до необходимой оптимальной для роста организмов концентрации среды, но не подвергается замораживанию. Другой метод использует питательную среду обычной концентрации, однако в камере лиофилизатора создается меньшая степень разрежения при температуре окружающей среды. Существует риск закипания среды и контаминирования ею камеры, если условия недостаточно тщательно контролируются. Необходимо

подтвердить отсутствие закипания при определенных условиях цикла.

6.4.6 Мягкие лекарственные средства (например, стерильные мази)

Для проведения данного испытания жидкая питательная среда загущается до соответствующей вязкости путем обычных производственных процедур. Подходящими загустителями являются агар и карбоксиметилцеллюлоза. Применение других агентов следует предварительно валидировать на предмет отсутствия у них бактериостатических и фунгистатических свойств. Металлические и пластмассовые тубы для мазей препятствуют визуальной оценке среды *in situ*. Обычно должно быть исследовано все содержимое тубы, этого можно достичь выдавливанием содержимого в чашку Петри. После перемешивания содержимого тубы оно может исследоваться на мутность или наличие колоний грибов при определенных условиях освещенности, или выполнении испытания на стерильность. При условии соответствующей валидации альтернативным методом обнаружения контаминации мягких лекарственных средств может быть использование среды, меняющей цвет при росте микроорганизмов.

6.4.7 Материалы для клинических испытаний и лекарственные средства с небольшими размерами серий

Так как валидация процессов для небольших серий (менее 5000 единиц) не допускает интерпретацию результатов в соответствии с 6.4.14, любое присутствие микробной контаминации должно рассматриваться как предел предупреждения. Условия мониторинга и проведения испытаний, такие как инкубация и выбор среды остаются теми же, что и при производстве промышленных серий продукции.

Число заполняемых средой первичных упаковок для продукции с небольшим размером серии должно быть, по меньшей мере, равным числу упаковок, заполняемых продукцией, предназначенной для реализации.

6.4.8 Биологические и биотехнологические лекарственные средства

Производство таких лекарственных средств изменчиво по своей природе, поэтому не существует единого процесса производства биологической или биотехнологической продукции. Возможно, более практичным является проведение валидации различных стадий процесса по отдельности. Частота повторной валидации должна быть связана с частотой текущего промышленного производства.

6.4.9 Стерильные нерасфасованные лекарственные субстанции

Необходимо использовать питательную среду, где только возможно, а процесс следует имитировать как можно более полно по отношению к обычному способу производства стерильной нерасфасованной лекарственной субстанции.

Асептическое производство стерильных нерасфасованных лекарственных субстанций представляет собой сложный процесс, имеющий много отдельных стадий, которые необходимо валидировать. Возможность попадания микроорганизмов в систему следует учитывать после каждой стадии обычного производства.

Валидация может включать стадии, в которых использование питательной среды невозможно. Является предпочтительным использование вместо лекарственной субстанции инертного, не обладающего антимикробными свойствами вещества, пригодного для обработки в асептической производственной линии.

Установление критериев приемлемости для валидации асептического производства нерасфасованных лекарственных субстанций осложняется небольшим количеством наполняемых контейнеров. В тех случаях, когда обычный критерий приемлемости для числа нестерильных единиц (менее 0,1 %) не может быть применен непосредственно, установленные другие критерии должны быть логично и научно обоснованы, и предоставлять эквивалентный уровень гарантии стерильности.

6.4.10 Условия проведения испытаний по «имитации процесса»

6.4.10.1 Выполнение испытаний

Испытание путем моделирования процесса должно как можно более полно отражать реальный процесс производства в асептических условиях и включать все последовательные критические производственные стадии. Следует использовать соответствующее сочетание размера контейнера и отверстия, а также скорость технологической линии (желательно на предельных значениях). Испытание путем моделирования процессов должно представлять ситуацию «наихудшего случая» и включать все манипуляции и вмешательства, которые могут иметь место в течение рабочей смены. Условия «наихудшего случая» часто понимаются как наибольший контейнер с наиболее широким отверстием, который дольше подвергается воздействию окружающей среды. Однако могут быть случаи, когда в наихудших условиях заполняются именно маленькие контейнеры из-за отсутствия стандартности емкостей и частого вмешательства персонала в непрерывную работу линии.

Объем наполнения емкостей должен быть достаточным, для того чтобы обеспечить контакт питательной среды со всей поверхностью контейнера и элементов укупорки в перевернутом положении контейнера, и обнаружить рост микроорганизмов.

Если промышленные серии меньше 5000 единиц, минимальное количество контейнеров, заполняемых при «имитации процесса», должно быть равным размеру производственной серии.

Испытания следует проводить в разные часы, дни недели и не только в начале рабочего дня.

Если тот же самый процесс проводится в другом чистом помещении, процесс следует валидировать заново.

Следует регистрировать время наполнения контейнеров и время их анализа с целью облегчения определения времени, когда было проведено наполнение контаминированного контейнера.

Для того чтобы обнаружить возможный источник контаминации, рекомендуется записывать процесс «наполнения средой» на видеопленку или разделять наполненные контейнеры в хронологическом порядке во время инкубации.

6.4.10.2 Выбор питательной среды

Критерии для выбора питательной среды должны быть следующими: низкая селективность, прозрачность, соответствующая концентрация и способность к фильтрованию.

Способность поддерживать рост широкого спектра микроорганизмов

Среда должна иметь низкую селективность, т.е. быть способной поддерживать рост широкого спектра микроорганизмов, таких как *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* и *Clostridium sporogenes* (например, казеин-соевый бульон).

Выбор среды должен также основываться на данных по реальной биогаулке (например, изолятов флоры, выделенных во время мониторинга).

Испытания на способность поддерживать рост должны продемонстрировать, что среда обеспечивает восстановление и рост небольшого числа микроорганизмов, т.е. от 10 до 100 КОЕ/контейнер или менее.

Должно быть выполнено испытание среды на способность поддерживать рост после завершения инкубационного периода для того, чтобы показать способность среды обеспечивать рост микроорганизмов, если присутствует контаминация. Должен быть продемонстрирован рост в течение пяти дней при той же температуре инкубации, которая использовалась при выполнении испытания по «имитации процесса».

Прозрачность

Среда должна быть прозрачной, для того чтобы легко было обнаружить ее помутнение.

Концентрация среды

Необходимо следовать рекомендациям поставщика, если во время дополнительной валидации не показано, что использование альтернативных концентраций дает одинаковые результаты.

Способность к фильтрации

Если в асептических технологических процессах используется стерилизующий фильтр, среда должна быть способной фильтроваться через фильтр того же уровня очистки.

6.4.11 Условия инкубации

Является общепринятым, что инкубирование при 20-25 °С в течение минимум 14 суток не требует сбора данных для поддержки данной схемы инкубации. Также является приемлемым использование схемы инкубации с двумя температурными режимами: 20-25 °С в течение минимум семи суток и затем при более высокой температуре (не превышающей 35 °С) в течение последующих семи суток. Другие схемы инкубации должны основываться на вспомогательных данных.

Для предварительной оценки результатов может оказаться полезным контроль наполненных контейнеров в ранний период (от трех до семи суток инкубирования).

Перед инкубированием контейнеров с питательной средой их следует перевернуть или проделать с ними другие манипуляции, чтобы обеспечить надежное увлажнение средой всей поверхности контейнера, включая внутреннюю поверхность элементов укупорки. Емкости не следует заполнять средой полностью, для того чтобы обеспечить достаточное количество воздуха для роста облигатных аэробов. По аналогичной причине на питательную среду не следует наслаивать инертный газ, даже если это делается во время розлива реальной продукции.

Микроорганизмы, присутствующие в емкости после проведения испытания, необходимо идентифицировать до рода, но предпочтительно – до уровня вида, чтобы облегчить определение возможных источников контаминации.

6.4.12 Учет результатов испытания

При исследовании контейнеров они должны сравниваться с аналогичным заведомо стерильным контейнером, так как небольшой микробиологический рост вызывает незначительное помутнение, которое трудно обнаружить, если нет контрольного контейнера для сравнения. Необходимо обучать персонал для выполнения этой задачи.

6.4.13 Частота испытаний

Производитель, основываясь на своих индивидуальных обстоятельствах, должен принять заключительное решение, требуется ли в большем объеме и чаще проводить испытания по «имитации процесса», чем рекомендуется в данном техническом кодексе.

Необходимо проводить различия между первоначальными и сопутствующими испытаниями.

Первоначальное испытание по «имитации процесса» состоит из трех последовательных удовлетворительных прогонов для каждой смены и должно быть завершено до начала обычного производства.

Первоначальные испытания по «имитации процесса» проводятся, например, для новых процессов, нового оборудования, или после критических изменений в процессах, оборудовании или производственной среде (например, значительные изменения в персонале рабочей смены; изменения оборудования, непосредственно контактирующего с продукцией; модификации HVAC-системы).

Сопутствующее испытание по «имитации процесса» состоит из одного удовлетворительного прогона для каждой смены и выполняется главным образом для периодического контроля асептических условий во время текущего мониторинга, но также, например, после менее критических изменений в процессах, оборудовании или производственной среде, или если производственная линия простаивала более шести месяцев.

Сопутствующие испытания по «имитации процесса» должны проводиться для каждой смены и каждой производственной линии, по крайней мере, дважды в год при условии, что не произошло никаких изменений в нормальных производственных процедурах и не было превышено ни одного предела, требующего принятия мер. Для асептических операций, выполняемых единственной сменой, минимальная частота должна составлять три раза в год для каждой производственной линии.

При превышении предела, требующего принятия мер, необходимо проведение повторной валидации. В зависимости от результатов последующего исследования для ревалидации может потребоваться от одного до трех удовлетворительно проведенных испытаний по «имитации процесса».

6.4.14 Интерпретация данных

После периода инкубации емкостей, наполненных средой, они оцениваются визуально на наличие роста микроорганизмов. Контаминированные контейнеры необходимо исследовать на наличие повреждений упаковки и элементов укупорки, которые могут компрометировать целостность упаковки. Поврежденные упаковки не должны рассматриваться как не прошедшие испытание (положительные) при оценке результатов.

Могут применяться различные подходы для определения пределов предупреждения, пределов, требующих принятия мер, и критериев приемлемости.

Один из методов заключается в определении уровня контаминации как абсолютной величины (например, 0,1 %) с указаниями по минимальному числу заполняемых единиц. Другой метод заключается в использовании статистического метода, основанного на пуассоновском распределении контаминированных наполненных единиц. Применение второго метода гарантирует более высокий уровень безопасности и, следовательно, он более приемлем для производителей стерильных лекарственных средств в асептических условиях.

В идеальном случае уровень контаминации должен равняться нулю. Тем не менее, в настоящее время считается, что приемлемый уровень контаминации должен быть меньше 0,1 % с 95 % доверительным пределом в соответствии с приложением 1 к ТКП 030. Для того чтобы рассчитать уровень контаминации для «наихудшего случая», используя данные по наблюдаемой частоте не прошедших испытание контейнеров, необходимо пользоваться таблицей В.1 (приложение В). Число, указанное как верхний доверительный предел (ВДП) в 95 %, отражает максимальное количество не прошедших испытание контейнеров, которое можно ожидать с 95 % вероятностью в действительной совокупности наполненных емкостей. Максимальный уровень контаминации рассчитывается по формуле:

Уровень контаминации = ВДП 95 % / Количество учитываемых контейнеров x 100 %.

Если серия состоит из менее 5000 единиц, минимальное количество емкостей, заполняемых питательной средой в испытании по «имитации процесса», должно быть равным размеру промышленной серии. Ни одной контаминированной единицы не должно быть обнаружено по истечении инкубационного периода.

Примечание – Для того чтобы продемонстрировать уровень контаминации одна единица из 10000 (0,01 %), потребуются заполнить «бульоном» существенно большее количество емкостей. К примеру, при обычном производственном прогоне 50000 единиц, необходимо заполнить питательной средой свыше 46000, при этом должно быть выявлено не более одной контаминированной единицы.

Эти статистические соображения накладывают практические ограничения по отношению к количеству заполняемых средой контейнеров, особенно при любой попытке показать наличие низкого (например, менее 0,1 %) уровня контаминации в «стандартной» серии промышленного размера. Производители должны определить (в соответствии со своими особыми обстоятельствами и размерами производственных серий) объем прогона при испытании по «имитации процесса» и допустимый уровень контаминации, которые обеспечат адекватную уверенность в стерильности реальных производственных серий. Поэтому, основываясь на практических ограничениях испытательных процедур, уровень контаминации 0,1 %, обнаруживаемый изредка, может рассматриваться как приемлемый. Регулярное или обычное обнаружение уровня контаминации при испытании по «имитации процесса» 0,1 % или выше необходимо считать неудовлетворительным.

Таким образом, обязанностью производителя является обеспечение наполнения статистически достоверного количества емкостей во время испытания по «имитации процесса».

6.4.15 Корректирующие действия

Производитель должен установить пределы предупреждения и пределы, требующие принятия мер, для «имитации процесса» производства серии каждого размера. Для этой цели можно использовать данные из [17] (см. таблицу В.2 (приложение В)).

Производитель должен действовать в соответствии с предварительно установленными пределами предупреждения и пределами, требующими принятия мер, при проведении испытания по «имитации процесса» для различных размеров серий.

Уровни контаминации выше 0,1 %, полученные в результате испытаний, должны исследоваться. В этом случае понадобится проведение повторных испытаний. Превышение предела предупреждения дважды должно рассматриваться как превышение предела, требующего принятия мер. Производителю необходимо указать в СОП, что необходимо предпринять в таких случаях.

Все контаминирующие микроорганизмы, независимо от того были или не были превышены пределы предупреждения или пределы, требующие принятия мер, должны быть идентифицированы, по меньшей мере, до рода, желательнее до вида (если осуществимо на практике) для определения возможного источника загрязнения.

Если асептические процессы не прошли испытание, необходимо уделить должное внимание продукции, произведенной в промежуток времени между последним успешным испытанием и неудачным тестом. Запись всех отклонений во время испытания по «имитации процесса» является важным, для прослеживания точной причины контаминации и оценки ее последствий. В ходе исследований необходимо идентифицировать серии, которые могли быть контаминированы за этот период. Следует переоценить право распоряжаться данными сериями.

6.4.16 Контроль окружающей среды и персонала

В ТКП 441 содержатся основные рекомендации и требования к проведению мониторинга производственной среды и персонала при производстве стерильных лекарственных средств.

Ниже приводятся дополнительные специальные рекомендации по мониторингу содержания жизнеспособных микроорганизмов и механических частиц в воздухе, контролю вмешательства персонала в работу линии и его обучения.

6.4.17 Мониторинг содержания жизнеспособных микроорганизмов и механических частиц в воздухе

Является важным, чтобы деятельность по мониторингу сама по себе не оказывала воздействия на качество стерильного лекарственного средства, производимого в асептических условиях. В сценарии «наихудшего случая» для испытания по «имитации процесса» также необходимо включать деятельность по мониторингу.

6.4.17.1 Контроль содержания механических частиц в воздухе

Участки, выбранные для мониторинга, должны проверяться для обеспечения того, что их местоположение отражает условия «наихудшего случая». При мониторинге помещения измерение концентрации частиц следует проводить в участках наибольшей активности операторов. Для производственной среды, окружающей линию розлива, определение концентрации частиц следует проводить в непосредственной близости к зоне наполнения емкостей продукцией, где компоненты подвергаются манипуляциям со стороны операторов. Необходимо избегать проведения мониторинга с таким отбором проб, который обеспечивает контроль HEPA-фильтров, а не воздуха, непосредственно окружающего критические зоны. Тем не менее, положение пробоотборного устройства не должно влиять на однородность и однонаправленность потока воздуха в критической зоне. Необходимо подтвердить, что во время первоначальной валидации положение участков «наихудшего случая» было определено должным образом. В этом можно убедиться повторно во время проведения испытания по «имитации процесса».

6.4.17.2 Микробиологический контроль

Обычно программа мониторинга производственной среды включает в себя комбинацию методов по контролю уровня микробного загрязнения, определенных в приложении 1 к ТКП 030.

Микробиологический мониторинг необходимо проводить в зонах высокой активности операторов и вокруг них. Следовательно, очень важно наблюдать за деятельностью операторов в течение достаточно продолжительного времени, чтобы удостовериться, что участки для мониторинга размещены таким образом, чтобы контролировать деятельность операторов.

Испытания по «имитации процесса» с использованием дополнительного мониторинга предоставляют идеальную возможность для подтверждения того, что участки «наихудшего случая» были определены правильно.

Полезной методикой мониторинга является контроль наполняющих игл в конце прогона.

Дополнительный мониторинг вокруг контаминированных зон, проведенный перед дезинфекцией, может предоставить полезную информацию о причине загрязнения.

6.4.18 Контроль вмешательства персонала

Необходимо включить в испытания по «имитации процесса» различные виды вмешательства, которые, как известно, происходят во время обычных производственных прогонов, например, ремонт или замена игл/трубок, замена фильтров, отбор микробиологических проб в ходе мониторинга персонала, использование пробоотборных устройств, продолжительность остановок линии, наполнение, обращение с пробками и т.д.

Испытания по «имитации процесса» должны продолжаться достаточно долго, чтобы вместить в себя все возможные виды вмешательств по сценарию «имитации процесса», которые могут включать некоторые неблагоприятные события, иногда происходящие во время серийного производства.

6.4.19 Обучение персонала

Необходимо уделять особое внимание регулярному тренингу персонала, который работает в контролируемой производственной среде, так как люди потенциально являются одним из основных источников микробиологического загрязнения.

Обучению должны подвергаться не только операторы, но также весь персонал, работающий в контролируемой производственной среде, отвечающий, например, за проведение мониторинга, очистку, подготовку, обслуживание оборудования.

Необходимо иметь официальную программу обучения персонала для любой деятельности в каждом чистом помещении. Это означает, что программу необходимо планировать, документировать и повторять через соответствующие интервалы времени для гарантии того, что однажды обученный сотрудник соответствует текущим требованиям работы в контролируемой производственной среде.

Данное обучение должно охватывать такие предметы, как основы микробиологии, принципы надлежащей производственной практики, гигиену, принципы дезинфекции, проведение асептических операций, пределы предупреждения и пределы, требующие принятия мер, процедуры по переодеванию.

Персонал, проводящий мониторинг производственной среды, должен досконально понимать риск контаминации, заключающийся в методах пробоотбора, и правильно оценивать его источники (например, неадекватно дезинфицированное/простерилизованное оборудование для отбора проб).

Необходимо периодически проводить испытания по «имитации процесса» (их частота рассматривается в 6.4.13) для гарантии того, что обучение персонала, принимающего участие в асептическом наполнении емкостей продукцией, эффективно применяется на практике.

Компетентность сотрудника должна быть надлежащим образом оценена и оформлена после проведения курса обучения и активного его участия в испытании по «имитации процесса».

Оценку наполненных контейнеров после испытания по «имитации процесса» должен выполнять специально обученный персонал. Он должен проходить регулярную проверку зрения. Обучение заключается в инспекции наполненных контейнеров, содержащих случайным образом помещенные контаминированные единицы.

Сотрудники, отвечающие за обслуживание, очистку, подготовку оборудования, должны проходить регулярное повторное обучение.

6.4.20 Важные факторы в валидации производства лекарственных средств в асептических условиях

Помимо элементов, уже описанных в предыдущих разделах, валидация асептического производства включает, но не ограничивается ими, другие важные факторы.

6.4.20.1 Испытание целостности контейнера и элементов укупорки

Упаковка, которая допускает проникновение воздуха или микроорганизмов, является неподходящей для стерильного лекарственного средства. Любая поврежденная или дефектная упаковка должна быть обнаружена и удалена посредством осмотра заключительно герметизированной продукции. Если повреждение, которое трудно обнаружить, способно привести к нарушению целостности упаковки, необходимо срочно применить усовершенствованные процедуры для предотвращения и обнаружения подобных дефектов.

Необходимо удостовериться в целостности отдельных конфигураций контейнера и элементов укупорки путем проведения валидации процесса укупоривания. Контейнеры заполняются стерильной питательной средой и помещаются в резервуар с питательным бульоном, содержащим примерно 10^6 КОЕ/мл соответствующего микроорганизма. Затем, после предварительно установленного времени погружения контейнеры извлекаются из резервуара, дезинфицируются и инкубируются 14 суток. Наличие роста будет указывать на неудовлетворительную систему укупорки.

Испытание на целостность контейнера и элементов укупорки обычно проверяется во время оценки, проводимой перед выдачей разрешения на выпуск продукции. Тем не менее, автоматизированная операция укупоривания наполненных емкостей представляет собой критический фактор асептического производства. Например, для флаконов обжим колпачков является критической стадией, так как эта операция может вызвать разрушение пробок, если усилие обжима не контролируется должным образом.

6.4.20.2 Стерилизация и депирогенизация контейнеров и элементов укупорки

Контейнеры и элементы укупорки должны быть стерильными, а для парентеральных лекарственных средств – свободными от пирогенов.

Приходится редко сталкиваться с проблемами по стерильности контейнеров. Однако стерилизация пробок может быть недостаточной по ряду причин, прежде всего вследствие отсутствия удаления воздуха и адекватного проникновения пара.

Не следует упаковывать пробки слишком плотно в поддонах или мешках, так как это может препятствовать должному удалению воздуха во время фазы вакуумирования цикла стерилизации. Во время вакуумной фазы цикла автоклавирования пробки могут собраться вместе, образуя прочно связанную массу. Пары пробок могут оставаться прикрепленными друг к другу путем сцепления.

Тип процесса, используемого для стерилизации контейнеров и элементов укупорки, зависит главным образом от свойств материала, входящего в состав контейнера и/или элементов укупорки. Валидационные испытания для любого такого процесса должны продемонстрировать его способность приводить

материалы в стерильное и апиrogenное состояние. Документированные процедуры должны определять частоту ревалидации таких процессов, а также сроки хранения стерильных депирогенизированных емкостей и элементов укупорки.

Стеклянные контейнеры обычно стерилизуются сухим жаром. Валидация процесса стерилизации/депирогенизации сухим жаром должна заключаться в испытаниях по необходимому распределению и прониканию тепла, применении циклов «наихудшего случая», испытаниях характеристик контейнера (например, массы) и специальных конфигураций загрузки, представленных в реальных производственных прогонах.

Резиновые элементы укупорки очищаются в ходе повторных циклов мойки и ополаскивания до заключительной стерилизации влажным теплом или облучением. Обычно депирогенизация достигается множественными промывками горячей водой для инъекций. Промежуток времени между мойкой и стерилизацией должен быть минимальным, так как влага на пробках может способствовать росту микроорганизмов и генерации эндотоксинов. Поскольку резина слабо проводит тепло, дополнительное внимание необходимо уделить валидации процессов, которые используют тепло для стерилизации резиновых пробок. Данные по валидации должны также демонстрировать удаление эндотоксинов с материала пробок.

6.4.20.3 Очистка и стерилизация оборудования

Ручная очистка и стерилизация

Валидация ручной очистки оборудования рассматривается в ТКП 437.

При выполнении ручной очистки редко возникают проблемы, однако процедуры очистки необходимо проверять, чтобы удостовериться в удалении кольцевых прокладок и уплотнений во время очистки, иначе под ними могут удерживаться остатки продукции и/или грязь.

Если оборудование подвергается стерилизации в автоклаве, следует уделить особое внимание следующим моментам:

- оборудование следует завернуть и загрузить в автоклав таким способом, чтобы облегчить удаление воздуха из предметов загрузки;
- стерилизация фильтров, кожухов и трубок может быть проблематичной.

Примечание – Проблемы часто заключаются в медленном прогревании внутри оборудования по сравнению с температурой камеры. Если происходит задержка нагрева в несколько минут, это обычно является индикатором наличия остатков воздуха в полостях оборудования. Пар будет прогревать захваченный воздух, но стерилизационные условия не будут достигаться, так как в этих участках отсутствует насыщенный пар.

Для стерилизации оборудования следует использовать только паровые стерилизаторы с вакуумной системой.

Автоклавы с пассивным удалением воздуха обычно не являются приемлемыми из-за трудностей в удалении воздуха из загрузки.

Очистка и стерилизация на месте

Валидация такой системы может быть затруднительной из-за потенциальной несовместимости требований к конструкции оборудования для выполнения очистки и стерилизации на месте. Все подобные системы имеют в большей или меньшей степени застойные зоны, а требования к ориентации застойных зон различны для двух данных процессов. Ориентация застойных зон для процесса очистки на месте должна быть слегка наклонной, чтобы моющий раствор мог легко туда проникать и выходить назад. Застойные зоны для процесса стерилизации на месте должны быть ориентированы вертикально, чтобы пар мог вытеснять воздух вниз.

6.4.20.4 Дезинфекция

Должны существовать документированные процедуры, описывающие приготовление и хранение дезинфицирующих и моющих средств. Эти средства необходимо контролировать на наличие микробной контаминации. Растворы должны храниться в предварительно очищенных емкостях и только в течение определенного времени, если они не стерилизуются. Дезинфицирующие и моющие средства, используемые в зонах типов А и В, должны быть стерильными во время их использования. Если используются аэрозольные средства, бутылки должны быть стерильными перед их наполнением и иметь непродолжительный срок использования.

Необходимо применять спороцидальные средства там, где возможно, но особенно для аэрозольной обработки компонентов и оборудования в зонах асептического производства.

Следует валидировать эффективность дезинфицирующих средств и минимальное время их контакта с различными поверхностями.

6.4.20.5 Валидация стерилизующих фильтров

Валидация процесса стерилизующей фильтрации более подробно рассматривается в 6.1.

Какой бы тип фильтра или комбинация фильтров не использовался, их валидация должна включать микробиологические провокационные испытания, имитирующие производственные условия «наихудшего случая». Выбор микроорганизма для выполнения испытаний (например, *B. diminuta*) необходимо обосновать. Природа лекарственного средства может оказывать воздействие на фильтр, поэтому валидацию следует проводить в присутствии продукции. Если продукция проявляет бактериостатические

или бактерицидные свойства, альтернативой может быть проведение испытания в присутствии среды растворителя для лекарственного средства (продукция без лекарственной субстанции). Можно сгруппировать аналогичную продукцию и выполнить испытание сразу для всей продукции. Пределы для испытания целостности фильтра необходимо получить из данных по аттестации фильтров. Производитель фильтров должен также оценить максимально допустимый перепад давлений через фильтр. Этот показатель следует проверять по документации серии, чтобы удостовериться, что он не был превышен во время асептической фильтрации.

В дополнение к валидации типа фильтров необходимо провести испытание целостности каждого индивидуального фильтра, используемого в серийном производстве, до и после прогона.

6.4.20.6 Вентиляционные фильтры

Является важным, чтобы целостность критических газовых и воздушных вентиляционных фильтров подтверждалась непосредственно после наполнения емкостей продукцией и если она оказалась нарушенной, производилась переоценка размещения серии. На практике вентиляционные фильтры утрачивают целостность более часто, чем фильтры для продукции, так как обычно они менее устойчивы и более чувствительны к перепадам давления во время паровой стерилизации.

6.4.20.7 Обслуживание и испытание оборудования

Асептические емкости для хранения и наполнения должны подвергаться плановому превентивному обслуживанию. Уплотнения и кольцевые прокладки необходимо регулярно проверять. Смотровые стеклянные окошки обычно проверяются редко, но после ряда циклов автоклавирования они могут стать хрупкими и пропускать воздух. Все сосуды необходимо регулярно испытывать на возможность утечки (путем удерживания давления или вакуума). Если используются стеклянные сосуды, следует разработать альтернативный метод испытания на утечку.

6.4.20.8 Эндотоксины

Адекватная очистка, сушка и хранение оборудования обеспечивают контроль за бионагрузкой и предотвращают попадание эндотоксинов в готовую продукцию. Оборудование следует проектировать таким образом, чтобы его можно было легко собрать и разобрать, очистить, дезинфицировать и/или стерилизовать. Необходимо осуществлять контроль содержания эндотоксинов для всех поверхностей, контактирующих с продукцией как до, так и после стерилизующей фильтрации.

Эндотоксины на поверхности оборудования инактивируются высокой температурой (обработкой сухим жаром) или удаляются с поверхностей оборудования с помощью валидированных процедур очистки. В некоторых методиках очистки на месте применяются начальные промывки водой соответствующего высокого качества и/или моющим средством (например, растворами кислот, оснований, поверхностно-активными веществами), сопровождающиеся заключительными промывками нагретой водой для инъекций. Оборудование необходимо высушить после очистки. Применение стерилизующих фильтров и стерилизация влажным теплом не являются эффективными в удалении эндотоксинов. Процессы, разработанные для депирогенизации, должны демонстрировать снижение уровня эндотоксинов на 3 lg.

Адекватность процесса депирогенизации можно оценить путем нанесения известного количества эндотоксинов, последующим определением их содержания после депирогенизации. Провокационные испытания следует проводить со свежеприготовленным раствором эндотоксина, нанося его непосредственно на испытываемую поверхность и высушивая потоком воздуха. Необходимо использовать положительные контроли, для того чтобы измерить степень извлечения эндотоксинов по данному методу испытаний. Валидационные исследования должны показать, что процесс депирогенизации снижает содержание эндотоксинов по меньшей мере на 99,9 % (3lg).

6.4.20.9 Технология формования-фасования-герметизации (BFS)

Технология формования-фасования-герметизации – автоматизированный процесс, в котором емкости формируются (выдуваются), заполняются и герметично закрываются в непрерывном цикле. Эта производственная технология не требует предварительной обработки контейнеров и элементов укупорки, уменьшает вмешательство в процесс персонала и часто используется для наполнения и упаковки офтальмологических и, реже, инъекционных лекарственных средств.

Если используется подобное оборудование для асептического производства лекарственных средств, должны быть приняты во внимание следующие аспекты.

В большинстве машин для формования-фасования-герметизации имеется три критические зоны: формирование емкостей, перенос емкостей и зона их наполнения. Открытая емкость в машине BFS в обычном смысле эквивалентна открытому контейнеру на линии. В большинстве установок только зона наполнения защищена ламинарным потоком воздуха, соответствующего зоне типа А.

Для реализации преимуществ технологии формования-фасования-герметизации необходимо наличие соответствующим образом функционирующего процесса. Особое внимание следует уделить аттестации оборудования и практических навыков персонала. Стерилизация оборудования, наполнение средой, стерилизация полимера, удаление эндотоксинов, совместимость пластмассы с продукцией, целостность и герметичность, изменчивость массы единиц продукции – только некоторые критические элементы, которые должны охватываться исследованиями по валидации/аттестации.

Соответствующие данные должны гарантировать, что продукция, изготовленная по технологии формования-фасования-герметизации, является стерильной и апиrogenной. В целом это может

достигаться путем валидации условий процесса экструзии (температуры и времени), при которых разрушается эндотоксиновая нагрузка «наихудшего случая» в полимерном материале. Выбранный полимерный материал должен удовлетворять фармакопейным требованиям к качеству пластмассы. Необходимо аттестовать поставщиков полимерного гранулята и контролировать качество их сырья.

Оборудование для формования-фасования-герметизации и окружающие его барьеры должны быть спроектированы таким образом, чтобы предотвратить возможность контаминации извне. Необходимо использовать валидированный цикл стерилизации паром на месте для стерилизации конвейера оборудования, по которому движется продукция. Кроме того, любая поверхность, которая может быть потенциальным источником загрязнения стерильной продукции должна быть стерильной.

При проектировании оборудования необходимо принимать меры, направленные на снижение загрязненности частицами. В противоположность к нефармацевтическому использованию машин для формования-фасования-герметизации контроль качества воздуха является критическим для производства стерильных лекарственных средств. Частицы, генерируемые во время экструзии пластмассы, ее разрезания и процессов запайки, способны быть потенциальными переносчиками микроорганизмов в открытые контейнеры до их запаивания.

Температурные датчики необходимо размещать в частях трубопроводов установки стерилизации в местах, подверженных блокировке (паровые дроссели и пластины входа), и где может накапливаться конденсат.

Дефекты в контейнерах и элементах укупорки могут быть главной проблемой в контроле операций по формованию-фасованию-герметизации. Необходимо, чтобы эти операции были спроектированы и настроены так, чтобы производить проверенные на герметичность упакованные единицы продукции. В качестве последней меры применимо исследование каждого наполненного контейнера в серии, при котором должен использоваться надежный и чувствительный метод обнаружения дефектных негерметичных упаковок.

Некоторые методики испытания на возможность утечки имеют существенные ограничения. К примеру, испытание с созданием избыточного давления вручную иногда имеет недостаточную чувствительность, если утечка по краям может быть не обнаружена при использовании метода погружения в раствор красителя, так как использование вакуума после автоклавирования не всегда позволяет обнаружить утечки по швам, особенно в основании контейнера. Следовательно, требуется тщательное изучение нормы отбраковки негерметичных упаковок. Если в ходе испытания по «имитации процесса» уровень утечек значительно выше, чем обычная норма выбраковки при производстве, это может указывать на более высокий уровень наблюдения при «имитации процесса».

6.4.20.10 Испытание на стерильность

Испытание на стерильность каждой серии асептически наполняемой продукции может предоставить полезную информацию по валидационному статусу асептического процесса. Представляет важным сравнить уровень контаминации для лекарственных средств, изготавливаемых в асептических условиях, определенный при испытании на стерильность, с уровнем стерильности для лекарственных средств, стерилизуемых в первичной упаковке. Если асептически изготавливаемые лекарственные средства имеют более высокий уровень микробиологического загрязнения, это может указывать на наличие проблем с обеспечением стерильности, не установленных во время валидации. Данная ситуация не является необычной, так как валидация не может учесть все возможные преобразования и комбинации оборудования, персонала и процессов. Типичным примером, когда испытание на стерильность может идентифицировать проблему, является случай с повреждением кольцевой прокладки в асептических сосудах для хранения.

6.4.21 Документация

6.4.21.1 Разработка плана

План валидации должен содержать подробное изложение общей стратегии, требований к проведению испытаний и критерии приемлемости для «наполнения средой». В целом, при испытании путем имитации процесса должны учитываться следующие факторы:

- факторы, связанные с самым продолжительным допускаемым прогоном в производственной линии;
- способность производить стерильные упаковки продукции, когда условия производственной среды создают большой риск контаминации продукции;
- число и тип нормальных вмешательств, нетипичных вмешательств, неожиданных событий (например, обслуживание оборудования), остановки, настройку оборудования или его перенос;
- лиофилизация, если применяется;
- асептическая сборка оборудования (например, перед началом, во время обработки);
- количество персонала и его деятельность;
- количество асептических операций;
- количество рабочих смен, перерывов и смен одежды (если применяется);
- число и тип асептических разборок/сборок оборудования;
- асептический отбор образцов;

- скорость и конфигурация линии;
- проверка ручного взвешивания;
- усталость оператора;
- компоненты первичных упаковочных материалов (например, размеры, тип, совместимость с оборудованием);
- учет выбора точек с экстремальной температурой и влажностью;
- специальное обеспечение стандартными операционными процедурами, связанными с асептическими процессами.

6.4.21.2 Составление отчета

Необходимо приготовить письменный отчет, документирующий имитирующие условия и активность персонала для каждого прогона по наполнению средой. Должна соблюдаться одинаковая предосторожность как при наполнении средой, так и при выполнении обычных производственных прогонов.

Необходимо подготовить в итоговой форме следующую информацию для целей инспекции и оценки соответствующими уполномоченными органами:

а) краткое изложение процедур для следующих действий, которые применяются в производстве и во время валидационных испытаний:

- 1) растворение (диспергирование) ингредиентов;
- 2) снабжение водой и ее качество;
- 3) очистка/дезинфекция/стерилизация (если требуется) всего оборудования, поверхностей;
- 4) стерилизация критического оборудования, сосудов и трубопроводов;
- 5) испытание целостности фильтров;
- 6) монтаж, запуск и регулировка оборудования;
- 7) одевание и переодевание персонала;

б) полный отчет о валидации процесса, включая:

- 1) дату и время наполнения средой;
- 2) идентификацию помещения, в котором проводятся испытания;
- 3) тип и размер контейнера и элементов укупорки;
- 4) скорость наполнения;
- 5) используемую среду;
- 6) длительность времени хранения среды в промежуточной емкости до фильтрации;
- 7) длительность времени, потребовавшегося для наполнения всех контейнеров;
- 8) заполняемый объем;
- 9) количество заполняемых емкостей;
- 10) количество отбракованных негерметичных контейнеров;
- 11) количество инкубированных контейнеров;
- 12) температура инкубации;
- 13) время инкубации;
- 14) используемые контрольные микроорганизмы;
- 15) результаты испытания на целостность фильтра(ов);
- 16) результаты мониторинга процесса производства;
- 17) краткая сводка по количеству и аттестации персонала, участвовавшего в испытаниях;
- 18) правила поведения персонала и записи, связанные с допустимыми вмешательствами оператора;
- 19) методики, используемые для имитации любых стадий нормального процесса наполнения;
- 20) установленные критерии.

Приложение А (справочное)

Различные подходы к разработке циклов стерилизации

А.1 Одним из наиболее важных аспектов процесса стерилизации влажным теплом (это в равной степени также применимо к другим видам стерилизации) является необходимость осознания того, что существует несколько подходов к разработке циклов стерилизации. Наличие различных подходов обусловлено разной устойчивостью к термической обработке стерилизуемых материалов. Метод многократного уничтожения (избыточной обработки) представляет собой самый простой метод с точки зрения его валидации, но при этом продукция получает большое количество избыточного тепла, что может повлиять на ее физико-химические свойства и стабильность. Противоположным подходом является использование минимально необходимой тепловой обработки продукции, исходя из данных по ее реальной бионагрузке. Для валидации такого процесса стерилизации требуется гораздо больше времени и усилий. Может также применяться комбинированный метод валидации с использованием бионагрузки/биологического индикатора, сочетающий преимущества двух главных подходов.

Таблица А.1 – Краткое изложение различных подходов к разработке и валидации циклов стерилизации [3]

	Метод избыточной обработки	Метод с использованием бионагрузки/биологического индикатора (БИ)	Метод с использованием бионагрузки
Основное использование	Термоустойчивые материалы, такие как: оборудование, части, компоненты	Термолабильные материалы, такие как: продукция, некоторые фильтры, пластмассовые компоненты и т.д.	Заключительная стерилизация продукции
Изучение стабильности	Не требуется, если не используется для стерилизации продукции	Необходимо при F_0 , большем, чем ожидается. Повторяется позже на производственных сериях	Необходимо при F_0 , большем, чем ожидается. Повторяется после начала производства промышленных серий
Характеристика бионагрузки	Скрининг термоустойчивых спор во время валидации. Мониторинг с невысокой частотой	Скрининг термоустойчивых спор/ необходимость программы текущего мониторинга	Требуется оценка бионагрузки для каждой серии
Определение величины D	Использовать величину D производителя биоиндикатора. При инокуляции стерилизуемых компонентов суспензией спор следует определять величину D спор на месте	Необходимо определять для используемых тестовых микроорганизмов	Необходимо определять для каждого используемого микроорганизма
Изучение по картированию	Идентификация трудно прогреваемых предметов	Идентифицировать «холодные пятна» в отдельных контейнерах – выполнить термокартирование	
Распределение температуры в пустой камере	Разница между минимальной и максимальной температурой в камере на протяжении всего времени выдержки – не более 2 °C		
Схема загрузки	Фиксированная схема загрузки не требуется. Предполагается использование максимальной и минимальной загрузок	Необходима фиксированная схема загрузки, использование максимальной и минимальной загрузок является обычным	
Распределение температуры в загруженной камере	Нет строгих требований. Основное внимание следует уделить прониканию тепла	Устанавливаются критерии как часть аттестации стерилизатора. Избыточная изменчивость должна быть причиной исследования	

Окончание таблицы А.1

	Метод избыточной обработки	Метод с использованием бионагрузки/биологического индикатора (БИ)	Метод с использованием бионагрузки
Проникание тепла в загруженной камере	Требования к изменениям температуры не существенны. Обычно устанавливаются требования к минимальной величине F_0	$\leq \pm 0,5$ °С в конце стадии выдержки Необходимо определение минимальной и максимальной величин F_0	
Микробиологические испытания в загруженной камере	Споровые полоски и изолированные контейнеры с биоиндикаторами должны быть инактивированы	Биоиндикаторы в продукции, ВДИ или в заменителе продукции. Ожидаемые результаты основываются на величинах D	Наиболее устойчивые изоляты из бионагрузки в продукции, ВДИ или в заменителе продукции. Ожидаемые результаты основываются на величинах D
Микробиологические тест-организмы	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. sporogenes</i> , <i>B. stearothermophilus</i>		Наиболее устойчивые изоляты из бионагрузки
Критерии приемлемости	Все БИ не должны демонстрировать роста, достигаемый рассчитываемый уровень гарантии стерильности для БИ – 10^{-6}	Достижимый рассчитываемый уровень гарантии стерильности для бионагрузки – 10^{-6} , некоторые тестовые микроорганизмы могут выжить если их величина D > величины D бионагрузки	Рассчитываемый уровень гарантии стерильности для бионагрузки – 10^{-6}
Стерилизация фильтра	Необходима. Измерения температуры и использование биоиндикаторов		
Оценка охлаждающей воды	Не применяется	Не более 1-10 КОЕ/100 мл	

Приложение Б (справочное)

Величины D, z и F [18], [19]

Б.1 На процесс термической стерилизации влияют три основных фактора: температура, время и устойчивость микроорганизмов. Для объединения этих важных переменных в систему, которая позволяет оценить способность к тепловому уничтожению микроорганизмов конкретного стерилизационного цикла, используются три уникальные величины:

- величина D. Время в минутах, необходимое для инактивации определенного штамма микроорганизмов при заданной температуре на 1 log.
- величина z. Изменение температуры в градусах, необходимое для изменения в 10 раз величины D.
- величина F. Эквивалентное время, необходимое для уничтожения специфицированного количества микроорганизмов с заданными характеристиками терморезистентности, при разной температуре обработки.

Б.2 Использование величин F, D и z позволяет сравнить эффективность различных стерилизационных циклов, используя достаточно простую математическую модель. Данная терминология широко используется как в фармацевтической, так и в пищевой промышленности, и признается регуляторными органами в качестве критериев для демонстрации эффективности процесса стерилизации.

Б.3 Понимание стерилизации как вероятностного процесса гибели микроорганизмов приводит к понятию вероятности выживания микроорганизмов в стерилизуемом объекте – или уровня гарантии стерильности. В настоящее время считается приемлемым уровень гарантии стерильности (вероятность контаминации) не более 10^{-6} . Это понятие тесно связано с концепцией валидации. Если известны уровень первоначальной контаминации и устойчивость организмов к условиям стерилизации, можно рассчитать вероятность их выживания при заданных условиях. Задача валидации заключается в тщательной оценке условий стерилизации и использовании известной биологической нагрузки для проверки того, что достигается необходимый уровень гарантии стерильности.

Б.4 Механизмы гибели микроорганизмов при воздействии стерилизующих агентов до сих пор до конца не известны. Однако существуют математические модели, достаточно точно описывающие процесс гибели в популяции однопородных организмов. Рассмотрение этого процесса, более конкретно – инактивации бактериальных спор насыщенным паром как мономолекулярной реакции определенного жизненно важного компонента клеток с водой, хорошо согласуется с кинетикой реакций первого порядка и законом действия масс. Таким образом, скорость реакции зависит от концентрации подвергающихся воздействию компонентов, в данном случае – спор. Математически это выражается как:

$$\frac{dN_t}{dt} = -kC_t$$

или

$$C_t = C_0 e^{-kt}, \quad (\text{Б.1})$$

где N_t – количество спор;

C_t – концентрация спор в данный момент времени;

C_0 – концентрация спор в начальный момент времени;

k – константа скорости реакции при данной температуре.

В логарифмической форме это уравнение приобретает вид:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_t}\right) = -k(t - t_0).$$

или, принимая во внимание, что $t_0 = 0$

$$\log\left(\frac{C_0}{C_t}\right) = -\frac{kt}{2,303} = \frac{t}{D_T}. \quad (\text{Б.2})$$

Б.5 График в полулогарифмической системе координат (логарифм концентрации – время) представляет собой прямую линию с угловым коэффициентом k , выражаемым в мин^{-1} (рисунок Б.1).

Б.6 Величина, обратно пропорциональная отрицательному значению константы скорости ($-1/k$), эквивалентна времени стерилизационной обработки при определенной заданной температуре, необходимому для снижения количества микроорганизмов на 90 % или в 10 раз ($1 \log$). Эта величина, как правило, обозначается D_T и выражается в минутах (формула (Б.2)). D_T является мерой относительной устойчивости организма к воздействию тепла при заданной постоянной температуре.

Б.7 На практике, однако, стерилизация протекает в определенном температурном диапазоне. Следовательно, стерилизующий эффект должен подвергаться интегрированию по всему диапазону и необходимо использовать модель, учитывающую изменения температуры. Распространенной мерой температурной зависимости реакций первого порядка является величина Q, определяемая как изменение

константы скорости реакции при изменении температуры на 10 °С:

$$Q = \frac{k_{T+10^{\circ}\text{C}}}{k_T} \quad (\text{Б.3}).$$

Б.8 Величина Q для большинства химических реакций близка к двум. Для инактивации спор она, как правило, гораздо выше: 8–12. График $\log k$ против $1/T$, как определено экспериментально, представляет собой прямую линию.

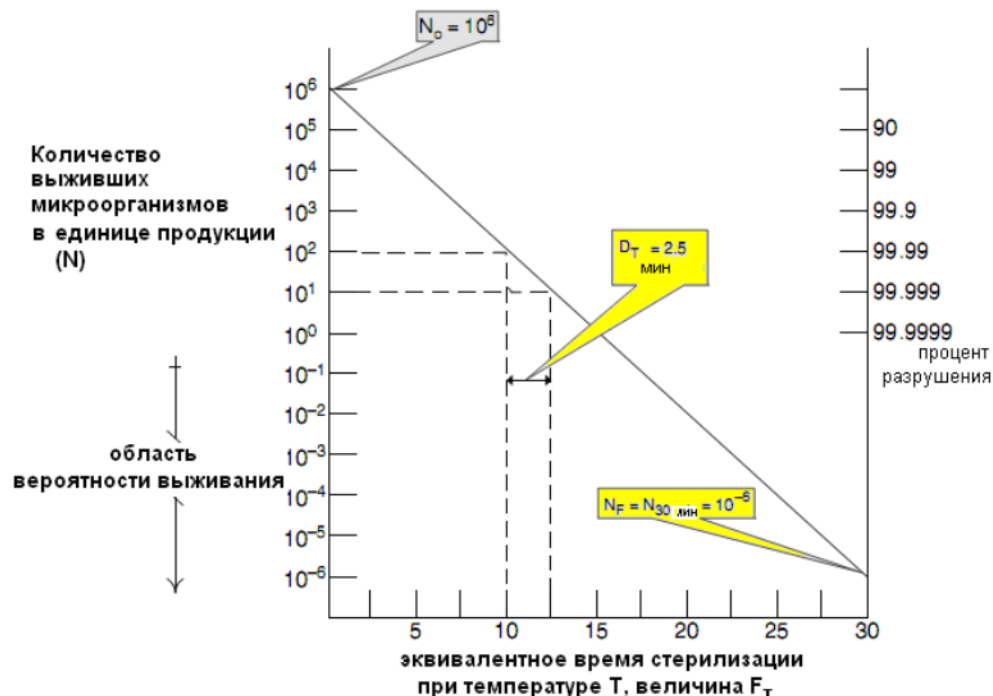


Рисунок Б.1 – График термической гибели микроорганизмов в зависимости от времени («кривая выживания»)

Б.9 Данная модель согласуется с эмпирическими данными, полученными при изучении зависимости величины D_T от температуры. Типичный график зависимости терморезистентности микроорганизмов от температуры стерилизующей среды приводится на рисунке Б.2. Отрицательный угол наклона кривой представляет собой величину z .

Б.10 Необходима осторожность при использовании величин D и z для прогнозирования тепловой гибели в зависимости от времени и температуры обработки. Прямолинейная зависимость, приведенная в вышеописанных моделях, справедлива для относительно узкого диапазона температур и только для гомогенной культуры одного вида микроорганизмов. Для смешанных популяций микроорганизмов с различной степенью устойчивости к теплу «кривая температурной резистентности» будет иметь более сложный вид. Тем не менее, используя хорошо изученную субпопуляцию тестовых микроорганизмов с известными величинами D и z , а также концентрацией, можно успешно контролировать эффективность процесса стерилизации.

Б.11 Полезность применения температурозависимой модели при термической стерилизации заключается в расчете летальности цикла с учетом всего температурного диапазона (включая время нагрева и охлаждения, а также температурных колебаний на стадии выдержки). Для этого используется величина F или время тепловой гибели, тесно связанная с величинами D и z . Величина F_0 определяется как время, в течение которого достигается такой же стерилизационный эффект, как при референсной температуре – 121 °С. Величина F_0 является общепринятой мерой летального воздействия на микроорганизмы во время процесса стерилизации влажным теплом.

Примечание – Данная температура принята в качестве «эталонной» по практическим причинам. Было показано, что поддержание температуры 250 °F (121,11 °С) является достаточно эффективной и одновременно не слишком затратной мерой при выполнении стерилизации насыщенным паром под давлением. Часто встречаются другие обозначения величины F_0 : F_{121} , F_{121}^{10} .

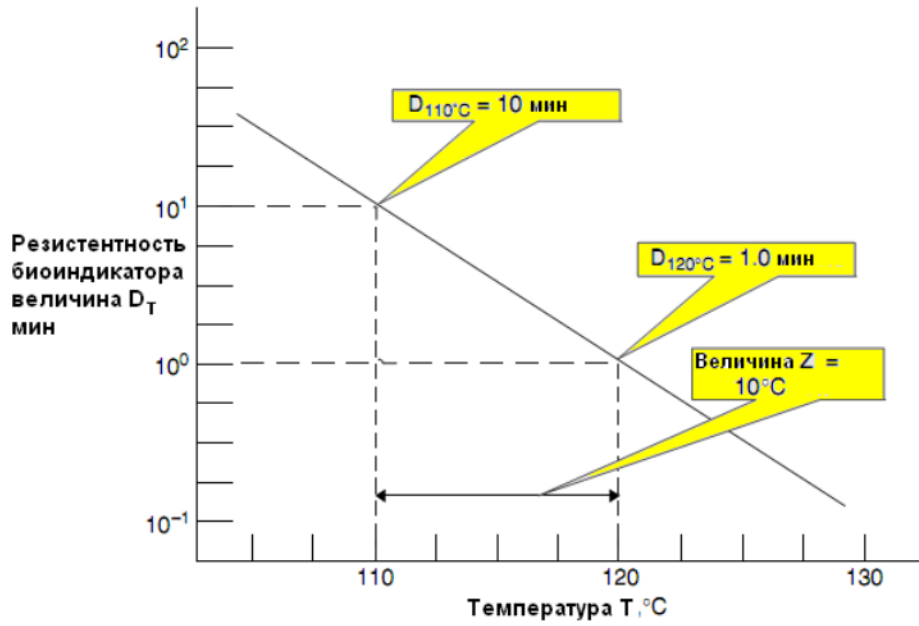


Рисунок Б.2 – График зависимости величины D от температуры («кривая температурной резистентности»)

Б.12 Температурная зависимость как D от T, так и F от T определяется величиной z:

$$\frac{D_T}{D_{121^\circ\text{C}}} = \frac{F_t}{F_{121^\circ\text{C}}} = 10^{(T-121,1)/z}, \quad (\text{Б.4})$$

где T – измеряемая температура.

Б.13 Наиболее широко используемое значение z для разрушения спор влажным теплом составляет 10. Это значение основывается на практических результатах, полученных для таких терморезистентных микроорганизмов, как *Geobacillus stearothermophilus* и *Clostridium botulinum*.

Б.14 Суммируя факторы летальности, рассчитанные для небольших отрезков времени, то есть, интегрируя уравнение (Б.4), получим:

$$F_0 = \int 10^{(T-121,1)/z} dt$$

или приближенно

$$F_0 = \sum 10^{(T-121,1)/z} \Delta t, \quad (\text{Б.5})$$

где Δt – выбранный интервал времени;

T – средняя температура в течение выбранного интервала.

Чем менее продолжительные интервалы времени, тем точнее рассчитанная суммарная величина F будет отражать поглощенную тепловую энергию.

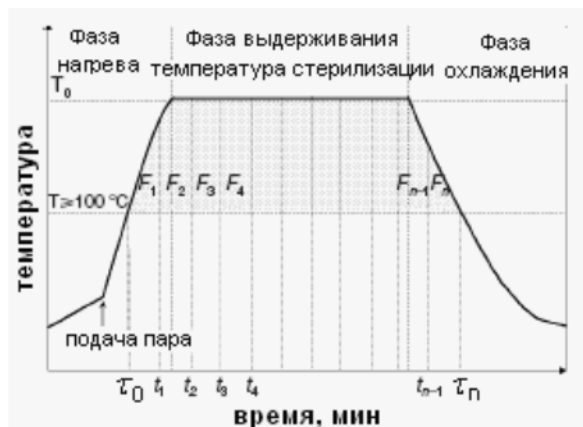


Рисунок Б.3 – Графическое представление расчета интегрального значения величины F

Б.15 Для оценки эффективности процессов стерилизации сухим жаром используется величина F_H с референсной температурой 170 °С или 250 °С. Средняя величина z для наиболее устойчивых к сухожаровой стерилизации спор составляет 20 °С. Соответственно формула (Б.5) приобретает вид:

$$F_H = \sum 10^{(T-170)/20} \Delta t$$

или

$$F_H = \sum 10^{(T-250)/20} \Delta t$$

Б.16 Использование величины F позволяет измерить сравнительную эффективность любых циклов термической стерилизации, определить вероятность выживания микроорганизмов и достижение необходимого уровня гарантии стерильности. С практической точки зрения следует учитывать временные интервалы с температурой выше 100 °С.

Приложение В
(рекомендуемое)

Определение уровня контаминации для данного количества наполненных питательной средой контейнеров [17]

Примечание – Приведенная информация является ознакомительной и представляет собой инструкцию, которая не носит обязательного характера.

В.1 Если число наполненных контейнеров N относительно велико и вероятность контаминации P любого конкретного контейнера весьма мала, то число контаминированных единиц расфасованной продукции может быть распределено по закону Пуассона. Контрольное число контейнеров, в котором с вероятностью 95 % будет находиться хотя бы одна нестерильная единица x , следуя закону Пуассона, приближенно можно вычислить следующим образом:

$$P(x > 0) = 1 - e^{-NP} > 0,95. \quad (\text{В.1})$$

В.2 Это дает $N = 2996$ при $P = 0,001$ (т. е. 0,1 %), с другой стороны может быть использована более точная формула биномиального распределения:

$$P(x > 0) = 1 - (1 - X)^N, \quad (\text{В.2})$$

где X – доля нестерильных единиц.

Это дает $N = 2995$ при $P = 0,95$.

В.3 При наблюдаемом числе нестерильных контейнеров с вероятностью 95 % можно утверждать, что истинное число нестерильных единиц продукции будет равно или менее верхнего 95 % доверительного предела. Следовательно, верхний доверительный предел должен использоваться для расчета «наихудшего случая» применительно к риску контаминация с помощью наблюдаемого числа нестерильных контейнеров.

Используя таблицу В.1, можно рассчитать риск контаминации для данного количества наполненных контейнеров.

Таблица В.1 – 95 % верхний доверительный предел для распределения Пуассона

Количество выявленных нестерильных контейнеров при наполнении средой	95 % верхний доверительный предел
0	2,9957
1	4,7439
2	6,2958
3	7,7537
4	9,1537
5	10,5130
6	11,8424
7	13,1481
8	14,4346
9	15,7052
10	16,9622
11	18,2075

Пример – Если из 3000 наполненных контейнеров один оказался нестерильным, то верхний 95 % доверительный предел риска контаминации будет не более чем $4,74/3000 \times 100 \% = 0,15 \%$. Это не может считаться приемлемым.

Если из 10000 наполненных контейнеров три оказались нестерильными, то верхний доверительный предел риска контаминации будет не более чем $7,75/10000 \times 100 \% = 0,0775 \%$.

В.4 В таблице В.2 содержатся результаты применения приведенных расчетов для различного количества контейнеров, наполненных средой, и различного (увеличивающегося) количества нестерильных контейнеров. Для этого примера предел предупреждения принят равным 0,05 % (доля контаминированных единиц продукции). Предел, требующий принятия мер, равен 0,10 %. Предложенный предел предупреждения располагается внутри области, ограниченной жирными линиями таблицы. Предел, требующий принятия мер, расположен выше и справа от жирной линии.

Например, если из 4750 наполненных контейнеров обнаружена одна контаминированная единица, то риск контаминации равен 0,0998 %. Два контаминированных контейнера из того же количества наполненных единиц дают риск контаминации 0,1325 % и поэтому превышают предел, требующий принятия мер.

Таблица В.2 — Риск загрязнения при 95 %-ном доверительном интервале для возрастающего числа контаминированных контейнеров в одном прогоне наполнения средой (в процентах)

Число контейнеров, наполняемых средой	Риск загрязнения для числа контаминированных контейнеров											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
3000	0,0998	0,1581	0,2098	0,2584	0,3051	0,3504	0,3947	0,4382	0,4811	0,5235	0,5654	0,6069
4750	0,0630	0,0998	0,1325	0,1632	0,1927	0,2213	0,2493	0,2768	0,3038	0,3306	0,3571	0,3833
6300	0,0475	0,0753	0,0999	0,1230	0,1452	0,1668	0,1879	0,2087	0,2291	0,2492	0,2692	0,2890
7760	0,0386	0,0611	0,0811	0,0999	0,1179	0,1354	0,1526	0,1694	0,1860	0,2023	0,2185	0,2346
9160	0,0327	0,0517	0,06873	0,0846	0,0999	0,1147	0,1292	0,1435	0,1575	0,1714	0,1851	0,1987
10520	0,0284	0,0450	0,0598	0,0737	0,0870	0,0999	0,1125	0,1249	0,1372	0,1492	0,1612	0,1730
11850	0,0252	0,0400	0,0531	0,0654	0,0772	0,0887	0,0999	0,1109	0,1218	0,1325	0,1431	0,1536
13150	0,0227	0,0360	0,0478	0,0589	0,0696	0,0799	0,09006	0,0999	0,1097	0,1194	0,1289	0,1384
14440	0,0207	0,0328	0,0436	0,0537	0,0633	0,0728	0,0820	0,0910	0,0999	0,1087	0,1174	0,1260
15710	0,0190	0,0302	0,0400	0,0493	0,0582	0,0669	0,0753	0,0836	0,0918	0,0999	0,1079	0,1159
16970	0,0176	0,0279	0,0371	0,0456	0,0539	0,0619	0,0697	0,0774	0,0850	0,0925	0,0999	0,1072
	10,05%					10,10%						

Примечание – Предел предупреждения – риск загрязнения > 0,05 %, предел, требующий принятия мер, — риск загрязнения > 0,1 %.

Риск загрязнения (%) вычисляется по уравнению

100 % = 100 (млн),

где m – 95 %-й верхний доверительный предел (таблица В.1),

n – число наполненных контейнеров

Библиография

- [1] CPMP/QWP/054/98 – Decision trees for the selection of sterilization methods – Annex to note for guidance on development pharmaceuticals, CPMP/QWP/155/96, Corr., April 2000
(CPMP/QWP/054/98 Дерево решений для выбора метода стерилизации. Приложение к замечаниям к руководству по разработке лекарственных средств, CPMP/QWP/155/96, исправл. версия, Апрель, 2000)
- [2] Государственная Фармакопея РБ, т.1, 5.1 Общие тексты по стерилизации
- [3] PDA Technical Report 1, Revised 2007, (TR 1) Validation of Moist Heat Sterilization Processes Cycle Design, Development, Qualification and Ongoing Control
(Технический отчет PDA №1, изм. 2007 (TR1) Валидация процессов стерилизации влажным теплом. Разработка цикла, аттестация и постоянный контроль)
- [4] EN 285:2006+A2:2009 Sterilization. Steam sterilizers. Large sterilizers
(EN 285:2006+A2:2009 Стерилизация. Паровые стерилизаторы. Большие стерилизаторы)
- [5] Health Technical Memorandum 2010 (HTM 2010) Sterilization, Part 3 (Including Amendment 1): Validation and verification, UK National Health Service, 1994.
(Технический меморандум министерства здравоохранения 2010 (HTM 2010) Стерилизация, часть 3 (включая приложение 1): Валидация и верификация, Министерство здравоохранения Великобритании, 1994)
- [6] L.B. Case, G.D. Hefernan – 15. Dry Heat Sterilization and Depyrogenation Validation and Monitoring – in «Validation of pharmaceutical processes», Third Edition, edited by James Agalloco and Frederick J. Carleton, Informa Healthcare, 2008
(Л.Б. Кейз, Г.Д. Хефернан 15. Валидация и мониторинг стерилизации сухим жаром и депирогенизации – в сб. «Валидация фармацевтических процессов», под ред. Дж. Агалоко и Ф. Карлтона, изд.3, Информа Здравоохранение, 2008)
- [7] PDA Technical Report 3, (TR 3) Validation of Dry Heat Processes Used for Sterilization and Depyrogenation, 1981
(Технический отчет PDA № 3, Валидация сухожаровых процессов, используемых для стерилизации и депирогенизации, 1981)
- [8] PDA Technical Report 26, (TR 26) Revised 2008, Sterilizing Filtration of Liquids
(Технический отчет PDA № 26, изм. 2008 (TR1) Стерилизующая фильтрация жидкостей)
- [9] Guidance for Industry. Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice (FDA, CDER, CBER, CVM), September 2004
(Руководство для промышленного производства. Стерильные лекарственные средства, производимые в асептических условиях. Современная надлежащая производственная практика (FDA, CDER, CBER, CVM), Сентябрь 2004)
- [10] EN 1040:2005 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics – Test method and requirements (phase 1)
(EN 1040:2005 Химические дезинфицирующие и антисептические средства. Количественный суспензионный тест для оценки основной бактерицидной активности химических дезинфицирующих и антисептических средств. Метод испытаний и требования (фаза 1))
- [11] EN 13624:2003 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area – Test method and requirements (phase 2, step 1)
(EN 13624:2003 Химические дезинфицирующие и антисептические средства. Количественный суспензионный тест для оценки фунгицидного действия химических дезинфицирующих средств на медицинские инструменты. Метод испытаний и требования (фаза 2, стадия 1))

- [12] EN 13727:2003 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area – Test method and requirements (phase 2, step 1)
(EN 13727:2003 Химические дезинфицирующие и антисептические средства. Количественный суспензионный тест для оценки бактерицидального действия химических дезинфицирующих средств на медицинские инструменты. Метод испытаний и требования (фаза 2, стадия 1))
- [13] EN 14561:2006 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative carrier test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in the medical area – Test method and requirements (phase 2, step 2)
(EN 14561:2006 Химические дезинфицирующие и антисептические средства. Количественный тест с использованием носителей для оценки бактерицидального действия на медицинские инструменты. Метод испытаний и требования (фаза 2, стадия 2))
- [14] EN 14562:2006 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative carrier test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity for instruments used in the medical area – Test method and requirements (phase 2, step 2)
(EN 14562:2006 Химические дезинфицирующие и антисептические средства. Количественный тест с использованием носителей для оценки фунгицидального или противодрожжевого действия на медицинские инструменты. Метод испытаний и требования (фаза 2, стадия 2))
- [15] PDA Technical Report 22, (TR 22) Process Simulation Testing for Aseptically Filled Products, 1996
(Технический отчет PDA №22, (TR 22) Испытание путем имитации процесса для продукции, наполняемой в асептических условиях, 1996)
- [16] PI 007-1 Recommendation on the Validation of Aseptic Processes – PIC/S Secretariat, July 2001
(PI 007-1 Рекомендации по валидации асептических процессов. Секретариат PIC/S, июль 2001)
- [17] ISO 13408-1:2008 Aseptic processing of health care products – Part 1: General requirements
(ISO 13408-1:2008 Асептическое производство продукции медицинского назначения. Часть 1. Общие требования)
- [18] J. Shirtz – 11. F, D and z values – in «Validation of pharmaceutical processes», Third Edition, edited by James Agalloco and Frederick J. Carleton, Informa Healthcare, 2008
(Дж. Ширтц – 11. Величины F, D и z, в сб. «Валидация фармацевтических процессов», под ред. Дж. Агалоко и Ф. Карлтона, изд.3, Информа Здравоохранение, 2008)
- [19] Phil DeSantis – 12. Steam Sterilization in Autoclaves – in «Validation of pharmaceutical processes», Third Edition, edited by James Agalloco and Frederick J. Carleton, Informa Healthcare, 2008
(Дж. Ширтц 12. Паровая стерилизация в автоклавах, в сб. «Валидация фармацевтических процессов», под ред. Дж. Агалоко и Ф. Карлтона, изд.3, Информа Здравоохранение, 2008)