

VYR-34-Procesy sterilizace teplem

Tento pokyn nahrazuje pokyn VYR-12 s platností od 1.8.2005.

Cílem tohoto revidovaného pokynu je seznámit výrobce léčiv s interpretací současných požadavků SVP na tepelné sterilizace. Tyto požadavky jsou definovány v Českém lékopisu 2002 a jeho Doplňcích, zejména v odstavcích 5.1.1. Metody přípravy sterilních výrobků, 5.1.2. Biologické indikátory pro sterilizaci. Dále jsou tyto požadavky zmíněny v Pokynech pro správnou výrobní praxi VYR-32, včetně Doplňku 1 Výroba sterilních léčivých přípravků. Revidovaný dokument přináší zpřesnění některých údajů v původním pokynu VYR-12 a rozšiřuje jej o metrologické aspekty ve vztahu ke kvalifikacím a validacím sterilizačních zařízení. Vzhledem k rozsáhlosti problematiky sterilizačních postupů a techniky je původní pokyn VYR-12 předkládán v revidované formě jako VYR-34 a zahrnuje pouze sterilizace teplem. Ostatní metody sterilizace, včetně kapitoly o odhadu mikrobiální zátěže na sterilizovaném předmětu, byly přesunuty do samostatného pokynu VYR-33, který byl zveřejněn v lednovém čísle Věstníku SÚKL 2005.

Obsahu pokynu:

1. Požadavky uvedené v Pokynech pro správnou výrobní praxi VYR–32 v Doplňku 1 Výroba sterilních léčivých přípravků
 - 1.1 Obecné požadavky na sterilizační procesy
2. Požadavky na tepelné sterilizace
 - 2.1 Požadavky na sterilizaci parou
 - 2.1.1 Měření a testy pro sterilizaci parou
 - 2.1.2 Kritéria přijatelnosti
 - 2.1.3 Monitorování a revalidace
 - 2.1.4 Zkoušky zaměřené na porézní materiály, kovové a pryžové předměty
 - 2.2 Požadavky na sterilizaci a depyrogenizaci suchým teplem
 - 2.2.1 Měření a testy pro sterilizaci suchým teplem a depyrogenaci
 - 2.2.2 Kritéria přijatelnosti
3. Pravidelná preventivní údržba
4. Definice

1. Požadavky uvedené v Pokynech pro správnou výrobní praxi VYR–32 v Doplňku 1 Výroba sterilních léčivých přípravků

V následujícím textu jsou uvedeny komentované požadavky SVP výše uvedených pokynů pro tepelné sterilizace a podrobné podmínky pro provádění validací těchto postupů. Číselné značení odpovídá značení použitému v Doplňku 1 Výroba sterilních léčivých přípravků.

1.1 Obecné požadavky na sterilizační procesy

55. *Každý sterilizační proces má být validován. Zvláštní pozornost se má věnovat případům, kde zvolený sterilizační cyklus neodpovídá platnému Evropskému lékopisu, nebo když se sterilizuje přípravek, který není prostým vodným nebo olejovým roztokem. Tepelná sterilizace se volí všude tam, kde je možná a proveditelná. Používaný sterilizační proces musí být v každém případě v souladu s tím, co je uvedeno v registrační dokumentaci pro jednotlivé přípravky.*
56. *Dříve než se určitý sterilizační postup zavede do praktického používání, má být prokázáno, že je pro daný přípravek vhodný, a jeho účinnost spolehlivě prokazuje dosažení sterilizačních podmínek ve všech částech každého typu náplně, která bude sterilizována. Takové ověření se má opakovat ve stanovených odstupech, nejméně jednou ročně, a také ve všech případech, kdy došlo k významnějším změnám na používaném zařízení. O výsledcích se mají uchovávat záznamy.*

Ve výše uvedených bodech jsou vyjádřeny požadavky na provádění validací, pravidelných revalidací a revalidací po všech významných změnách, a to u všech sterilizačních postupů. Validace musí být provedena pro všechny druhy standardních náplní (fluidních i porézních), které jsou podrobovány sterilizaci v regulérních procesech.

57. *Aby sterilizace byla účinná, požadovaným podmínkám sterilizačního působení musí být podroben rovnoměrně veškerý sterilizovaný materiál, a sterilizační cyklus musí být navržen tak, aby tento cíl byl splněn.*
58. *Pro všechny sterilizační postupy mají být stanoveny definované náplně, které jsou následně validovány.*

Standardnost a spolehlivost sterilizačního procesu musí být v rámci validace ověřena provedením studií distribuce teploty a prostupu tepla do používaných standardních definovaných sterilizačních náplní, při splnění požadavků

definovaných pro parametry sterilizačního procesu ve všech místech sterilizační nálože a dodržení podmínek zajišťujících stabilitu sterilizované náplně po celou dobu její použitelnosti.

59. *Biologické indikátory mají být považovány pouze za doplňkový způsob ověřování průběhu sterilizace. Mají být skladovány a používány v souladu s instrukcemi výrobce a jejich jakost má být ověřována pozitivními kontrolami. Jsou-li používány, musí být dodržována přísná opatření, aby se zabránilo přenosu mikrobiální kontaminace z těchto indikátorů do okolí.*

Ověřování sterilizačního postupu pomocí biologických indikátorů není považováno za dostatečný průkaz spolehlivosti sterilizačního procesu. V rámci validace se používá bioindikátorů jako doplňkového testu k prokázání, že dochází minimálně k redukci specifického mikroorganismu na úrovni definované výrobcem bioindikátoru.

60. *Má existovat zřetelný způsob, jak rozpoznat vysterilizované produkty od produktů, jež dosud vysterilizované nebyly. Každý koš, podnos nebo jiná pomůcka k přenášení nebo převážení produktů nebo jejich složek mají být viditelně označeny názvem produktu, jeho číslem šarže a údajem, zda materiál již byl sterilizován nebo ne. Indikátory, jako jsou indikátorové proužky do autoklávů, mohou být použity, kde je to vhodné, k indikaci, zda šarže či subšarže prošly sterilizačním cyklem. Tyto proužky však neposkytují spolehlivý důkaz toho, zda dávka je skutečně sterilní.*

61. *Pro každý sterilizační cyklus musí být k dispozici záznamy o sterilizaci. Tyto záznamy mají být schváleny v rámci procesu propouštění šarže.*

Cílem validace je demonstrovat, že proces sterilizace reprodukovatelně (tj. minimálně ve třech po sobě následujících cyklech) zabezpečuje dostatečnou hladinu sterilizační jistoty, definovanou v Českém lékopisu v kapitole 5.1. Validace musí být provedena takovým způsobem, který jednoznačně prokáže splnění kritérií přijatelnosti a umožní stanovení podmínek pro standardní proces včetně jeho monitorování.

Úplná validace v rozsahu instalační kvalifikace (IQ), operační kvalifikace (OQ) a procesní kvalifikace (PQ) musí být provedena pro každé nové zařízení. Definovaný rozsah validací musí být určen i pro již provozovaná zařízení a musí být definován rozsah validací pro všechny změny, které by mohly ovlivnit proces sterilizace, a u každé nepředvídané změny vždy tuto změnu posoudit z hlediska nezbytnosti provedení revalidace. Procesy sterilizace každé náplně a sterilizační cyklus musí být neustále monitorovány. Pokud nedochází ke změnám a výsledky monitorování vykazují standardnost sterilizačních procesů, provádí se revalidace v rozsahu procesní kvalifikace (PQ) minimálně jednou ročně.

2. Požadavky na tepelné sterilizace

62. *Průběh závislosti teploty na čase u každého tepelného sterilizačního cyklu má být zaznamenán zapisovačem na registračním papíru v dostatečně přehledném měřítku nebo musí být registrován jiným vhodným zařízením s dostatečnou přesností a správností. Umístění teplotních čidel používaných pro kontrolu nebo zaznamenávání průběhu sterilizačního cyklu má být určeno v rámci validace, a kde je to možné, zkontrolováno vůči druhému nezávislému čidlu teploty, umístěnému ve stejném místě.*

Z požadavků Doplňku 1 Výroba sterilních léčivých přípravků jednoznačně vyplývá, že každý tepelný sterilizátor musí být vybaven záznamovým zařízením, které umožňuje sledování teplotního průběhu sterilizace tak, aby byla možná fyzikální kontrola procesu. Požadované fyzikální parametry by měly být sledovány v nejchladnějším místě, které lze určit pouze na základě znalosti distribuce teploty v komoře a znalosti prostupu tepla náplní při sterilizaci, a to během validace sterilizačního procesu. Umístění teplotních čidel používaných pro kontrolu nebo zaznamenávání průběhu sterilizačního cyklu má být určeno rovněž v rámci validace, a kde je to možné, zkontrolováno vůči druhému nezávislému čidlu, umístěnému ve stejném místě.

Sterilizační účinnost může být hodnocena na základě teploty a času nebo na základě výpočtu „F“ hodnot (podrobnější vysvětlení je uvedeno v ČL 2002):

$$F = \sum_i 10^{(T_i - T_{std})/Z} \cdot \Delta t_i$$

T_i	~	okamžitá hodnota teploty
T_{std}	~	standardní teplota pro daný typ sterilizace
Δt_i	~	časový interval
Z	~	změna teploty, která způsobí změnu hodnoty D o 1 řád
D	~	čas potřebný za dané teploty k redukci mikroorganismů o 90 %

a)	sterilizace sytou parou:	$F_o = \sum_i 10^{(T_i - 121)/10} \cdot \Delta t_i$
b)	sterilizace suchým teplem:	$F_H = \sum_i 10^{(T_i - 160)/20} \cdot \Delta t_i$

$$c) \text{ depyrogenizace suchým teplem: } F_D = \sum_i 10^{(T_i - 250)/46,4} \cdot \Delta t_i$$

63. *Chemické a biologické indikátory mohou být také používány, ale nemají nahrazovat fyzikální měření.*
 64. *Musí být umožněna dostatečně dlouhá doba potřebná k tomu, aby požadované teploty bylo dosaženo v celé náplni předtím, než se začne měřit vlastní doba sterilizace. Tato doba musí být stanovena pro každý druh náplně, s jejíž sterilizací se počítá.*

Celý sterilizační cyklus se dělí na vyhřívací fázi, dobu sterilizace a chladicí fázi. Doba sterilizace začíná, když nejstudenější místo náplně dosáhne požadované sterilizační teploty (platí pro cyklus, který je kontrolován a řízen pouze na základě teploty a času). Tento požadavek musí být ověřen v rámci validace studiem prostupu tepla do každé náplně. Celý časový průběh sterilizačního procesu musí být neustále kontrolován (monitorován).

65. *Po proběhnutí vysokoteplotní fáze sterilizačního cyklu je třeba zajistit, aby se vysterilizovaná náplň během chlazení nekontaminovala. Jakákoliv kapalina nebo plyn použité ke chlazení musí být sterilizovány, pokud nemůže být prokázáno, že žádný netěsný obal nebude propuštěn k použití.*

V případě sterilizace léčivých přípravků má být prokázána těsnost balení (pro zatavované obaly 100% kontrola těsnosti, pro uzavírané přípravky zátěžový test v rámci validace a kontrola fyzikálních parametrů uzavírání). Pro chlazení fluidní náplně sterilizovaných materiálů mají být všechny pomocné systémy (voda, vzduch, apod.), které slouží k ochlazení vysterilizované náplně, sterilní. V praxi se používá voda na injekce, případně zadržený kondenzát ze sterilizačního cyklu nebo vzduch odpovídající požadavkům na aseptickou činnost (počet částic a mikroorganismů odpovídající třídě čistoty „A“).

Pro chlazení porézní náplně sterilizovaných materiálů musí být prokázána těsnost obalů po sterilizaci (obvykle zátěžový test v rámci validace a kontrola fyzikálních parametrů uzavírání).

2.1 Požadavky na sterilizaci parou

66. *Ke kontrole procesu je třeba sledovat jak teplotu, tak tlak. Řídicí jednotka má za normálních okolností pracovat nezávisle na zařízení sledujícím a zaznamenávajícím průběh fyzikálních veličin během sterilizačního cyklu. Kde je používán automatický řídicí systém, má se validovat, aby bylo zajištěno, že je dosahováno kritických procesních požadavků. Chyby systému a cyklu mají být zaznamenávány systémem a sledovány operátorem. Hodnoty zaznamenávané nezávislým teplotním čidlem během sterilizačního cyklu mají být pravidelně během sterilizačního cyklu porovnávány s hodnotou vykazovanou na registračním zapisovači. U sterilizátorů vybavených odpadem kondenzátu ve dně komory může být také nezbytné zaznamenávat teplotu i v tomto místě. Pokud je součástí sterilizačního cyklu také evakuace komory, má se provádět četné ověřování těsnosti komory.*
 67. *Předměty určené ke sterilizaci (jiné než konečné výrobky ve vzduchotěsně uzavřených obalech) mají být zabaleny do materiálu, který umožňuje odstranění vzduchu a prostup páry, ale zabraňuje následné kontaminaci po sterilizaci. Všechny části náplně mají být v kontaktu se sterilizačním médiem při požadované teplotě po požadovanou dobu.*

Protože podstatou sterilizace parou je působení syté páry na mikroorganismy při teplotě okolo 121 °C, je nutné během validace ověřit, že sterilizovaná náplň je v přímém kontaktu s touto parou, tj. prokázat prostup (penetraci) dostatečného tepla za podmínek zajišťujících sterilizační účinek.

68. *Je třeba zajistit, aby pára používaná ke sterilizaci měla potřebnou kvalitu a neobsahovala žádné příměsi v množství, jež by mohly způsobit kontaminaci produktu nebo zařízení.*

Pokud je pára v přímém kontaktu se sterilizovaným materiálem, je nezbytné, aby byla vyrobena z vody takové kvality, která zabezpečí splnění parametrů pro čistou páru.

2.1.1 Měření a testy pro sterilizaci parou

2.1.1.1 Kalibrace

- Provedení kalibrace měřicích sond před a po provedení validačního měření
- Kontrola kalibrace interních sond měřících teplotu a tlak

2.1.1.2 Instalační kvalifikace (IQ)

Instalační kvalifikace prokazuje a dokladuje, že zařízení a podpůrné systémy jsou vhodně vybrány, správně instalovány a jsou ve shodě s požadovanými specifikacemi. Součástí instalační kvalifikace sterilizátoru by měla být minimálně kontrola následujících náležitostí:

- popis sterilizátoru,
- kontrola úplnosti dokumentace,
- schémata popisující návaznosti mezi jednotlivými subsystémy a sterilizátorem,

- seznam funkčních specifikací, inženýrské výkresy (schémata, půdorysy, potrubí apod.),
- popis podpůrných systémů, napojení na podpůrné systémy (voda, pára, elektro, vzduch apod.),
- vytipování kritických instrumentů,
- kontrola instalace sterilizátoru na místě (všechna nutná ověření, že instalace dosahuje navrženého záměru),
- seznam náhradních dílů nebo odkaz na něj,
- návrh SOP pro preventivní údržbu,
- návrh SOP pro čištění nebo sanitaci zařízení, systému, prostředí.

Instalační kvalifikace musí být doložena validačním protokolem a schválenou validační zprávou, ve které je instalace vyhodnocena a navržen další postup validačních kroků.

2.1.1.3 Operační kvalifikace (OQ)

Operační kvalifikace prokazuje a dokladuje, že sterilizátor může opakovaně a spolehlivě provádět navržené funkce v rozsahu operačních parametrů. V rámci operační kvalifikace musí být:

- vypracováno SOP pro sterilizační postupy,
- prokázána spolehlivá funkce sterilizátoru v průběhu sterilizačních postupů,
- provedeny následující testy:
 - testy těsnosti komory,
 - distribuce teploty v prázdné komoře,
 - distribuce teploty v potrubním systému včetně filtrů (na přívodu páry do autoklávu),
 - testy integrity filtrů,
 - testy kritických alarmů řídicího systému,
 - odstranění nekondenzujících plynů (např. vzduchu),
 - suchost páry, přehřátí páry,
pozn.: testy na odstranění nekondenzujících plynů, suchost a přehřátost páry nejsou nezbytné v případě sterilizace hermeticky uzavřených jednotek.

Operační kvalifikace musí být doložena validačním protokolem a schválenou validační zprávou, ve které je operační kvalifikace vyhodnocena a navržen další postup validačních kroků.

2.1.1.4 Procesní kvalifikace (PQ)

Procesní kvalifikace má prokázat odpovídající účinnost používaných sterilizačních cyklů pro konkrétní náplň. Konkrétní náplň je definována typem materiálu, množstvím a geometrií uložení. V rámci procesní kvalifikace musí být provedeny následující testy:

- distribuce teploty v komoře s náplní,
- prostup tepla do náplně.

Uvedené fyzikální testy je třeba doplnit testy s bioindikátory. Způsob jejich použití a druh závisí na sterilizačním přístupu (metodě prokazování sterilizačního účinku: sterilizace nadměrným usmrcením, sterilizace s biologickou zátěží, sterilizace s biologickou zátěží/bioindikátorem). Procesní kvalifikace musí být doložena validačním protokolem a schválenou validační zprávou, ve které je procesní kvalifikace vyhodnocena a navržen další postup validačních kroků.

2.1.2 Kritéria přijatelnosti

2.1.2.1 Kalibrace

- Teplotní sondy - externí před měřením
 - správnost $\pm 0,3$ °C (maximální odchylka od standardu teploty po zavedení korekčních faktorů) ve dvou bodech, z nichž jeden je v blízkosti teploty sterilizace (méně než 15 °C)
 - stabilita $\pm 0,2$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)
 - linearita $\pm 0,3$ °C při třetí střední teplotě (maximální odchylka od standardu teploty ve třetí střední kalibrační teplotě) pro extrémně nelineární typy čidel (např. termistory, některé termočlánky apod.)

Poznámka: Kalibrační rozsah je vhodné zvolit tak, aby v něm ležely pokud možno všechny validované sterilizační teploty.

- Teplotní sondy - externí po ukončení měření ve dvou bodech stejných jako při kalibraci před měřením, u nelineárních typů čidel též ve stejné třetí střední teplotě
 - správnost $\pm 0,3$ °C (maximální odchylka v těchto bodech od standardu teploty s použitím korekčních faktorů identických jako před měřením)
 - stabilita $\pm 0,2$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)

Při post-kalibračních měřeních (kalibračních ověřeních) se připouští 20 % nevyhovujících sond, pokud se nejedná o sondy umístěné v kritických místech. O přijatelnosti výsledku kalibrace musí rozhodnout validační tým.

- Tlakové sondy - externí

Kalibrace se provádí minimálně jednou ročně standardní metodikou nebo před měřením minimálně s těmito kritérii přijatelnosti:

- správnost a linearita ± 2 kPa (maximální odchylka od standardu po zavedení korekčních faktorů) měřená minimálně při třech hodnotách tlaků.

- Interní sondy a měřidla musí být zaříděny do metrologického řádu firmy a pravidelně kalibrovány dle požadavků uvedených ve specifikaci. Je třeba zajistit stopovatelnost jednotlivých sond a vydaných kalibračních listů.

Bližší údaje o vlastnostech ukazovacích a záznamových teploměrů a tlakoměrů uvádí např. norma ČSN EN 285.

Pokud řídicí a kontrolní teplotní sondy nesplňují kritéria přijatelnosti daná specifikacemi, je nutné zavést korekce pro výpočty F hodnot, sterilizační teploty nebo validací prokázat, že sterilizace je dostatečně účinná a pod kontrolou i při nižší správnosti interní sondy (tento postup není vhodný při sterilizačních přístupech: sterilizace s biologickou zátěží a sterilizace s biologickou zátěží/bioindikátorem).

2.1.2.2 Instalační kvalifikace (IQ)

- Instalace zařízení, potrubí, médií a měřicích zařízení mají být zkontrolovány podle aktuálních technických výkresů a specifikací, včetně ověření konstrukčních materiálů a požadavků na kalibrace.
- Instalace musí splňovat navržené zapojení jednotlivých prvků.
- Instalace musí shromáždit a posoudit provozní a pracovní postupy a požadavky na údržbu a umožňovat sterilizační proces.

2.1.2.3 Operační kvalifikace (OQ)

- Vakuový test (provádí se v případech, kdy je sterilizátor vybaven vakuovou pumpou a sterilizační program zahrnuje evakuaci komory)
změna tlaku (zvýšení) nesmí být větší než 0,13 kPa/min (norma ČSN EN 285)

Testy těsnosti komory sterilizátoru by měly být prováděny pravidelně, a pokud to umožňuje vybavení sterilizátoru, měly by být testy zavedeny mezi standardní programy sterilizátoru, nejlépe v intervalu 1 týdne. Těsnost komory se prokazuje rovněž tlakovým testem a to i u sterilizátorů bez evakuace komory (pokud to specifikace zařízení umožňuje).

- Distribuce teploty v prázdné komoře
v každém místě komory musí být hodnota F_0 ($T=121$ °C, $Z=10$ °C) větší nebo rovna 15 minut (nemusí platit pro cyklus řízený na základě výpočtu F_0)
naměřené teploty v komoře musí ležet v intervalu sterilizační teploty + 3 °C
rozdíl teplot v dané pozici měření teploty v komoře nemá přesáhnout ± 1 °C
rozdíly mezi pozicemi nemají přesáhnout 2 °C (norma ČSN EN 554)
uvedené požadavky mají být splněny alespoň pro 75 % sterilizační periody (po ustálení regulace)
- Distribuce teploty v potrubním systému včetně filtrů
v každém místě systému musí být hodnota F_0 ($T=121$ °C, $Z=10$ °C) větší nebo rovna 15 minut
- Prokázání integrity filtru dle specifikace stanovené výrobcem filtru
- Obsah nekondenzujících plynů
rovno nebo menší než 3,5 % obj. (norma ČSN EN 285)
- Suchost páry
rovno nebo větší než 0,9 (norma ČSN EN 285)
- Přehřátí páry
rovno nebo menší než 25 °C (norma EN 285) nebo 5 °C v uzavřené komoře sterilizátoru

Testy na obsah nekondenzujících plynů, suchost a přehřátí páry nejsou nezbytné pro hermeticky uzavřené sterilizované jednotky

2.1.2.4 Procesní kvalifikace (PQ)

- Distribuce teploty v komoře s náplní
v každém místě komory musí být hodnota F_0 ($T=121$ °C, $Z=10$ °C) větší nebo rovna 15 minut
- Prostup tepla do náplně
v každém místě náplně musí být hodnota F_0 ($T=121$ °C, $Z=10$ °C) větší nebo rovna 15 minut
- Doplňkový test s bioindikátory
minimální redukce množství spor *Bacillus stearothermophilus* o 6 řádů

Uvedená kritéria platí pouze pro sterilizační přístup: sterilizace nadměrným usmrcením. Pro ostatní případy (produkt nelze sterilizovat vlhkým teplem při 121 °C po dobu 15 minut) uvádí dokument EMEA (Decision trees for the selection of sterilization methods) požadavek F_0 větší nebo roven 8 minut.

Validace ostatních sterilizačních přístupů (přístupy využívající menší tepelné zátěže pro produkt nebo materiály), předpokládá dostatečnou znalost biologické zátěže v produktu nebo na povrchu sterilizovaného materiálu a výběr reprezentativního (nejvíce rezistentního) mikroorganismu zátěže. Je třeba stanovit přípustný limit biologické zátěže před sterilizací a prokázat sterilizační účinek pro tento limit. Rutinní postupy sterilizace zahrnují vždy mikrobiologický monitoring.

Cílem procesní kvalifikace je vytvořit vzor záznamu teploty a tlaku pro validovaný sterilizační proces (tzv. „Master Temperature Record“, MTR), který slouží pro běžné procesy jako vzor.

2.1.3 Monitorování a revalidace

Každý sterilizační cyklus pro daný typ náplně musí být pravidelně kontrolován, srovnáván s validovaným procesem (MTR) a dosažené výsledky musí být vyhodnocovány v čase (monitorovány). Minimální parametry pro monitorování jsou:

- srovnávání s MTR,
- doby jednotlivých fází,
- průměrná teplota během sterilizační periody,
- minimální hodnota F_0 ,
- pravidelné provádění testu těsnosti komory (viz bod 2.1.2.3.),
- pravidelná kontrola průběhu sterilizačního procesu Bowie-Dickovou zkouškou nebo jiným integrovaným indikátorem minimálně v intervalu 1x týdně pro každou porézní náplň.

Pokud výsledky monitorování vykazují standardnost procesu (prokazuje se statistickým vyhodnocením, např. $CPK(F_0) \geq 1,33$), lze při pravidelné revalidaci omezit provádění některých měření a testů. V opačném případě musí být provedena celá procesní kvalifikace (PQ).

Pokud byly provedeny významné úpravy zařízení nebo podpůrných systémů, které mohou mít významný vliv na sterilizační proces musí být provedena úplná validace (IQ, OQ, PQ). O posouzení vlivu provedených změn na sterilizační účinnost cyklu rozhoduje validační tým.

2.1.4 Zkoušky zaměřené na porézní materiály, kovové a pryžové předměty

Tyto testy se týkají rovněž materiálů zabalených v porézních obalech.

Bowie–Dickova zkouška - Je zkouška sloužící pro prokázání úspěšného odvodu páry pro tzv. vysokovakuové sterilizátory pro porézní vsázku. Úspěšná zkouška svědčí o rychlém a stejnoměrném pronikání páry do zkušební balíku. Při této zkoušce se používají indikátory, jejichž stejnoměrná změna zabarvení indikuje správný výsledek zkoušky. V balíku může setrvat vzduch při neúčinné odvodu páry, vniknutím vzduchu do komory v průběhu odvodu páry a za přítomnosti nekondenzovatelných plynů v přiváděné páře.

Plná vsázka textilií - Zkouška se používá k prokázání, že při nastavených parametrech procesu dojde k rychlému a stejnoměrnému průniku páry do středu vsázky a že se dosáhne podmínek sterilizace. Zkušební vsázka má představovat největší hmotnost textilií, které mohou být ve sterilizátoru najednou zpracovávány. Plná vsázka musí obsahovat skládané roušky a standardní zkušební balík.

Biologické indikátory - při vsázce předmětů z pryže - Zkouška se používá k prokázání, že při nastavených parametrech sterilizačního procesu, mikroorganismy umístěné uvnitř pryžové hadičky, která se nachází ve standardním balíku, který byl vložen do vsázky o maximální specifikované hmotnosti a velikosti dostačující k vyplnění využitelného prostoru komory, nejsou po ukončení sterilizačního procesu životaschopné.

Zkoušky sušení - Provádí se u malých vsázek textilií, u velkých vsázek textilií a u vsázek kovových předmětů. Zkoušky mají prokázat, že vysterilizovaný materiál neobsahuje po skončení sušení nadměrné množství vlhkosti.

2.2 Požadavky na sterilizaci a depyrogenizaci suchým teplem

69. *Používaný sterilizační cyklus má využívat nucené cirkulace vzduchu uvnitř komory za udržování přetlaku, zabráňujícímu pronikání nesterilního vzduchu. Vzduch přiváděný do komory, má procházet HEPA filtrem. Jestliže je sterilizační postup určen také k odstraňování pyrogenů, mají být součástí validačních zkoušek zátěžové testy s použitím endotoxinů.*

2.2.1 Měření a testy pro sterilizaci suchým teplem a depyrogenaci

Požadavky na kalibrace a instalační kvalifikace pro měření a testy pro sterilizaci suchým teplem jsou shodné s požadavky uvedenými v bodech 2.1.1.1. a 2.1.1.2.

2.2.1.1 Operační kvalifikace (OQ)

Operační kvalifikace prokazuje a dokladuje, že zařízení může opakovaně a spolehlivě provádět navržené funkce v rozsahu operačních parametrů. V rámci operační kvalifikace musí být:

- vypracován SOP pro sterilizační postupy,
- prokázána spolehlivá funkce sterilizátoru v průběhu sterilizačních postupů,
- provedeny následující testy:

2.2.1.1.1 Horkovzdušný komorový sterilizátor s HEPA filtry

- test integrity filtrů a těsnost instalace v klidovém stavu

- distribuce teploty v prázdné komoře
- rychlost a homogenita proudění vzduchu
- počet částic ve vznosu
- testy kritických alarmů řídicího systému
- vzduchové bilance a přetlaky v prázdné komoře

2.2.1.1.2 Horkovzdušný komorový sterilizátor bez HEPA filtrů (pouze pro hermeticky uzavřený materiál)

- distribuce teploty v prázdné komoře
- testy kritických alarmů řídicího systému

2.2.1.1.3 Sterilizační tunel

- test integrity filtrů a těsnost instalace v klidovém stavu
- rychlost a homogenita proudění vzduchu za HEPA filtry (tento test není nezbytný)
- rychlost a homogenita proudění vzduchu na tunelovém pásu
- distribuce teploty v prázdném tunelu
- počet částic ve vznosu ve výšce hrdel lékovek ve sterilizačním tunelu
- testy kritických alarmů řídicího systému
- vzduchové bilance a přetlaky v podélné ose tunelu.

Operační kvalifikace musí být doložena validačním protokolem a schválenou validační zprávou, ve které je operační kvalifikace vyhodnocena a navržen další postup validačních kroků.

2.2.1.2 Procesní kvalifikace (PQ)

Procesní kvalifikace má prokázat odpovídající účinnost používaných sterilizačních cyklů pro konkrétní náplně. Konkrétní náplň je definována typem materiálu, množstvím a geometrií uložení. V rámci procesní kvalifikace musí být provedeny následující testy:

2.2.1.2.1 Horkovzdušný komorový sterilizátor s HEPA filtry

- distribuce teploty v komoře s náplní
- vstup tepla do náplně

Uvedené fyzikální testy je vhodné doplnit testem s bioindikátory, resp. endotoxiny.

2.2.1.2.2 Horkovzdušný sterilizátor bez HEPA filtrů (pouze pro hermeticky uzavřený materiál)

- distribuce teploty v komoře s náplní
- vstup tepla do náplně

Uvedené fyzikální testy je vhodné doplnit testem s bioindikátory, resp. endotoxiny.

2.2.1.2.3. Sterilizační tunel

- distribuce teploty v tunelu s náplní, včetně režimu najíždění a vyjíždění náplně na začátku a na konci šarže
- kontrola účinnosti chlazení náplně, pokud je to kritický parametr pro výrobní proces

Uvedené fyzikální testy je vhodné doplnit testem s bioindikátory, resp. endotoxiny.

Během sterilizačního cyklu musí proběhnout redukce počtu mikroorganismů *Bacillus subtilis* alespoň o 6 řádů. Pokud je součástí sterilizace rovněž depyrogenizace, pak je požadována redukce bakteriálních endotoxinů alespoň o 3 řády.

Procesní kvalifikace musí být doložena validačním protokolem a schválenou validační zprávou, ve které má být procesní kvalifikace vyhodnocena a navržen další postup validačních kroků.

2.2.2 Kritéria přijatelnosti

2.2.2.1 Kalibrace

- Teplotní sondy - externí pro horkovzdušnou sterilizaci před měřením
 - správnost $\pm 0,6$ °C (maximální odchylka od standardu teploty po zavedení korekčních faktorů) ve dvou bodech, z nichž jeden je v blízkosti teploty sterilizace (méně než 15 °C)
 - stabilita $\pm 0,2$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)
 - linearita $\pm 0,6$ °C při třetí střední teplotě (maximální odchylka od standardu teploty ve třetí střední kalibrační teplotě) pro extrémně nelineární typy čidel (např. termistory, některé termočlánky apod.)
 Poznámka: Kalibrační rozsah je vhodné zvolit tak, aby v něm ležely pokud možno všechny validované sterilizační teploty
- Teplotní sondy - externí po ukončení měření ve dvou bodech stejných jako při kalibraci před měřením, u nelineárních typů čidel též při stejné třetí střední kalibrační teplotě

- správnost $\pm 0,6$ °C (maximální odchylka v těchto bodech od standardu teploty s použitím korekčních faktorů identických jako před měřením)
- stabilita $\pm 0,2$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)

Při post-kalibračních měřeních (kalibračních ověřeních) se připouští 20 % nevyhovujících sond, pokud se nejedná o sondy umístěné v kritických místech. O přijatelnosti výsledku kalibrace musí rozhodnout validační tým.

- Teplotní sondy - externí pro horkovzdušnou depyrogenizaci před měřením
 - správnost $\pm 2,0$ °C (maximální odchylka od standardu teploty po zavedení korekčních faktorů) ve dvou bodech, z nichž jeden je v blízkosti teploty depyrogenizace
 - stabilita $\pm 0,3$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)
 - linearita $\pm 2,0$ °C při třetí střední teplotě (maximální odchylka od standardu teploty ve třetí střední kalibrační teplotě) pro extrémně nelineární typy čidel (např. termistory, některé termočlánky)
- Teplotní sondy - externí po ukončení měření ve dvou bodech stejných jako při kalibraci před měřením, u nelineárních typů čidel též při stejné třetí střední teplotě
 - správnost $\pm 2,0$ °C (maximální odchylka v těchto bodech od standardu teploty s použitím korekčních faktorů identických jako před měřením)
 - stabilita $\pm 0,3$ °C po dobu 3 minut (maximální změna teploty při stabilním zdroji teploty)

Při post-kalibračních měřeních (kalibračních ověřeních) se připouští 20 % nevyhovujících sond, pokud se nejedná o sondy umístěné v kritických místech. O přijatelnosti výsledku kalibrace musí rozhodnout validační tým.

Pro interní sondy platí požadavky uvedené v bodu 2.1.2.1.

2.2.2.2 Instalační kvalifikace (IQ)

Pro instalaci platí kritéria uvedená v bodu 2.1.2.2.

2.2.2.3 Operační kvalifikace (OQ)

2.2.2.3.1 Horkovzdušný komorový sterilizátor s HEPA filtry

- Distribuce teploty v prázdné komoře
 - pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160$ °C, $Z=20$ °C) větší nebo rovna 120 minut
 - pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250$ °C, $Z=46,4$ °C) větší nebo rovna 30 minut
 - rozdíl teplot v komoře nesmí během 75 % sterilizační periody přesáhnout 25 °C
- Prokázání integrity filtru a těsnosti instalace
 - maximální průnik $\leq 0,1$ % koncentrace před filtrem, za předpokladu, že je splněna podmínka počtu částic v komoře (platí pro filtr, přes který vstupuje vzduch do komory, ostatní filtry dle specifikace)
- Prokázání počtu částic ve vznosu v komoře (přednostně má být provedeno měření v horké komoře, pokud je k dispozici validovaná metodika)

maximální povolený počet částic velikosti 0,5 μm a větší	3500 částic/ m^3
maximální povolený počet částic velikosti 5 μm a větší	1 částice/ m^3
- Rychlost a homogenita proudění vzduchu
 - rychlost v zóně s laminárním prouděním nesmí klesnout pod 0,36 m/s
 - homogenita rychlosti proudění musí být v rozmezí $\pm 20\%$ od střední rychlosti v zóně
- vzduchové bilance a přetlaky v komoře
 - má být zajištěn přetlak v komoře vůči okolnímu prostředí

2.2.2.3.2 Horkovzdušný komorový sterilizátor bez HEPA filtrů

(pouze pro hermeticky uzavřený materiál)

- Distribuce teploty v prázdné komoře
 - pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160$ °C, $Z=20$ °C) větší nebo rovna 120 minut
 - pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250$ °C, $Z=46,4$ °C) větší nebo rovna 30 minut
 - rozdíl teplot v komoře nesmí během 75 % sterilizační periody přesáhnout 25 °C

2.2.2.3.3 Sterilizační tunel

- Distribuce tepla v prázdném tunelu
 - rozdíl teplot ve sterilizační části tunelu nemá přesáhnout 25 °C
 - pro proces sterilizace musí být ve všech měřených místech po průjezdu tunelem hodnota F_H ($T=160$ °C, $Z=20$ °C) větší nebo rovna 120 minut

pro proces depyrogenizace musí být ve všech měřených místech po průjezdu tunelem hodnota F_D ($T=250\text{ °C}$, $Z=46,4\text{ °C}$) větší nebo rovna 30 minut

- Prokázání integrity filtru a těsnosti instalace
maximální průnik $\leq 0,01\%$ koncentrace před filtrem ve vstupní a chladicí části,
u horkovzdušného sterilizačního tunelu (*tunel s laminárním prouděním horkého vzduchu v ohřívací zóně; pozn.: v praxi se dosud vyskytují sterilizační tunely s ohříváním tepelnou radiací*) maximální průnik $\leq 0,1\%$ koncentrace před filtrem v ohřívací části, za předpokladu, že je splněna podmínka počtu částic v tunelu
- Prokázání počtu částic ve vznosu v tunelu (přednostně má být provedeno měření v horkém tunelu, pokud je k dispozici validovaná metodika; pozn.: měření částic ve vznosu v horké komoře nebo horké ohřívací zóně má být podpořeno validovaným postupem snižování teploty vzorku vzduchu na vstupu do počítací části – validace předpokládá použití testovacího aerosolu s dostatečnou stabilitou (koncentrace a rozložení velikosti částic) při teplotách horké zóny ve vztahu k ochlazení na teplotu měření)
maximální povolený počet částic velikosti $0,5\text{ }\mu\text{m}$ a větší 3500 částic/ m^3
maximální povolený počet částic velikosti $5\text{ }\mu\text{m}$ a větší 1 částice/ m^3
- Rychlost a homogenita proudění vzduchu na tunelovém pásu:
rychlost v žádné zóně s laminárním prouděním nesmí klesnout pod $0,36\text{ m/s}$
homogenita rychlosti proudění musí být v rozmezí $\pm 20\%$ od střední rychlosti v jednotlivých zónách
- Vzduchové bilance a přetlaky v podélné ose tunelu
má být zajištěn přetlak v chladicí zóně vůči vstupní zóně (umývárně)
- Rychlost posuvu pásu při vyprazdňování tunelu se nemá lišit o více jak $\pm 10\%$ od nastavené (validované) hodnoty.

Poznámky:

- Pro činnosti v laminárních zónách horkovzdušného sterilizátoru a sterilizačního tunelu jsou obvyklé rychlosti od $0,5\text{ m/s}$ do 1 m/s (vzhledem k nepřítomnosti personálu v laminárních zónách horkovzdušných sterilizátorů a tunelů za provozu, lze využít vyšších laminárních rychlostí proudění, které zvyšují účinnost ohřevu a chlazení).
- Podmínky sterilizace jsou současně splněny při depyrogenizaci tehdy, je-li splněna podmínka pro veličinu F_D .

2.2.2.4 Procesní kvalifikace (PQ)

2.2.2.4.1 Horkovzdušný komorový sterilizátor s HEPA filtry

- Distribuce teploty v komoře s náplní
pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160\text{ °C}$, $Z=20\text{ °C}$) větší nebo rovna 120 minut
pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250\text{ °C}$, $Z=46,4\text{ °C}$) větší nebo rovna 30 minut
- Prostup tepla do náplně
pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160\text{ °C}$, $Z=20\text{ °C}$) větší nebo rovna 120 minut
pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250\text{ °C}$, $Z=46,5\text{ °C}$) větší nebo rovna 30 minut
- Doplnkový test s bioindikátory
minimální redukce množství spor *Bacillus subtilis* o 6 řádů
- Zátěžový test s endotoxiny
minimální redukce množství endotoxinu o 3 řády

Pokud sterilizovaný materiál není možno sterilizovat suchým teplem při 160 °C po dobu 120 minut, uvádí dokument EMEA (Decision trees for the selection of sterilization methods) možnost sterilizace alternativní kombinací času a teploty při dosažení hladiny sterilizační jistoty menší nebo nejvýše rovno 10^{-6} .

2.2.2.4.2 Horkovzdušný komorový sterilizátor bez HEPA filtrů

(pouze pro hermeticky uzavřený materiál)

- Distribuce teploty v komoře s náplní
pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160\text{ °C}$, $Z=20\text{ °C}$) větší nebo rovna 120 minut
pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250\text{ °C}$, $Z=46,4\text{ °C}$) větší nebo rovna 30 minut
- Prostup tepla do náplně
pro proces sterilizace musí být v každém místě komory hodnota F_H ($T=160\text{ °C}$, $Z=20\text{ °C}$) větší nebo rovna 120 minut
pro proces depyrogenizace musí být v každém místě komory hodnota F_D ($T=250\text{ °C}$, $Z=46,5\text{ °C}$) větší nebo rovna 30 minut
- Doplnkový test s bioindikátory
minimální redukce množství spor *Bacillus subtilis* o 6 řádů

- Zátěžový test s endotoxiny
minimální redukce množství endotoxinu o 3 řády

Pokud sterilizovaný materiál není možno sterilizovat suchým teplem při 160 °C po dobu 120 minut, uvádí dokument EMEA (Decision trees for the selection of sterilization methods) možnost sterilizace alternativní kombinací času a teploty při dosažení hladiny sterilizační jistoty menší nebo nejméně rovno 10^{-6} .

2.2.2.4.3. Sterilizační tunel

- Distribuce tepla v tunelu s náplní
pro proces sterilizace musí být ve všech místech, osách a směrech, při plnění, normálním chodu a vyprazdňování tunelu hodnota F_H ($T=160$ °C, $Z=20$ °C) větší nebo rovna 120 minut
pro proces depyrogenizace musí být ve všech místech, osách a směrech, při plnění, normálním chodu a vyprazdňování tunelu hodnota F_D ($T=250$ °C, $Z=46,4$ °C) větší nebo rovna 30 minut
- Kontrola účinnosti chlazení náplně
teplota na konci chladicí části musí být rovna nebo nižší než teplota specifikovaná
- Doplnkový test s bioindikátory
minimální redukce množství spor *Bacillus subtilis* o 6 řádů
- Zátěžový test s endotoxiny
minimální redukce množství endotoxinu o 3 řády

Cílem procesní kvalifikace je vytvořit vzor záznamu teploty pro validovaný sterilizační proces (tzv. „Master Temperature Record“, MTR), který slouží pro běžné procesy jako vzor (platí pro všechny sterilizátory s řízenou teplotou).

2.2.2.5 Monitorování a revalidace

Pro monitorování a revalidace sterilizačních cyklů platí požadavky uveřejněné v bodu 2.1.3.

Pokud výsledky monitorování vykazují standardnost procesu (prokazuje se statistickým vyhodnocením, např. $CPK(F_D) \geq 1,33$), lze při pravidelné revalidaci omezit provádění některých měření a testů. V opačném případě musí být provedena celá procesní kvalifikace (PQ).

Pokud byly provedeny významné úpravy zařízení nebo podpůrných systémů, které mohou mít významný vliv na sterilizační proces, musí být provedena úplná validace (IQ, OQ, PQ). O úrovni vlivu provedených změn na sterilizační účinnost cyklu rozhoduje validační tým.

3. Pravidelná preventivní údržba

Sterilizační zařízení jsou kritická zařízení a je proto nutné, aby byla stále udržována v dobrém technickém stavu. Pro každé zařízení by měl být vypracován plán pravidelné preventivní údržby. V plánu by měly být uvedeny minimálně následující informace:

- základní části zařízení
- rozdělení částí a prvků na kritické a nekritické z pohledu údržby a provozu zařízení
- popis pravidelných úkonů údržby
- intervaly pravidelných úkonů údržby
- zodpovědnosti.

Cílem pravidelné preventivní údržby je zajistit standardní provoz sterilizačního zařízení bez poruch a odchylek procesu.

4. Definice

Studie distribuce teploty - je studie, při které je sledováno rozložení teplotního pole v komoře sterilizátoru bez náplně nebo s náplní (teplotní sondy jsou vždy umístěny mimo náplň).

Studie prostupu tepla - je studie, při které je sledován průnik tepla do sterilizované náplně (teplotní sondy jsou umístěny do sterilizované náplně).

Sterilizovaná náplň - je materiál určitého typu, množství a geometrie uložený ve sterilizátoru, který je podrobován sterilizaci.

Vzor sterilizační náplně - je grafický náčrt uložení sterilizované náplně, který jednoznačně definuje geometrii a množství konkrétní náplně sterilizátoru.

Externí sonda - měřicí sonda používaná pouze pro kvalifikační účely.

Interní sonda - měřicí sonda kvalifikovaného zařízení.

Specifikace - je co nejpodrobnější a nejpresnější popis zařízení. Při kvalifikaci jsou porovnávány výsledky ověřování se specifikací.

Master Temperature Record - je grafický záznam průběhu teploty kontrolní interní sondy z validační studie penetrace tepla.

F hodnota - udává čas v minutách, který je potřebný k dosažení ekvivalentního sterilizačního efektu při standardní teplotě.

Standardní zkušební balík - slouží k prověření, zda se při zvoleném nastavení parametrů sterilizačního procesu dosáhne rychlého a stejnoměrného proniknutí páry do balíku.

Zkušební balík s pryžovými předměty - zkušební balík se použije pro reprezentaci jednotky pryžových předmětů, např. hadiček, v nichž je obtížné dosáhnout předepsaných sterilizačních podmínek.

Zkušební balík s kovovými předměty - tento zkušební balík se používá k reprezentaci jednotky kovových předmětů, např. nástrojů, které se obtížně suší.

Použitá literatura

1. Pokyny pro správnou výrobní praxi VYR 32, včetně Doplnku 1
2. Český lékopis 2002, včetně Doplnků
3. CPMP/QWP/159/01
4. USP 23
5. Clean Steam Systems, T. Latham, Pharm. Eng. 3/1995
6. Validation of Steam Sterilization Cycles, Technical Report No. 1, PDA
7. Validation of Dry Heat Processes Used for Sterilization and Depyrogenization, Technical Report No. 3, PDA
8. Depyrogenation, Technical Report No. 7, PDA
9. Validation of Steam Sterilisers, Neil Rose, Wellcome Foundation Ltd. UK
10. Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes, F.J. Carleton, J.P. Agalloco
11. Norma EN 285
12. Norma EN 550
13. Norma EN 552
14. Norma EN 554
15. Normy EN 1174-1, EN 1174-2 a En 1174-3
16. Norma EN 1422
17. Norma BS 3970, Part 2, Appendix H
18. Norma BS 3970, Part 2, Appendix E