

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

Studijní obor: Farmacie



VALIDACE ČIŠTĚNÍ PLNIČKY TVRDÝCH ŽELATINOVÝCH TOBOLEK
CLEANING VALIDATION OF CAPSULE FILLING MACHINE

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Mgr. Bc. Aneta Hynková

Konzultant: Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

Opava, prosinec 2020

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při vypracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Aneta Hynková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat PharmDr. Aleši Berkovi a RNDr. Zdeňku Pavelkovi, CSc. za umožnění přístupu a realizaci této práce ve společnosti Teva Czech Industries s.r.o. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Martině Válové za odborné vedení, čas a ochotu.

Děkuji panu Doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za ochotu a pomoc při zpracování rukopisu.

ABSTRAKT

Validací se označuje zadokumentované ověření toho, že výrobní a kontrolní procesy spojené s výrobou nějakého produktu splňují předem stanovené parametry. Cílem validace čištění ve farmaceutické výrobě je získání podkladů potvrzujících, že postup čištění hodnoceného výrobního zařízení zajišťuje bezpečné zpracování léčivých přípravků z hlediska nepřítomnosti nečistot, resp. kontaminant.

V teoretické části práce je podán přehled legislativních podkladů závazných pokynů pro validaci čištění založených na hodnocení rizika pro prevenci křížové kontaminace pro výrobní zařízení, která vyrábějí více produktů a přehled všech podstatných pojmů vypracovaných a zavedených pro činnost v této oblasti.

Praktická část je zaměřena na validaci procesu čištění plničky tvrdých želatinových tobolek Bosch, model GKF 2500 ASB 100% jako nového zařízení, které má být uvedeno do provozu v režimu Správné výrobní praxe. Zařízení disponuje stoprocentní váhovou kontrolou a maximální rychlostí plnění 2500 kapslí/min. K dispozici byl postup jeho manuálního čištění.

Z aktivních látek pro zpracování do kapslí byly uvažovány hydrochlorothiazid, fluoxetin hydrochlorid, acyklovir a gabapentin. V rámci validační studie bylo ověřeno čištění po době stání (dirty hold time).

Výsledky stanovení reziduí hydrochlorothiazidu, Extranu MA02 a mikrobiální kontaminace ukázaly, že obsah reziduí vyhovoval stanoveným kritériím přijatelnosti. Nekritickou odchylku představoval pouze dirty hold time zkrácený na 69 hodin. Výsledky dokládají účinnost použité čistící procedury a kapslovací zařízení Bosch GKF 2500 ASB 100 % je možné využívat k rutinní výrobě léčivých přípravků.

Validation refers to the documented verification that the production and control processes associated with the production of a product meet predetermined parameters. The aim of cleaning validation in pharmaceutical industry is to obtain documents confirming that the cleaning procedure of the evaluated production equipment ensures safe processing of medicinal products in terms of the absence of impurities or contaminant.

The theoretical part of the thesis provides an overview of the legislative basis for binding guidelines for the validation of cleaning based on risk assessment for the prevention of cross-contamination for production equipments that produce multiple products and an overview of all essential concepts developed and implemented for activities in this area.

The practical part is focused on the validation of the cleaning process of the Bosch capsule filling machine, model GKF 2500 ASB 100% as a new device to be put into operation in the Good Manufacturing Practice mode. The equipment has 100% weight control and a maximum filling speed of 2500 capsules / min. There was a procedure for its manual cleaning.

Hydrochlorothiazide, fluoxetine hydrochloride, acyclovir and gabapentin were considered as active ingredients for capsule processing. The validation study verified the cleaning after standing (dirty hold time).

The results of the determination of residues of hydrochlorothiazide, Extran MA02 and microbial contamination showed that the content of residues met the established acceptance criteria. The only non-critical deviation was the dirty hold time reduced to 69 hours. The results demonstrate the effectiveness of the used cleaning procedure and the Bosch capsule filling machine GKF 2500 ASB 100% can be used for the routine production of medicinal products.

STRACT

Obsah

1.	Zadání práce	8
2.	ÚVOD	9
3.	TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1	Čistota ve farmaceutickém průmyslu a její validace	10
3.2	Legislativní rámec validace čištění	11
3.2.1	Přístup zahraničních autorit	11
3.2.2	Přístup českých autorit	12
3.3	Organizace validací ve výrobním podniku	13
3.3.1	Rada jakosti	13
3.3.2	Oddělení validací Pharma QA (Quality Assurance)	13
3.3.3	Ředitelé výroby, logistiky, IT a vedoucí QC (Quality Control)	14
3.3.4	Řídící validační týmy	14
3.3.5	Validační týmy	14
3.3.6	Externí firmy	14
3.4	Postup provedení nové validace čištění	15
3.4.1	Změnové řízení	15
3.4.2	Posouzení nutnosti validace čištění	16
3.4.3	Posouzení nutnosti analytické metody (AM)	17
3.4.4	Vývoj a validace analytické metody	17
3.4.5	Validace nelékopisných metod	17
3.4.6	Příprava validačního protokolu (VP)	18
3.4.7	Příprava vzorkovacích pomůcek	18
3.4.8	Čištění zařízení, jeho částí a pomůcek	19
3.4.9	Vzorkování po provedeném čištění	19
3.4.10	Analýza vzorků	19
3.4.11	Vyhodnocení výsledků po jednom čištění	19
3.4.12	Změna procedury čištění	19
3.4.13	Vyhodnocení výsledků CV	20
3.4.14	Zpracování Validační zprávy (VZP)	20
3.5	Validační dokumentace	20
3.6	Revalidace	21
3.6.1	Pravidelné verifikace	21
3.6.2	Revalidace po změnách	21
3.7	Čištění	22

3.7.1	Zařízení a pomůcky	22
3.7.2	Čistící prostředky a pomůcky	24
3.7.3	Procedury čištění	25
3.8	Hodnocení čistoty zařízení a pomůcek	33
3.8.1	Kontaminace a rezidua	33
3.9	Vzorkování	34
3.9.1	Výběr vzorkovacích míst	34
3.9.2	Výběr vzorkovací metody	35
3.9.3	Vizuální kontrola	35
3.9.4	Vzorkování stěrem - chemické stěry	35
3.9.5	Vzorkování oplachem	36
3.9.6	Vzorkování pomocí placebo/produktu	36
3.9.7	Vzorkování - mikrobiální kontaminace	36
3.10	Metody testování	37
3.11	Vyhodnocení kontaminace - kritéria přijatelnosti a limity čistoty	38
3.11.1	Rezidua API	39
3.11.2	Rezidua detergentů	41
3.11.3	Limit čistoty pro MO	43
3.12	Srovnání přístupů k validaci čištění	43
4.	PRAKTICKÁ ČÁST	44
4.1	Validace čištění zařízení	44
4.2	Analýza rizik	45
4.2.2	Výpočet limitu reziduí	47
4.2.3	Kritéria přijatelnosti	49
4.2.4	Metody testování a hodnocení jednotlivých testů	49
4.2.5	Validace čištění	50
4.3	Vyhodnocení experimentální části	54
5.	Závěr	54
6.	Seznam zkratk	55
7.	Literatura	58
8.	Seznam tabulek	60
9.	Seznam obrázků	60

1. ZADÁNÍ PRÁCE

- Vymezení pojmu validace čištění
- Provedení analýzy rizik
- Validace čištění pro nové kapslovací zařízení Bosch s manuálním čistícím postupem
- Vypočet limitů reziduí a stanovení kritérií přijatelnosti
- Zhodnocení účinnosti provedeného čištění zařízení
- Podílení se na vypracování validačního protokolu a validační zprávy.

2. ÚVOD

Tato rigorózní práce částečně navazuje na mou diplomovou práci „VALIDACE ČISTICÍCH PROCESŮ 1“, která se zabývala vývojem analytické metody pro stanovení léčiva Flutamid. Diplomovou práci jsem zpracovávala během několikaměsíční stáže ve společnosti Teva Czech Industries s.r.o. (TCI) se sídlem v Opavě na oddělení Quality Control (QC). V laboratořích oddělení jsem měla mimo jiné možnost se seznámit s technologií Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC). Produkt Flutamid byl navržen k probíhajícímu transferu výroby z jiného závodu nadnárodní izraelské společnosti Teva Pharmaceutical Industries Ltd. v roce 2013 jehož je TCI součástí. Transfer Flutamidu byl s přispěním zmiňované vyvinuté analytické metody pro validaci čištění úspěšný a dnes se již produkt vyráběn v Opavě.

Využila jsem dále možnosti se ve společnosti TCI zabývat rozsáhlou problematikou validace čištění a souhlasila jsem s prodloužením stáže nad rámec potřeb diplomové práce. Lákala mne příležitost si vyzkoušet praktickou stránku validace čištění a implementaci analytických metod na konkrétních výrobních postupech a linkách.

Díky vstřícnosti zaměstnanců společnosti, mi byla nabídnuta spolupráce při validaci čištění nového kapslovacího zařízení Bosch GKF 2500 ASB 100%, které bylo zakoupeno v rámci rozšiřování výroby a navyšování výrobních kapacit. Zařízení bylo umístěno na tzv. výrobní závod OSD (Oral Solid Dosage form), do oddělení zpracování tvrdých želatinových tobolek. Zařízení je čištěno manuálně. Tento typ zařízení byl pro společnost nový, tudíž nebylo možné převzít již provedenou validaci čištění jiného kapslovacího stroje. Dané zařízení se může začít používat pro výrobu komerčních šarží pouze za předpokladu, že jsou všechny testy hotové a validace čištění tedy proběhla úspěšně.

Teoretická část předkládané rigorózní práce je oproti diplomové práci věnována obecnému konceptu řešení validace čištění. Jako konkrétní příklad je zde uveden farmaceutický systém jistění jakosti ve společnosti TCI. Práce je dále zaměřena na oblast čištění povrchů výrobních zařízení. Pro praktickou část byla vybrána validace čištění nového kapslovacího stroje.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Čistota ve farmaceutickém průmyslu a její validace

Výrobní zařízení a linky se mnohdy nevyužívají pouze pro výrobu jednoho produktu. Čím dál častěji je kladen důraz na co největší modulárnost výrobních linek, což vyhovuje potřebám současné farmacie a umožňuje výrobu více druhů produktů s obsahem různých účinných a dalších látek. S tím souvisí narůstající riziko křížové kontaminace, která bývá jedním z hlavních důvodů stahování léčiv z oběhu. I malý obsah antibiotik či jiných vysoce účinných substancí může způsobit někdy vážné poškození zdraví pacientů. Zejména u parenterálně podávaných léčiv může být výsledek fatální. Vyrábět léčiva té nejvyšší kvality je cílem všech farmaceutických výrobců a rovněž základní požadavek regulačních autorit. Kromě nežádoucích účinků na zdraví pacientů může mít riziko křížové kontaminace rovněž značný ekonomický dopad pro celou farmaceutickou společnost. Pokud dojde ke stahování léčiva z oběhu, produkt je obvykle zlikvidován a společnost se musí finančně vyrovnat se svými zákazníky. V konečné fázi může dojít ke ztrátě důvěry pacientů a ztrátě pozice na trhu.^{1,2}

Farmaceutičtí výrobci musí ověřovat své čistící procesy proto nejen kvůli tomu, aby zabránili křížové kontaminaci, ale také aby zajistili soulad s regulačními orgány a s požadavky Správné výrobní praxe (SVP), tedy Good Manufacturing Practice (GMP).

Požadavky SVP vyžadují jasné potvrzení postupů používaných k čištění povrchů zařízení během různých kroků výrobního procesu. Postup čištění musí účinně odstranit rezidua nečistot pod předem stanovenou úroveň. Kontaminace nemusí být způsobena pouze vyráběnými produkty, ale například prachovými částicemi, mikroorganismy a v neposlední řadě i detergenty, které se využívají pro samotné čištění. I ty mohou způsobit nevyhovující parametry produktu.^{1,2}

Požadavky na čistotu se ze zóny povrchů výrobních zařízení a linek postupem času rozšířily i o další oblasti ve farmaceutické výrobě. Čistota je důležitá i u podpůrných systémů výroby jako je například produkce čištěné vody či tlakového vzduchu nebo dusíku. Oblast čistoty prostředí je hodnocena také.

Čistící procesy musejí být ověřeny jako účinné na základě zdokumentovaných dat, důkazů. Zdokumentované ověření, že výrobní a kontrolní procesy spojené s výrobou nějakého produktu splňují předem stanovené parametry, se nazývá validace. V procesu validace hraje důležitou roli správně navržený systém jistění jakosti ve společnosti. V praxi takový systém potvrzuje, že vyrobený produkt splňuje všechny stanovené specifikace a je z jejich hlediska kvalitní.^{3, 4, 5}

Validace čištění (Cleaning Validation, CV) je specifickou oblastí validací ve farmacii. Cílem je potvrdit, že schválený postup čištění zajišťuje, že použité výrobní zařízení je vhodné ke

zpracování léčivých přípravků z hlediska čistoty (tj. nepřítomnosti kontaminantů). Informace získané v průběhu validace umožňují identifikovat potenciální problémy a zvyšují důvěru v to, že výroba produkuje bezpečná, účinná a kvalitní léčiva.^{3, 4}

3.2 Legislativní rámec validace čištění

Validace čištění bylo jedním z nejvíce diskutovaných a rozvíjejících se témat v letech 2018 a 2019 ve farmaceutickém průmyslu. Všechny hlavní regulační autority v posledních dvou letech buď revidovaly své pokyny pro validace čištění nebo je mají v procesu revize.

3.2.1 Přístup zahraničních autorit

Pokyny FDA (Food and Drug Administration)

- Jsou popsány v *Equipment Cleaning, sekce 211.67 v 21CFR* – poslední revize proběhla 1.dubna 2018
- FDA uvádí: „Zařízení a pomůcky musí být ve vhodných intervalech čištěny, udržovány a podle povahy léčiva sanitovány nebo sterilizovány, aby se zabránilo poruchám nebo kontaminaci, které by měly vliv na bezpečnost, totožnost, sílu, kvalitu nebo čistotu léčiva nad rámec oficiálních nebo jiných stanovených požadavků.“⁶

Pokyny EMA (European Medicines Agency)

- EMA byla průkopníkem, pokud jde o stanovení pokynů pro validaci čištění založených na hodnocení rizika pro prevenci křížové kontaminace výrobních zařízení vyrábějících více produktů. V pokynech s účinností od 1. června 2015 stanovila EMA povinnost stanovit limity maximální expozice na zdraví (Health Based Exposure Limits - HBEL) pro všechny léčivé přípravky na základě povolených hodnot denní expozice (Acceptable Daily Exposures – ADE), jak je popsáno v příloze 3 *ICH Q3C (R4)*. Toxikologické nebo farmakologické údaje, z nichž se vypočítává HBEL, vyžadují pravidelné přehodnocování po celou dobu životnosti přípravku.⁶

Pokyny World Health Organization (WHO)

- *WHO Good Manufacturing practices for active pharmaceutical ingredients* (příloha 2) stanovuje základní požadavky v celém dokumentu, konkrétně v oddílech 5.2 a 12.7.
- Směrnice WHO pro validaci čištění je velmi podobná směrnici FDA – WHO akceptuje přístup identifikovat „nejhorší případ“ pro vyráběnou účinnou látku a přístup kontinuální procesní verifikace (monitoring ověřování čištění při používání zařízení ve výrobě)⁶

Pokyny Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)

- PIC/S následovala agenturu EMA a vydala svou vlastní verzi nového pokynu pro ověření čištění k prevenci křížové kontaminace *PI 046-1* Pokyny k nastavení HBEL na zařízeních, které vyrábějí více produktů. Pokyny jsou účinné od 1. července 2018. ^{4,6}

Pokyny Parenteral Drug Association (PDA)

- PDA vydala dva samostatné dokumenty týkající se ověření čištění - *PDA Technical Report 29 for Actives* a *PDA Technical Report 49 for Biotechnology products* ⁶

Pokyny International Society For Pharmaceutical Engineering (ISPE)

- ISPE vydalo v září 2020 další dokument s pokyny nazvaný *leaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, & Controls* ⁶

Pokyny EU (Eudralex)

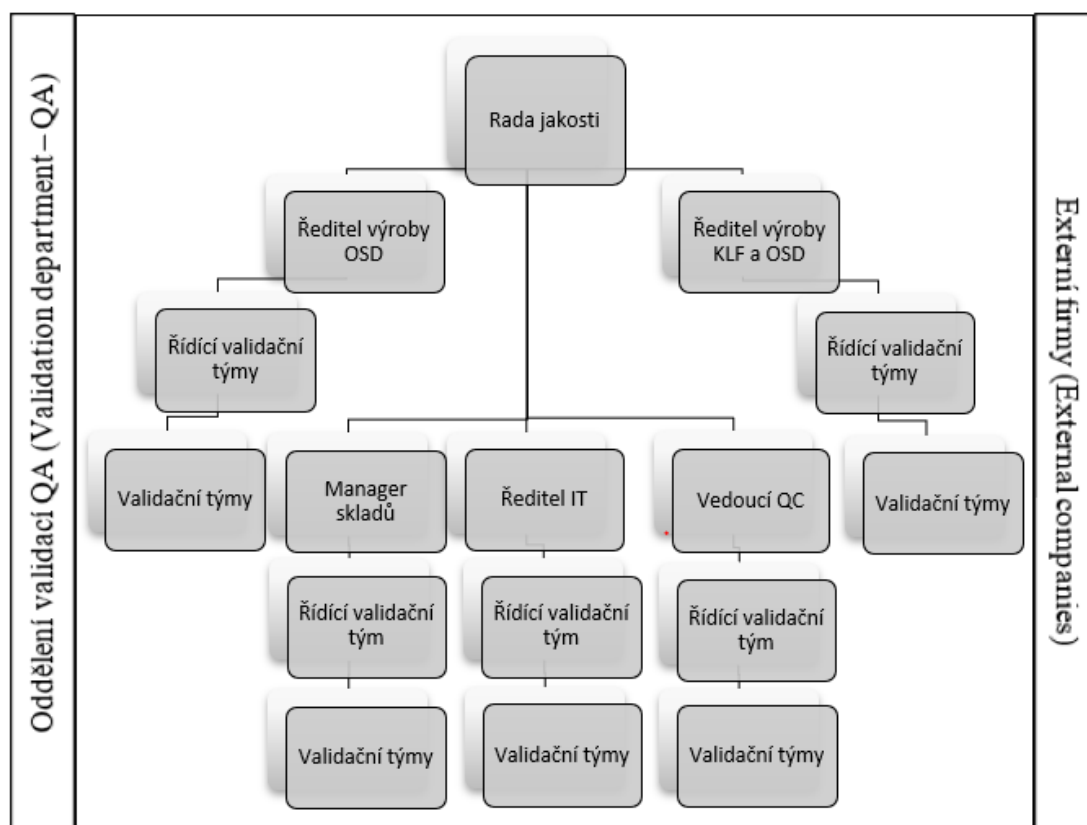
- EU se zaměřuje na validaci čištění ve své směrnici *Volume 4 - Good Manufacturing Practice (GMP)* ^{4,6}

3.2.2 Přístup českých autorit

- Základní zákon zabývající se problematikou léčivých přípravků je v České republice Zákon č. 378/2007 Sb. „*O léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů*“ a prováděcí vyhláška Ministerstva zdravotnictví a Ministerstva zemědělství č. 229/2008 Sb. „*O výrobě a distribuci léčiv*“.
- Státní ústav pro kontrolu léčiv (SÚKL) přejímá EU legislativu a zapracovává ji ve svých pokynech: *VYR-32 - VYR-32* Pokyny pro správnou výrobní praxi Kapitola 1 verze 4 – Farmaceutický systém jakosti a *VYR-10 - Validace aseptických procesů*. ^{3,7}

3.3 Organizace validací ve výrobním podniku

Za validační status procesu či systému je zodpovědný jeho vlastník. Vlastník je zpravidla vedoucí organizační jednotky, jejíž kontrole systém podléhá. Jako konkrétní příklad organizačního uspořádání v řízení jakosti může sloužit firma TCI Parma. Schéma na **Obr. 1** ukazuje, kdo se podílí na celkovém řízení a provádění validačních aktivit. Role jednotlivých složek je rozepsána níže.⁴



Obr. 1 Schéma organizace validací v TCI Pharma ⁴

3.3.1 Rada jakosti

Rada jakosti schvaluje validační dokumentaci (celkový validační plán včetně změn a dodatků, řídicí validační plány včetně změn a dodatků, souhrnné validační zprávy včetně změn a dodatků a celkovou validační zprávu). Další činnosti rady zahrnují řízení pravidelných jednání rady včetně pořizování písemných záznamů, určování a změny priorit pro jednotlivé validace, kontrolu plnění celkového validačního plánu a jednotlivých řídicích validačních plánů.

3.3.2 Oddělení validací Pharma QA (Quality Assurance)

Oddělení validací Pharma QA připravuje validační dokumentaci (celkový validační plán včetně změn a dodatků a celkovou validační zprávu) a odpovídá za celkovou koordinaci jednotlivých validačních aktivit a schvalování kritických změn validačních aktivit.⁴

3.3.3 Ředitelé výroby, logistiky, IT a vedoucí QC (Quality Control)

Ředitelé jednotlivých útvarů a vedoucí QC jsou odpovědní za zabezpečování všech validací, kvalifikací a monitoringu, které souvisí s činností daného útvaru, oddělení nebo oblasti. Řízení validačních aktivit je vždy prováděno pro každý útvar, oddělení nebo oblast odpovídajícím řídicím validačním týmem, jehož vedoucím je vždy ředitel útvaru/ vedoucí oddělení nebo jím pověřený vedoucí pracovník.⁴

3.3.4 Řídící validační týmy

Řídící validační týmy jsou jmenovány radou jakosti jak pro stávající výrobní nebo kontrolní jednotky a oblasti validací, tak i pro nové projekty. Každý řídicí validační tým má určeného vedoucího týmu, který odpovídá za základní koordinaci celého týmu a je oprávněn vystupovat jménem celého týmu vůči ostatním firemním subjektům a vůči externím firmám.

K odpovědnostem týmu patří kontrola a schvalování validační dokumentace (validačních plánů, validačních protokolů, validačních zpráv a souhrnné validační zprávy), jmenování validačních týmů pro jednotlivé kvalifikace nebo validace a dále určování priorit pro jednotlivé validace, koordinace jednotlivých validačních aktivit, schvalování kritických odchylek, navrhování kritických změn validačních aktivit a kontrola plnění řídicího validačního plánu.⁴

3.3.5 Validační týmy

Složení validačních týmů závisí na předmětu validačních aktivit. Každý validační tým má určeného vedoucího týmu, který zodpovídá za koordinaci činností týmu, a také odpovědného zástupce, který je jmenován vlastníkem procesu/systému.

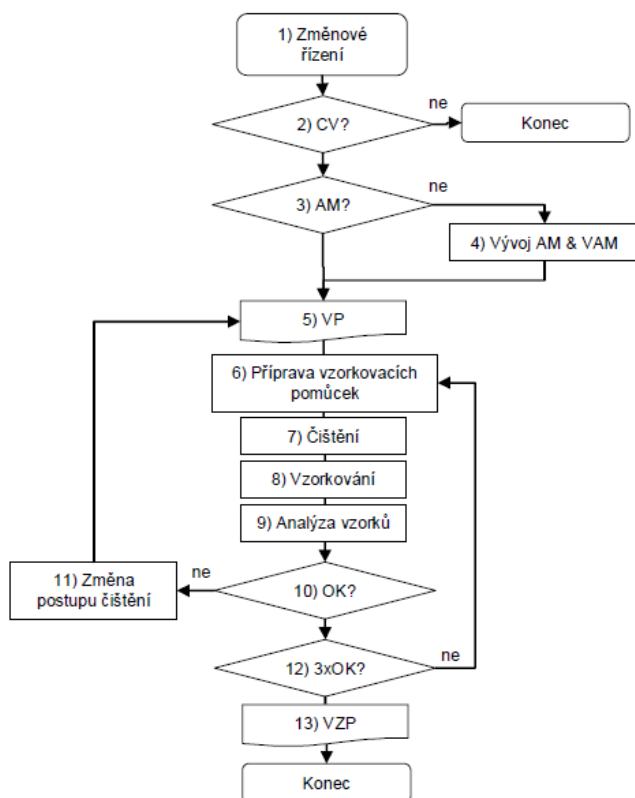
Mezi odpovědnosti týmu patří příprava validační dokumentace (validační plány, validační protokoly apod.), provádění validačních aktivit a řešení všech odchylek a změn.

3.3.6 Externí firmy

Spolupráce s externí firmou musí být vymezena smluvně. Za kontrolu dodržování všech technických smluvních závazků je odpovědný vždy ředitel nebo vedoucí pracovník příslušného útvaru respektive vedoucí příslušného řídicího validačního týmu nebo validačního týmu.⁴

3.4 Postup provedení nové validace čištění

Počáteční (nová) validace čištění (Cleaning Validation, CV) se provádí vždy minimálně na třech po sobě jdoucích hlavních čištěních po výrobě vybraného *nejhoršího případu produktu A* na vybraném *nejhorším případě zařízení*. Nová CV se provádí ve shodě s následujícím schématem (Obr. 2):⁹



Obr. 2 Schéma postupu nové validace čištění⁹

3.4.1 Změnové řízení

Je potřeba mít na zřeteli, že validace není jen jednorázový akt. Validované procesy musí podléhat tzv. změnovému řízení.

U nových projektů je způsob řízení změn popsán v odpovídajícím Řídícím plánu validací (resp. Validačním plánu). Navrhované změny mohou být hodnoceny pomocí analýzy rizik. Kritické změny jsou schvalovány vždy odpovídajícím Řídícím týmem validací.

Útvar TSA (Technical and Scientific Affair) nebo výroby musí zavést změnové řízení v systému TrackWise (TW), které bude zahrnovat i úkol pro QAV (Quality Assurance Validation

Department) na posouzení CV. Pro přípravu CV zkompletuje QAV pro každý produkt z aktuálního portfolia následující základní informace (předpoklady pro CV): ^{4,9}

- **Název produktu**
- **Název/názvy API a informace o API**
 - **LTD** (Lowest Therapeutic Dose - nejnižší terapeutická dávka) [mg]; pokud je LTD vztažena na hmotnost [mg/kg], vynásobí se hmotností dospělého člověka (50 kg - TEVA standard), pokud je vztažena na povrch těla [mg/m²], vynásobí se plochou 1,73 m²
 - **Rozpustnost** ve vodě
 - **ADE** (Acceptable Daily Exposure - přijatelná denní expozice) [μg], tj. denní dávka látky, pod kterou se neočekávají žádné nežádoucí účinky jakoukoliv cestou podání i v případě celoživotní expozice
- **Síla** [mg/jednotku]
- **Wt** (Weight - hmotnost jednotky) [g] - jednotka se určí z údaje pro dávkování v příbalovém letáku (1 tableta nebo 1 kapsle u PLF - pevné lékové formy)
- **MDD** [jednotky] - maximální denní dávka pro produkt (viz příbalový leták)
- **BS** (Batch Size - velikost šarže) [jednotky]
resp. **Wb** (Weight of batch - hmotnost šarže) [kg]
- **Technologické schéma a seznam výrobních zařízení včetně:**
 - Označení
 - Počtu kusů
 - Typů a ploch povrchů v kontaktu s produktem
 - Procedur čištění včetně použitých detergentů ⁹

3.4.2 Posouzení nutnosti validace čištění

Po zkompletování základních informací provede QAV jejich vyhodnocení a posoudí nutnost provedení nové CV, pokud je do portfolia výroby zaveden nový produkt, dojde ke změně výrobního zařízení, nebo dojde ke změně procedury čištění (např. změna čisticího prostředku).

Posouzení nutnosti CV provede QAV písemně v rámci změnového řízení v systému TW. Nová CV musí být provedena vždy, když dojde ke změně procedury čištění, když se změni *nejhorší případ API*, nebo pokud dojde ke snížení hodnot **MAC_{API}** (Maximum Allowable Carryover API) nebo **LC_{API}** (Limit of Cleanness API) tak, že výsledky aktuální CV nevyhovují novým limitům, protože se změnil *nejhorší případ produktu B*, velikost šarže *nejhoršího případu produktu B* nebo povrch zařízení.⁹

3.4.3 Posouzení nutnosti analytické metody (AM)

Na základě zkompleťovaných informací a posouzení nutnosti provedení nové CV, zpracuje QAV požadavek na posouzení nutnosti AM, který bude zahrnovat pro testování:

- API
 - název API
 - požadovaný limit čistoty LC_{API} (resp. i rozsah)
 - požadované materiály pro studii výtěžnosti
- Detergent (CA - Cleaning Agent)
 - název detergentu
 - požadovaný limit čistoty LC_{CA} (resp. i rozsah)
 - požadované materiály pro studii výtěžnosti

Požadavky předá QAV oddělení QC/TSA, které ověří existenci vhodné, validované analytické metody včetně odpovídající dokumentace.⁹

3.4.4 Vývoj a validace analytické metody

Analytická metoda (AM) se vztahuje vždy ke konkrétnímu způsobu provedení vlastní analýzy. Před provedením její validace musí existovat její detailní popis buď ve formě vydané AM (nebo odkazu na lékopis) nebo musí být její popis součástí validačního protokolu, resp. i zprávy. V případě, že nebude k dispozici vhodná analytická metoda, zabezpečí oddělení QC/TSA její vývoj, validaci a zdokumentování (vydání AM). Základní informace o analytické metodě a její validaci předá QC/TSA oddělení QAV.^{4, 9, 10}

3.4.5 Validace nelékopisných metod

Všechny nelékopisné analytické metody mají být validovány. Pro účely provádění validací se analytické metody rozdělují do těchto kategorií:

1. kategorie - metody kvantitativního stanovení
 - aktivní komponenty v léčivé látce, léčivém přípravku
 - vybrané komponenty v léčivém přípravku
2. kategorie - metody pro stanovení nečistot v léčivé látce nebo přípravku
 - kvantitativní testy pro stanovení nečistot
 - limitní test pro kontrolu nečistot
3. kategorie - procesní charakteristiky přípravku (např. disoluce)
4. kategorie - identifikační testy^{4, 10}

Tabulka 1 - Rozsah validace analytické nelékopisné metody v závislosti na její kategorii ¹⁰

Validační charakteristika	1. kategorie	2. kategorie		3. kategorie	4. kategorie
	Stanovení obsahu	Kvantitativní stanovení	Limitní test	Disoluce	Totožnost
Specifita	+	+	+	*	+
Správnost	+	+	*	*	-
Přesnost	+	+	-	+	-
Linearita	+	+	-	*	-
Rozsah	+	+	*	*	-
Detekční limit	-	+	+	*	-
Kvantifikační	-	-	-	*	-
Robustnost	+	+	+	+	+

Pro účely validace čištění se používá pouze 2. kategorie - nelékopisné metody pro stanovení nečistot v léčivé látce nebo přípravku. Lékopisné metody se rovněž nepoužívají.

3.4.6 Příprava validačního protokolu (VP)

Validační tým zkontroluje základní předpoklady pro provedení CV, tj. zda existuje aktualizovaný VMP (Validation Master Plan) a/nebo změnové řízení a také schválená procedura čištění (v případě, že není v době přípravy CV k dispozici schválená procedura, musí VP obsahovat úplný popis procedury čištění) a zda existují vhodné a validované analytické metody pro analýzy vzorků.

Před vlastní CV provede QAV analýzu rizik pro potvrzení volby *nejhoršího případu produktu A, nejhoršího případu produktu B*, kritéria přijatelnosti a limitu čistoty. Tato analýza rizik bude součástí validačního protokolu CV.

Do validačních studií má být zahrnuto i ověření maximálního času mezi koncem výroby a čištěním (dirty hold time) a ověření maximálního času, po který může být zařízení použito pro výrobu po vyčištění (clean hold time). Také má být zohledněna možnost kampaní bez čištění mezi šaržemi stejného produktu. Verifikaci čištění po kampani je možno provést po jednom čištění.

V případě, že je zařízení dedikováno k výrobě jednoho produktu nebo více podobných produktů se stejnou API, stačí ověřit rezidua detergentů a mikrobiální čistotu.⁹

3.4.7 Příprava vzorkovacích pomůcek

Po vydání VP je zahájena CV na základě plánu výroby. Všechny vzorkovací pomůcky připraví QC podle vzorkovacího protokolu, který je součástí vydaného VP, a předá je

pracovníkovi pověřenému vzorkováním. Pracovník pověřený vzorkováním musí být proškolen QC a má mít pověření (certifikát) k provádění vzorkování.

3.4.8 Čištění zařízení, jeho částí a pomůcek

Po výrobě vybrané šarže *nejhoršího případu produktu A* provedou pracovníci výroby čištění ve shodě se schváleným postupem čištění. Všichni pracovníci, kteří provádí čištění, musí být řádně proškoleni, a kopie prezenční listiny se přikládá k záznamům o provedené CV.⁹

3.4.9 Vzorkování po provedeném čištění

Po čištění provede pracovník pověřený vzorkováním odběr vzorků ve shodě se vzorkovacím protokolem. Odebrané vzorky včetně vyplněného vzorkovacího protokolu předá QC. Ke každé skupině vzorků musí být odebrán i odpovídající slepý vzorek (blank) pro případné šetření nevyhovujících výsledků. Po provedeném vzorkování musí být na vzorkovacích místech proveden poslední krok procedury čištění tak, aby byly odstraněny případné zbytky materiálů použitých při vzorkování (např. rozpouštědla nebo vlákna ze stěrových tampónů).

Za vzorkování je zodpovědný koordinátor QC. Provedení vzorkování může být delegováno na pracovníky výroby, kteří za tímto účelem musí být proškoleni a mají mít příslušné certifikáty QC pro provádění vzorkování.

3.4.10 Analýza vzorků

Pracovník QC zkontroluje vzorky a vzorkovací protokol na úplnost a správnost. Potom připraví pracovní listy podle vzorkovacího protokolu a předá je společně se vzorky analytikovi QC. Analytik QC provede analýzy vzorků dle schválené analytické metody. Supervizor QC vyhodnotí získané výsledky a porovná je s požadovanými limity uvedenými ve vzorkovacím protokolu. Po ukončení všech analýz předá QC všechny výsledky formou vyplněného vzorkovacího protokolu QAV.⁹

3.4.11 Vyhodnocení výsledků po jednom čištění

QAV provede vyhodnocení výsledků po čištění zařízení, jeho částí a pomůcek po dané šarži zvoleného produktu dle kritérií přijatelnosti uvedených ve VP.

V případě zjištění odchylky od VP se provede záznam do formuláře odchylek a provede se šetření. Dle závažnosti odchylky a nalezené hlavní příčiny rozhodne validační tým o vhodném nápravném opatření. V případě, že nelze vyloučit vliv odchylky na již vyrobené šarže produktů, musí výrobní útvar otevřít odchylku v TW.

3.4.12 Změna procedury čištění

Pokud bylo prokázáno, že odchylka je způsobena nedostatečným postupem čištění, musí být provedena změna této procedury a CV zařízení bude opakována na nových třech po sobě jdoucích cyklech čištění.⁹

3.4.13 Vyhodnocení výsledků CV

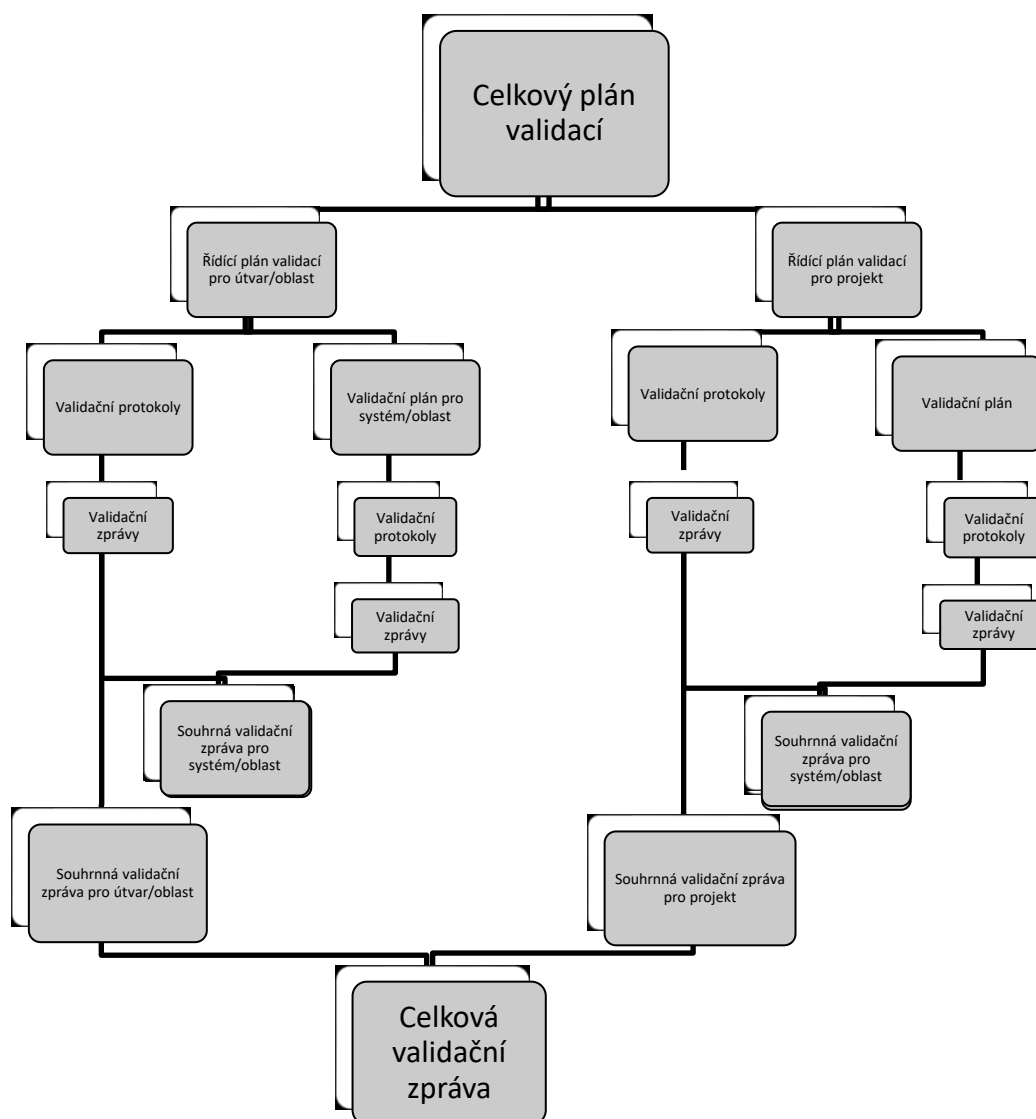
QAV průběžně kompletuje výsledky CV a po třech úspěšných po sobě jdoucích cyklech čištění uzavře provedení CV.

3.4.14 Zpracování Validační zprávy (VZP)

QAV vypracuje VZP, která se vztahuje k VP, která shrnuje všechny aktivity a vyhodnocuje dosažené výsledky s kritérii přijatelnosti.⁹

3.5 Validační dokumentace

Konkrétní schéma validační dokumentace pro zvolené časové období je vždy popsáno v Celkovém plánu validací a v Řídících plánech validací nebo Plánech validací pro jednotlivé útvary, systémy nebo oblasti. Schéma validační dokumentace nastiňuje **Obr. 3**.⁴



Obr. 3 Schéma validační dokumentace ⁴

Celkový validační plán je dokument, který je vypracováván za účelem celkového řízení validací pro firmu v daném období.

Řídící validační plán vymezuje pro danou výrobní jednotku rozsah všech plánovaných validací a verifikací.

Validační plán spolu s Řídícím validačním plánem je vypracován řídicím validačním týmem za účelem řízeného provádění validací pro vybranou oblast v daném období nebo pro nový projekt. Obsah je podobný Řídícímu validačnímu plánu.⁴

Validační protokol připravuje pověřený specialista QC-TSA pro každou naplánovanou validaci/verifikaci analytické metody. Specialisté pak provádí validace/ verifikace analytických metod dle validačního protokolu.¹⁰

Validační zprávu připraví pověřený specialista QC-TSA pro každou ukončenou validaci/verifikaci analytické metody. Název validační zprávy musí být identický s názvem validačního protokolu. Všechna data a výsledky jsou dokumentovány ve shodě s postupy QC tak, aby byly dohledatelné.

Souhrnná validační zpráva se zpracovává jako shrnující dokument k VMP nebo Validacímu plánu. Cílem tohoto dokumentu je vyhodnotit průběh, výsledky a změny pro naplánované kvalifikační a validační aktivity.

Celková validační zpráva shrnuje celkové výsledky validací pro TCI Pharma v daném období. Obsah podobný Souhrnné validační zprávě.⁴

3.6 Revalidace

Revalidace čistících procesů je buď periodická (plánovaná), nebo vynucená (vlivem změny procesu).

3.6.1 Pravidelné verifikace

V rámci pravidelných (plánovaných) revalidací postupů čištění je prováděna pouze jejich verifikace, tj. ověření pro každou skupinu zařízení po jednom čistícím cyklu za půl roku. Tato verifikace by měla být provedena na střídajících se zařízeních jedné skupiny. Verifikace se provádí podle originálního protokolu po výrobě *nejhoršího případu produktu* a její výsledek je shrnut ve validační zprávě. V případě překročení limitů přijatelnosti je nutno zhodnotit možný dopad na již propuštěné šarže.

3.6.2 Revalidace po změnách

Nepřavidelné revalidace jsou prováděny vždy po kritických změnách zařízení nebo čistící procedury. V tomto případě je rozsah stejný jako při počáteční validaci, to znamená alespoň po 3 po sobě jdoucích čistících cyklech.^{3,4}

3.7 Čištění

Čištění je fyzikálně-chemický proces, jehož cílem je odstranit kontaminanty z povrchu zařízení. Je závislé na množství nečistoty a jejím složení, na konstrukci zařízení, na kvalitě povrchu a v neposlední řadě na mechanickém a fyzikálně-chemickém působení čisticího prostředku.¹¹

3.7.1 Zařízení a pomůcky

3.7.1.1 Rozdělení zařízení a pomůcek

Pro správné vymezení programu *validace čištění (CV)* v každé výrobní jednotce je důležité zvážit pro všechny zařízení a pomůcky jejich používání pro určité produkty a jejich roli ve výrobních procesech.

Pomůcky dle způsobu užití dělíme:

- jednoúčelové (dedikované)
 - používají se pouze k výrobě jediného typu produktu (obsahujícího jednu API)
 - pro hodnocení čistoty zařízení je dostatečná vizuální kontrola
 - provádí se CV na ověření reziduí detergentů a mikroorganismů (MO)
- víceúčelové
 - používají se minimálně pro dva nebo více produktů s různými API
 - kontrola čistoty musí být ověřena CV, která zahrnuje hodnocení reziduí API, detergentů a MO⁹

Pomůcky a zařízení lze dělit také dle používání v různých procesech výroby:

Pomůcky a zařízení pro výrobu pevných lékových forem jsou uvedené v **tabulce 2** a pomůcky určené pro výrobu kapalných lékových forem v **tabulce 3**.

Tabulka 2 - Pomůcky a zařízení pro výrobu pevných lékových forem⁹

Navazování	Kontejnery, pomůcky
Suchá granulace	Sítovací zařízení, biny/ kontejnery
Vlhká granulace	Granulační zařízení, sušící zařízení, biny/ kontejnery
Tabletování	Tabletovací lis, vakuové odprašovače
Kapslování	Zařízení pro plnění kapslí, vakuové odprašovače
Třídění	Třídící zařízení
Potahování	Potahovací zařízení, tanky (hadice)
Primární balení	Plnicí/ blistrovací zařízení

Tabulka 3 - Pomůcky a zařízení pro výrobu kapalných lékových forem ⁹

Navazování	kontejnery, pomůcky
Příprava produktu	tanky, filtry, potrubní propojení
Plnění	plnicí zařízení, filtry, potrubní propojení

3.7.1.2 Povrchy zařízení a pomůcek

Konstrukční materiály těchto povrchů nesmí být reaktivní, aditivní nebo absorptivní pro zpracovávané materiály a produkty.

Jednotlivá výrobní zařízení, jejich části nebo pomůcky jsou konstruovány z nejrůznějších typů materiálů. Tyto materiály můžeme rozdělit do čtyř základních skupin (**Tabulka 4**), které byly zvoleny na základě podobnosti jednotlivých materiálů, resp. jejich povrchů.

Tabulka 4 - Skupiny konstrukčních materiálů a zástupci pro studie výtěžnosti ⁹

Skupina	Obvyklý zástupce skupiny	Konstrukční materiál
Hladké tvrdé materiály	Nerezová ocel 316 L	Nerezová ocel 316 L, 304 L Chromovaná ocel Sklo
Neleštěné tvrdé materiály	Legovaný hliník	Neleštěná nerez Legovaný hliník Bronz Kovové slitiny
Měkké plasty	Polyuretan	Silikon Guma Polyuretan Materiál pro membrány
Tvrdé plasty	Polyamid (Teflon)	Polyamid (Nylon, Oilon) Polytetrafluoroethylen (Teflon) Polycarbonát (Lexan) Polyoxymethylen Polymethylmethakrylát (Plexiglas) Polyethylen-tereftalát-glycol Bakelit

Musí být zkompletovány všechny informace o plochách povrchů jednotlivých částí zařízení a pomůcek pro výpočty limitů reziduí nečistot. Tyto informace se získají buď od výrobce zařízení, nebo se provede výpočet (odhad) plochy příslušného povrchu.⁹

3.7.1.3 Výběr zařízení a pomůcek pro CV

V rámci CV se ověřují všechna zařízení, jejich části a pomůcky, které jsou používány k výrobě vybraných produktů (tzv. *nejhorších případů* z pohledu CV). V případě, že se k výrobě daného *nejhoršího případu produktu* používá více podobných zařízení (které se používají alternativně ve stejném technologickém kroku, pracují na stejném principu zpracování a čistí se stejným postupem), provede se výběr *nejhoršího případu zařízení* podle následujících pravidel:

- Zařízení má největší plochu, která je v kontaktu s hodnocenými rezidui
- Zařízení má nejrůznorodější skupiny konstrukčních materiálů

V případě, že se *nejhorší případ produktu* vybraného pro CV nevyrábí na všech zařízeních, vybere se pro zbývající zařízení další nejhorší produkt tak, aby byl splněn požadavek pro provedení CV pro všechna zařízení, jejich části a pomůcky.⁹

3.7.2 Čistící prostředky a pomůcky

3.7.2.1 Čistící prostředky

Základním kritériem pro výběr sanitačního či desinfekčního prostředku je ve farmaceutickém průmyslu účinnost a bezpečnost. Pokud má přípravek největší efektivitu při nízké koncentraci účinné látky, je rovněž výhodný z ekonomického hlediska. Důležitými vlastnostmi jsou také nízká toxicita, omyvatelnost a prostředky by neměly způsobovat korozi. Používané čistící prostředky jsou shrnuty do **tabulek 5 a 6**.¹²

Tabulka 5 - Čistící prostředky pro výrobní zařízení^{13, 14, 15, 16}

Užitková voda	Používá se pouze v omezené míře pro hrubé mytí.
Čištěná voda (PW)	Specifikace USP, OEX0005433
Extran MA02	Roztok detergentu pro ruční mytí. Je vhodný pro čištění materiálů citlivých na zásady (např. hliník, zinek, některé slitiny) - neutrální detergent
Extran AP22	Detergent okyselený kyselinou citronovou (kyselý detergent)
Meral Zentra	Čistící prostředek pro CIP a WIP jednotky (alkalický čistící prostředek)
Meralit CIP	Detergent pro CIP a WIP čisticí jednotky (kyselý detergent)
Bezvodý ethanol	Specifikace EP
Ethanol 96%,	Specifikace EP
Ethanol 70%	Specifikace EP

Tabulka 6 - Čisticí prostředky pro pracovní prostředí^{17, 18, 19, 20, 21, 22}

COSA CIP 95	Alkalický čisticí prostředek pro farmaceutický průmysl. Vhodný pro systémy CIP a vysoce účinný k odstraňování organických nečistot
SAVO Prim	Alkalický detergent k univerzálnímu čištění
Dyclean	Alkalický detergent
Meral Steril	Slabě alkalický čisticí a dezinfekční prostředek na bázi kvartérních sloučenin
Fixinela	Směs kyseliny fosforečné, aniontového tenzidu, barviva a vody
Peresal	Kyselý detergent obsahující kyselinu peroctovou a peroxid vodíku
Meral steril Mild	Kombinovaný čisticí a desinfekční přípravek na bázi kvartérních amonných sloučenin

3.7.2.2 Čisticí pomůcky

Používané pomůcky můžeme rozdělit dle charakteru na jednorázové (např. jednorázová bezúletová utěrka, jednorázový kartáč) a na pomůcky, které mohou být použity vícekrát (např. stříčky, kbelíky). Tyto čisticí pomůcky se používají k manuálnímu čištění drobných výrobních pomůcek, palet, kontejnerů a demontovatelných částí zařízení.¹³

3.7.3 Procedury čištění

Slouží k odstraňování reziduí z povrchu zařízení nebo vybavení za účelem dosažení čistoty (tj. zvoleného kritéria čistoty). Schopnost úspěšně očistit zařízení závisí na rozpustnosti látek, které mají být čištěním odstraněny v průběhu mytí a vyplachování. U látek snadno rozpustných ve vodě (nebo v jakémkoliv použitém čisticím rozpouštědle) je dostatečné několikanásobné mytí s následným oplachem. Látky těžce rozpustné se nejvhodněji odstraní z povrchu mechanickým způsobem (trysky, míchadla, stěrky apod.). Schopnost odstranit relativně nerozpustné látky může být zvýšena přidávkou povrchově aktivních látek nebo organických rozpouštědel do čisticího média.

3.7.3.1 Výběr vhodné procedury

V rámci CV se ověřují všechny procedury čištění zařízení, jejich části a pomůcek, které jsou používány k výrobě vybraných produktů (tzv. *nejhorších případů* z pohledu CV). V případě, že u jednoho zařízení se používá více procedur čištění v závislosti na předem vyráběném produktu, musí být validována každá z těchto procedur.⁹

3.7.3.2 Manuální, poloautomatické, automatické procedury

Podle způsobu provedení jsou rozlišovány čisticí procedury:

Manuální čištění - Nejvíce závisí na operátorech a jejich pečlivosti. Dobře popsané a prováděné procedury manuálního čištění mohou být často dostatečné, avšak je nezbytné je kontrolovat po každém provedení.

Poloautomatické čištění - Jsou zde využívány přenosné automatické mycí systémy (COP - Cleaning Out of Place) nebo myčky. Tyto poloautomatické postupy čištění se běžně využívají k mytí kontejnerů a rozebratelných částí zařízení.⁵

Automatické čištění - Procedury automatického čištění nabízejí obrovskou výhodu ve zlepšení reprodukovatelnosti. Na druhé straně omezují možnost zásahu operátora, což zvyšuje nároky především na dokonalé navržení a zvalidování takových systémů. Mezi plně automatizované čisticí systémy patří systém CIP (Cleaning In Place) navržený a konstruovaný pro velká stacionární zařízení.

Základním požadavkem pro CIP je zabezpečení omyvatelnosti všech vnitřních ploch zařízení, proto je vlastní čištění uvnitř zařízení zabezpečováno pomocí nainstalovaných mycích hlav (osazených tryskami). Jako příklad může sloužit popis kroků automatické procedury čištění v **tabulce 7**.³

Tabulka 7 - Příklad popisu kroků procedury čištění ⁹

Krok	Název	Prostředek, koncentrace	Množství [l]	Teplota [°C]	Čas [min]	Pomocný systém	Instrukce
1	Proplach	Užitková voda (teplá pitná)	300	10 – 40	30	CIP	proplach s otevřeným výpustným ventilem
2	Alkalické mytí	P3 - MIP – CIP, 2 %	50	60 - 70	15	CIP	cirkulace se zavřeným výpustným ventilem
3	Proplach	Užitková voda (teplá pitná)	50	10 – 40	5	CIP	proplach s otevřeným výpustným ventilem
4	Neutralizace	MERALIT CIP	50	10 – 30	5	CIP	cirkulace se zavřeným výpustným ventilem
5	Proplach	Čištěná voda	200	10 – 30	20	CIP	proplach s otevřeným výpustným ventilem
6	Vysušení	Stlačený vzduch	-	Max. 80	10	CA	zařízení se vyfukuje stlačeným vzduchem a současně se ohřívá

3.7.3.3 Operační a procesní kvalifikace mycího zařízení pro PLF

Kvalifikace (Qualification) - je zdokumentované ověření, že prostory a zařízení jsou vhodné pro zamýšlený účel.

Mycí zařízení se používá pro automatické čištění a sušení transportních kontejnerů (binů apod.) a má následující charakteristiky:

- mycí komora
 - typy vsádek
 - 1 zásobník, kontejner, bin (~2000 l)
 - 1 až 4 bubny, koše (50, 100, 200 l)
 - vybavení
 - pohyblivá mycí hlavice s orbitálním pohybem pro čištění vnitřních ploch kontejnerů
 - nasazovací směrové trysky pro čištění vnitřních ploch košů,
 - pevné směrové trysky pro čištění vnějších ploch kontejnerů
- sušicí komora se směrovými sušicími tryskami a ohřevem
- pomocné systémy
 - napojení na zásobník PW
 - pumpa s regulovaným průtokem
 - dávkovací systém pro detergenty
 - systém sušícího dusíku
- řídicí systém
 - monitorovací, kontrolní a regulační čidla (objem, tlak, teplota a vodivost)
 - ovládané ventily a pumpa
 - zabudovaný průmyslový kontrolní systém pro regulaci a řízení procesu, vizualizaci, monitorování a zpracování dat
- čisticí procedury
 - nastavení a řízení pomocí konfigurovatelného softwaru
 - hrubé mytí PW
 - regulace teploty a času
 - kontrola teploty a tlaku
 - čištění roztokem detergentu v PW
 - regulace teploty a času
 - kontrola teploty a tlaku
 - sušení dusíkem
 - regulace teploty, tlaku a času³

3.7.3.3.1 OQ mycího zařízení

Operační kvalifikace (OQ - Operational Qualification) - je zdokumentované ověření, že systém, subsystém nebo zařízení pracují v předpokládaných operačních rozmezech.

Cílem OQ je dokázat, že mycí zařízení je funkční, pracuje ve specifikovaných limitech a provádí všechny specifikované funkce. K dosažení tohoto cíle byly navrženy následující obecné a specifické testy, které jsou platné pro všechny mycí zařízení.⁴

Prokázání funkčnosti potrubního systému - Pro testování se používá procedura s postupným zvyšováním tlaku a v průběhu procedury čištění se kontroluje úbytek kapalin v zásobnících a úkapy v místech nainstalovaných prvků a spojů.

Kontrola těsnosti - Předmětem je prokázat těsnost potrubního systému mezi zásobníkem PW a mycím zařízením pro specifikované tlaky. Test se provede alespoň jednou při přetlaku. Pro provedení testování se použije externí zkalibrovaný tlakoměr připojený na počítač a zapisovač.

Ověření měřidel - Předpokládá se, že řídicí systém byl již kvalifikován včetně kalibrace měřidel a odpovídajících smyček. Za provozu se ověří měřidla tlaku, teploty, objemu a vodivosti. Ověření interních měřidel se provede vždy porovnáním hodnot změřených externími měřidly.

Prokázání funkčnosti systému - Prokázání správného a přesného dosahování všech parametrů (teploty, tlaku, vodivosti, času) během procedur čištění. Použijí se nejméně 3 procedury čištění.³

3.7.3.3.2 PQ mycího zařízení

Procesní kvalifikace (PQ - Performance Qualification) - je zdokumentované ověření, že prostory, systémy a zařízení pracují podle plánu a splňují předem stanovená kritéria přijatelnosti.⁴

Vlastní provedení PQ mycího zařízení se vykonává po OQ (tj. po ověření funkčnosti zařízení). Cílem PQ je demonstrovat, že mycí zařízení standardně pracuje ve specifikovaných limitech a umožňuje reprodukovatelné provádění účinné procedury čištění.

Ověření standardního provozu systému - Předmětem je prokázání standardnosti všech parametrů během procedur čištění a prokázání reprodukovatelnosti provozu pro nejméně 3 cykly zvolené procedury čištění.

Prokázání účinnosti čištění - Prokázání očištění všech vnitřních ploch kontejnerů a bubnů a ověření účinnosti čištění pro každý jejich typ.

Vnitřní povrch kontejnerů a bubnů se postříká min. 100 ml 1 % roztoku fluoresceinu a pomocí UV lampy se provede vizuální kontrola. Každý typ kontejneru se očistí zvolenou procedurou čištění. Pomocí UV lampy se provede vizuální kontrola čistoty a z posledního oplachu se odebere vzorek. Výsledky by měly vyhovět kritériím přijatelnosti.³

3.7.3.3.3 Rekvalifikace

V rámci pravidelných (plánovaných) rekvalifikací zařízení/přístrojů jsou prováděny OQ a PQ, přičemž jejich rozsah závisí na způsobu jejich používání, hodnocení průběžných kontrol a údržby.

Nepravidelné rekvalifikace jsou prováděny vždy po kritických změnách těchto zařízení/přístrojů, resp. při dlouhodobě nevyhovujících výsledcích průběžných kontrol nebo údržby.^{3,7}

3.7.3.4 Redukce mikrobiální kontaminace

Validace čištění je zaměřena především na hodnocení přenosu chemických reziduí z jednoho produktu na druhý. Důvodem k tomu je skutečnost, že tato chemická rezidua nejsou předmětem rutinní kontroly a musí být tedy ověřeno a dokázáno, že jsou pod dostatečnou kontrolou.

V případě mikrobiálních reziduí je situace jiná. Zkoušky na mikrobiální čistotu nebo sterilitu se provádějí jako součást kontroly konečného produktu a mikrobiologický monitoring zahrnuje i kontrolou používaných surovin, obalových materiálů, výrobního prostředí a personálu.

Riziko mikrobiální kontaminace léčiv je natolik významné, že mu požadavky GMP věnují velkou pozornost, a to nejen při výrobě sterilních léčiv. Důraz je kladen především na kontrolu nárůstu mikroorganismů během skladování zařízení po jeho vyčištění.³

3.7.3.4.1 Riziko mikrobiální kontaminace

Riziko má být zváženo v rámci přípravy celkového programu čištění, protože ovlivňuje mikrobiální jakost všech produktů. Požadavky na maximální přípustnou kontaminaci a druh mikrobiální kontaminace přímo souvisí s charakteristikou produktů, které lze dělit do různých skupin, například podle:

- mikrobiální jakosti:
 - sterilní
 - terminálně sterilizované
 - asepticky vyráběné
 - nesterilní
- typu lékové formy:
 - kapalně (roztoky, suspenze)
 - polotekutě (gely, masti, krémy)
 - pevně (tablety, kapsle)

- typu produktu:
 - krevní deriváty (viry, mykoplasmata)
 - očkovací látky (příbuzné patogeny)
 - infuzní roztoky (pseudomonády)
 - orální produkty (salmonely)
 - oční kapky (chlamydie)
 - vaginální tablety (kvasinky, plísňe)

Obecně se vyžaduje nepřítomnost patogenních mikroorganismů pro všechny produkty. Specifické testy obvykle zahrnují např. *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella* aj.

Následující příklady uvádí možný přístup k hodnocení rizik mikrobiální kontaminace:

- pro biotechnologickou výrobu je přítomnost jiných mikroorganismů problematická z pohledu:
 - výtěžku
 - jakosti produktu (nečistoty)
 - ohrožení životního prostředí
- čištění a sterilizace v aseptické výrobě mají zabránit:
 - jakékoliv mikrobiální kontaminaci
 - přenosu endotoxinů do produktu
- posouzení vlivu mikroorganismů:
 - stabilitu produktu
 - biodostupnost účinné látky ³

3.7.3.4.2 Změny mikrobiální kontaminace

Významný rozdíl mezi mikrobiální a chemickou kontaminací spočívá v tom, že chemická rezidua jsou přenášena do produktu v nezměněné formě. To znamená, že při výskytu chemického rezidua na povrchu zařízení lze relativně snadno vypočítat potenciální kontaminaci následně vyráběného produktu (za předpokladu uniformního znečištění). Oproti tomu mikrobiální rezidua se chovají jinak, protože může dojít k jejich nárůstu po vlastním čištění zařízení. Z toho důvodu zde hrají klíčovou roli skladovací podmínky pro vyčištěné zařízení a pokyny FDA a PIC/S proto zdůrazňují, aby zařízení bylo před dalším skladováním vždy vysušeno.

Rovněž povaha následně vyráběného produktu může změnit úroveň mikrobiální kontaminace. Pokud je vyráběn produkt s nízkým obsahem vody, předpokládá se, že úroveň mikroorganismů v takových produktech se nebude zvyšovat.

Na druhé straně, pokud se jedná o přibližně neutrální vodný produkt bez konzervačních látek, lze očekávat nárůst mikroorganismů. V případě, že produkt obsahuje konzervační látky

nebo alkohol, pak změna mikrobiální zátěže bude minimální nebo může během skladování dokonce dojít k jejímu snížení. Tyto skutečnosti rovněž vyžadují pečlivé zvážení limitů pro mikrobiální kontaminaci při validaci čištění.³

3.7.3.4.3 Redukce mikrobiální kontaminace

Pro dosažení přijatelné úrovně mikrobiální kontaminace se ve výrobě uplatňuje řada opatření a činností, mezi které patří:

- správně navržené zařízení
 - snadné čištění, sanitace, sterilizace, depyrogenizace
 - eliminace mrtvých míst (praskliny, štěrby), kde
 - mohou být mikroorganismy chráněny
 - dochází k nárůstu mikroorganismů
- vhodné čisticí procesy, které odstraňují nejen chemická rezidua, ale vytváří nevhodné nebo nepříznivé prostředí pro mikroorganismy
 - alkalické/ kyselé čisticí roztoky
 - zvýšená teplota (> 60°C)
 - použití povrchově aktivních látek pro
 - smáčení mikroorganismů
 - usnadnění odstraňování mikroorganismů
 - poslední oplach pomocí PW (Purified Water) /HPW (Highly Purified Water) /WFI (Water for Injections) s vysušením povrchu zařízení
- použití desinfekčních prostředků
 - kyselina peroctová, kvartérní amoniové soli apod. - s oplachem zařízení
 - peroxid vodíku, alkoholy - do zaschnutí
- použití páry pro redukci MO nebo sterilizaci zařízení³

3.7.3.4.4 Limity pro mikrobiální kontaminaci

Úroveň přípustné biozátěže po čištění před výrobou následného produktu závisí na typu produktů.

Limity pro produkty připravované za aseptických podmínek - Povrchy zařízení pro asepticky připravované produkty mají být sterilizovány před výrobou. Hlavní důraz je zde položen na sterilizaci zařízení, při které se musí vzít do úvahy biozátěž na povrchu zařízení před sterilizací. Dalším problémem je možnost ovlivnění úrovně endotoxinů. Pokud je zařízení sterilizováno parou, mohou endotoxiny zůstat na jeho povrchu a jejich úroveň má být zvážena a kontrolována.

Limity pro terminálně sterilizované produkty - Klíčovou otázkou pro terminálně sterilizované produkty je maximální mikrobiální zatížení produktu před sterilizačním krokem. Bohužel povrch zařízení není jediným zdrojem biozátěže, protože použité suroviny a obalové materiály rovněž přispívají k celkové biozátěži produktu. Proto před sterilizací celková biozátěž musí být menší než specifikovaný limit.

Limity pro nesterilní produkty - Vždy existuje určitá biozátěž, která je v produktech přípustná a která se hodnotí ve shodě s lékopisy. Tato kontrola se obvykle doplňuje mikrobiálním monitoringem a kombinací těchto výsledků se pak prokazuje vhodnost podmínek výroby pro nesterilní produkty.³

3.7.3.4.5 Kritérium přijatelnosti

Kritérium přijatelnosti pro mikrobiální kontaminaci při validaci čištění má zahrnovat limit pro maximální počet CFU (Colony Forming Unit)/ stěr nebo kontaktní destičku, který má být založen na rozboru příspěvků k celkové zátěži produktu nebo na limitu pro sterilizační proces. Také by měla být provedena identifikace zjištěné kontaminace a kritérium přijatelnosti by mělo zahrnovat požadavek na nepřítomnost vybraných mikroorganismů.

Jako limity pro kritéria přijatelnosti lze uvádět extrémní hodnoty, které se při rutinním procesu nebudou obvykle vyskytovat.

3.7.3.5 Monitorování a dokumentace

Monitorování čištění - Je potřeba monitorovat čistotu zařízení po každém čištění. Monitorují se rovněž kritické parametry jako průtok, tlak, teplota, pH a vodivost. Deklarované rozmezí parametrů je stanoveno při operační kvalifikaci.³

Dokumentace - Jsou to veškeré standardní písemné dokumenty, které předepisují, jak se mají jednotlivé činnosti vykonávat a popisují, jak byly ve skutečnosti provedeny.

Patří sem:

- Výrobní a kontrolní předpisy
- Standardní operační postupy (SOP)
- Záznamová dokumentace (formuláře)

3.8 Hodnocení čistoty zařízení a pomůcek

Čistota by mohla být chápána jako nepřítomnost reziduí. V praxi je ovšem velmi obtížné prokázat absolutní nepřítomnost kontaminantů, proto je čistota definována jako nízká kontaminace, která je menší než určitá limitní koncentrace reziduí (*kritérium přijatelnosti*), za použití předepsané metody testování.³

3.8.1 Kontaminace a rezidua

Kontaminace (znečištění) vyjadřuje množstvím reziduí v prostředí, zařízení nebo v materiálu. Můžeme ji vyjádřit jako koncentraci reziduí na určité ploše (*plošná kontaminace*) nebo v určitém objemu (*objemová kontaminace*).

V rámci validace je nutné také vysvětlit způsob, kterým se rezidua dostala na sledovaný povrch nebo do určitého materiálu a prostředí. Zda došlo ke kontaminaci před čistící procedurou nebo během ní.³

Rozlišení kontaminace dle povahy reziduí:

- fyzikální - mechanická
- chemická - rozpustná
- biologická

Rozlišení kontaminace dle rozptylu reziduí:

- stejnoměrná - jednoduché vzorkování, snadná kvantifikace
- nestejnoměrná - je nutné pečlivě volit vzorkování, velmi obtížná kvantifikace

Rezidua účinné látky (API) - jsou přenesena na povrch zařízení obvykle z předcházejících výrobních činností. Musí být přednostně odstraněny z důvodu účinku na pacienta a to tak, aby jejich úroveň nezpůsobovala nežádoucí terapeutický efekt. V případě výskytu více API je požadována nepřítomnost každé z nich.^{3,9}

Rezidua rozkladných produktů API - všechny látky, které vykazují aktivní účinek na pacienta a které mohou vzniknout během výroby nebo stykem API s mycími prostředky, musí být rovněž přednostně odstraněny.

Rezidua pomocných látek - excipienty, lubrikanty, barviva apod. a jejich rozkladné produkty.

Rezidua částic - Nerozpustné částice jako prach, vlákna apod., které způsobují viditelné defekty léčiv.

Rezidua technických prostředků - mazadla, tuky, oleje používané pro správnou činnost a údržbu zařízení mohou být rovněž zdrojem kontaminace.³

Rezidua čistících a sanitačních prostředků - detergenty jsou látky (nebo jejich směsi), které jsou používány k mytí povrchů zařízení. Pro provozní účely je nutné znát složení těchto prostředků (nebo alespoň hlavní složky) a hodnotu *letální dávky* (*LD₅₀*). V TCI Pharma jsou používány k čištění detergenty, které jsou uvedeny v hygienických rádech jednotlivých útvarů.

V rámci CV jsou hodnocena rezidua naposledy použitého detergentu, který je používán pro čištění zařízení, jeho částí nebo pomůcek. Do stejné kategorie patří i dezinfekční prostředky (tj. látky s antimikrobiálními účinky). V případě, že je však jako dezinfekční prostředek používán roztok etanolu, u kterého se předpokládá jeho účinek do zaschnutí, nejsou jeho rezidua v rámci CV hodnocena.

Rezidua mikroorganismů - přítomnost MO představuje obecný problém výroby léčivých přípravků. MO mají být důsledně odstraňovány tak, aby nekontaminovaly následně vyráběné produkty. Pro jejich odstranění z povrchu zařízení, jejich částí a pomůcek je nutné zvážit i podmínky pro jejich množení (voda, teplota, živiny).

Rezidua pyrogenů - látky, které způsobují zvýšení tělesné teploty a které vznikají vlivem mikroorganismů (endotoxiny) nebo chemickými pochody.^{3,9}

3.9 Vzorkování

3.9.1 Výběr vzorkovacích míst

Výběr vzorkovacích míst se provádí na základě vyhodnocení kritičnosti z pohledu čištění celkového povrchu zařízení, jeho částí nebo pomůcek. Pro výběr vzorkovacích míst mají být v TCI Pharma dodržena následující pravidla:

- pro jedno zařízení mají být odebrány minimálně:
 - 3 vzorky pro rezidua API
 - 3 vzorky pro rezidua detergentu
 - 1 mikrobiologický stěr
- pro jednoduché zařízení, případně pro jednotlivé části (např. násypka) zařízení nebo pomůcek mají být odebrány minimálně:
 - 1 vzorek pro rezidua API
 - 1 vzorek pro rezidua detergentu
 - alespoň 1 mikrobiologický stěr
- místo vzorkování má představovat nejhůře čistitelné místo na daném zařízení (pokud je možné toto místo ovzorkovat)
- pokud je povrch zařízení tvořen různými materiály, mají být pro vzorkování vybrány zástupci jednotlivých povrchů (pokud není zdůvodněno jejich vynechání např. z důvodu minimálního kontaktu s produktem)

Pro vlastní provedení CV je nezbytné ve validačním protokolu uvést detailní vzorkovací plán, tj. pro každé zařízení, jeho část nebo pomůcku určit vzorkovací místa včetně jejich popisu (fotografie, schématu), uvést vzorkované reziduum, metodu a plochu vzorkování.⁹

3.9.2 Výběr vzorkovací metody

Pro samotné vyhodnocení rozsahu kontaminace je nutné použít vhodné a spolehlivé vzorkovací postupy, jejichž účinnost byla předem ověřena. Mezi základní metody vzorkování používané pro CV patří:

- vizuální kontrola
- chemické stěry
- oplachy

Pro správné provádění vzorkování má být dodrženo uvedené pořadí vzorkovacích metod, aby nedošlo ke znehodnocení vzorků nebo k jejich kontaminaci.^{3,9}

3.9.3 Vizuální kontrola

Použití vizuální kontroly povrchu zařízení, jeho částí nebo pomůcek poskytuje prvotní, subjektivní odhad o jejich čistotě. Tento způsob je užitečný jako první krok k vyhodnocení kvality čištění. Kontrola se provádí pozorováním celého povrchu zařízení nebo jeho částí nebo povrchu pomůcky pod vhodným úhlem při dostatečném osvětlení bílým světlem případně za použití lampy. Požadavek na vizuální kontrolu je všude tam, kde je tato kontrola proveditelná.⁹

3.9.4 Vzorkování stěrem - chemické stěry

Pro hodnocení chemických reziduí je preferována stěrová metoda vzorkování.

Stěry přístupných ploch - Provádí se z určitého místa za použití šablony (předem definovaná plocha - obvykle 25 nebo 100 cm²) a tamponů nebo jiných specializovaných stěrek. Ty jsou obvykle navlhčeny vodou nebo jiným rozpouštědlem. Vzorek je snadno dostupný, ovšem nemusí být spolehlivým důkazem čistoty celého zařízení.

Stěry nepřístupných ploch - tj. místa okolo šroubení či štěrbin, jsou pro odběr vzorků nejproblematičtější. Vzorkovací plocha je variabilní, kvantifikace těchto vzorků je téměř neproveditelná.

Před vlastním provedením CV má být ověřena validací vhodnost stěrových tampónů či stěrek a vhodnost analytické metody.^{3,9}

3.9.5 Vzorkování oplachem

V případě, že plochy zařízení jsou nedostupné a není tak možné provést vzorkování pomocí stěrů, lze použít oplachovou metodu vzorkování.

Vzorek se v této metodě může odebrat z poslední dávky posledního oplachu zařízení nebo případně z oplachu, který se aplikuje až po provedené proceduře čištění. Jestliže látky jsou nerozpustné ve vodě, lze využít k jejich rozpuštění jiné specifické rozpouštědlo a po provedeném vzorkování se musí provést alespoň poslední oplach zařízení (resp. celá procedura čištění). Pokud jsou látky nerozpustné v oplachovací tekutině, je tento postup nespolehlivý.

3.9.6 Vzorkování pomocí placebo/produktu

Vzorkování pomocí placebo nebo následného produktu nejlépe indikuje, co by mohlo být přeneseno do následujícího procesu. Bohužel je tento postup drahý vzhledem k nákladům na materiály a čas.^{3,9}

3.9.7 Vzorkování - mikrobiální kontaminace

Při vzorkování mikrobiální kontaminace je vždy nezbytné dbát na časový faktor, aby nedocházelo ke zkreslení získaných výsledků. Vzorkování pro otestování výskytu mikroorganismů na povrchu zařízení lze provést jednou z těchto metod:

3.9.7.1 Kontaktní destička

Jako kontaktní destičky se používají plotny nebo filmy pokryté agarem (RODAC, Replicate Organism Detection and Counting), které mají konkávní (vypouklý) povrch (obvykle 25 cm²). Destička se přiloží na vzorkovanou plochu a provede se otisk tak, aby se celý povrch agarů dotýkal povrchu. Potom se vzorek uzavře, označí a nechá se inkubovat za vhodných podmínek po předepsaný čas. Po inkubaci se spočítají narostlé kolonie a stanoví se úroveň mikrobiální kontaminace na jednotku plochy (na plochu zařízení).

výhody:

- výhodné pro ploché povrchy, hodí se pro kvantitativní analýzu
- jednorázové použití, komerčně dostupné
- lze použít inaktivační látky pro eliminaci desinfekčních činidel

nevýhody:

- nehodí se pro nepravidelné povrchy
- nesmí dojít k vyschnutí agarů
- zbytky agarů musí být odstraněny

výtěžnost: ~ 50 %

3.9.7.2 Stěr tampónem

Pro hodnocení mikrobiální kontaminace se provádí stěry pomocí sterilních vatových tampónů z plochy 100 cm². Tyčinka se vloží do sterilního média, zalomí a uzavře. Tampón se pouze vloží a uzavře. V laboratoři se médium rozočkuje na agarové plotny nebo do živného roztoku, označí a nechá inkubovat za vhodných podmínek po předepsaný čas. Po inkubaci se spočítají narostlé kolonie a stanoví se úroveň mikrobiální kontaminace.

výhody:

- vhodné pro všechny povrchy
- jednoduché použití
- lze použít i pro silně kontaminovanou oblast

nevýhody:

- vhodnější spíše pro kvalitativní posouzení
- správnost závisí na pracovní technice a rozočkování
- výluhy z vaty mohou inhibovat některé mikroorganismy

výtěžnost: 25 - 50 %

3.9.7.3 Oplach

Může se provést odběr tekutiny z posledního oplachu, nebo se ovzorkuje oplachem část zařízení. Hodnotí se pomocí metody membránové filtrace. Filtr se asepticky vyjme a vloží se na živnou půdu, kde se inkubuje. Obdobně lze provést testování endotoxinů.

výhody:

- umožňuje testování objemných vzorků
- lze detekovat i nízké hladiny kontaminace
- jedná se o kvantitativní hodnocení

nevýhody:

- problematický přepočítání na plochu

výtěžnost: < 25 %^{5, 10}

3.10 Metody testování

Způsob vyhodnocení kontaminace (plošné nebo objemové) úzce souvisí se způsobem přípravy odebraného vzorku k testování a s výběrem metody testování. Odebraný vzorek je obvykle nutné připravit pro podmínky testovací metody:

- přímé měření (citlivé testovací metody)

- zakoncentrování vzorků (chromatografie, extrakce, elektroforéza)
- chemické reakce (mineralizace, specifické reakce, barevné reakce)

Testovací metoda pro zhodnocení rozsahu kontaminace je volena vždy podle povahy sledovaných reziduí. Vždy je nutné zajistit, aby použitá metoda byla validována pro dané testování. V opačném případě nelze zaručit důvěryhodnost dosažených výsledků a závěrů z nich plynoucích.

Mezi běžné testovací metody patří:

- **stanovení obsahu** - specifické a citlivé metody (HPLC - vysoce účinná kapalinová chromatografie, GC - plynová chromatografie, MS - hmotnostní spektrometrie aj.)
- **stanovení celkového C, N, apod.** - odhad sumy látek, nutná korelace s jinými metodami
- **spektrální metody** - UV, VIS, IR, fluorescence, jednoduché testy pro stanovení organických látek
- **pH nebo iontové selektivní elektrody** - stanovení iontových látek v posledním oplachu
- **měření osmózy nebo konduktivity** - vhodné metody pro nízké koncentrace iontových látek ⁸

3.11 Vyhodnocení kontaminace - kritéria přijatelnosti a limity čistoty

Kritéria čistoty lze odvodit na základě předpokladů o účinku látek na pacienta nebo z bezpečnostních požadavků. Významnou úlohu při nastavení kritéria čistoty má tzv. *bezpečnostní faktor*. Jeho vliv bude menší v případě čištění mezi šaržemi téhož produktu v rutinní produkci a naopak bude vysoký při střídání šarží různých produktů, zvláště při vývoji nových přípravků.³

Procento nejnižší terapeutické dávky (LTD) - Tato metodika využívá pro nastavení limitu terapeutickou dávku spolu s bezpečnostním faktorem (0.01 %-10 %).

Procento toxické dávky - Pro látky, kde nejsou specifikovány terapeutické dávky, je možno vycházet z toxicity a bezpečnostního faktoru. Pro API se používá při výzkumných a vývojových pracích.

Nedetekovatelné množství - Limit souvisí se specifikou analytických postupů. Tento typ limitu přináší nesnáze, není-li stanovena jeho numerická hodnota, neboť analytické metody se vylepšují.

Objemová nebo plošná koncentrace - Vyjádření předchozích kritérií v analytických rozměrových jednotkách (mg/l, ppm).

Logaritmické snížení koncentrace (rychlost čištění) - Výpočet násobného poklesu koncentrace v důsledku čistícího postupu. Tato metodika vyžaduje vzorkování a testování výrobního zařízení jak před čištěním, tak po čištění.

Bezpečnostní požadavky na koncentraci látek - Limity ochrany životního prostředí, hygienické a jiné limity.⁵

Volba kritéria čistoty úzce souvisí s povahou vyráběných produktů (účinek na pacienta, bezpečnost apod.) a způsobem výroby (množství šarže, střídání šarží, zařízení apod.).

Limit reziduí na povrchu zařízení je vypočtená (teoretická) hodnota pro maximální množství reziduí na povrchu zařízení (MAC) které lze ještě připustit po provedeném čištění, aniž by mohla být ovlivněna jakost následně vyráběného produktu.^{5, 10}

3.11.1 Rezidua API

3.11.1.1 Kritérium přijatelnosti pro rezidua API

Při stanovení kritéria přijatelnosti pro rezidua API je nutné vypočítat tzv. *maximální přípustný přenos množství API* neboli *maximální množství kontaminantu na povrchu zařízení* (MAC_{API} - Maximum Allowable Carryover API) pro *nejhorší případ produktu A* a pro *nejhorší případ produktu B*.

Výpočet MAC_{API} pro jednotlivá zařízení je proveden na základě předpokladu uniformního rozdělení nečistot na vnitřních površích zařízení. Tento předpoklad představuje nejhorší případ při posuzování čistoty zařízení. Pokud totiž při neuniformním znečištění budou všechny vzorky (zvláště ty s největším obsahem nečistot) vyhovovat přísnému limitu vypočtenému pro uniformní znečištění, lze považovat zařízení za dostatečně čisté.^{5, 9}

Nejhorší případ produktu A (Worst case product A)

Výběr se provádí na základě následujících pravidel:

- vybere se skupina nejméně rozpustných API (na základě lékopisné kategorizace rozpustnosti dle USP, EP - viz **Tabulka 8**)

Tabulka 8 - Lékopisné označení kategorií rozpustnosti látek ²³

Kategorie	Rozpustnost	Přibližný objem vody v ml pro gram látky
1	velmi snadno rozpustný	<1
2	snadno rozpustný	10
3	dobře rozpustný	10 – 30
4	mírně rozpustný	30 – 100
5	těžce rozpustný	100 – 1000
6	velmi těžce rozpustný	1000 – 10000
7	prakticky nerozpustný	> 10 000

- z této skupiny se vybere produkt A, který obsahuje API s nejnižší hodnotou TD (Therapeutic Dose)/1000 a/nebo ADE
- pokud se API nachází v produktu A v různých silách, použije se jako nejhorší případ ten produkt, kde relativní obsah API je největší ⁹

Nejhorší případ produktu B (Worst case product B)

Vybere se produkt s nejmenším poměrem velikosti šarže a maximální denní dávky (BS/MDD).

Metody výpočtu MAC_i (API) :

- *MAC_{LTD} vypočtený z minimální terapeutické dávky API pro produkt A*

$$MAC_{LTD}(API) = \frac{LTD_{API}}{1000 \times MDD_B} \times \frac{W_{bB}}{W_{tB}} \quad [\mu g] \quad (1)$$

LTD_{API} ... nejmenší terapeutická dávka API [mg]

MDD_B ... maximální denní dávka produktu B [jednotky]

W_{bB} ... nejmenší velikost šarže produktu B [kg]

W_{tB} ... hmotnost jednotky (tabletky, tobolky) produktu B [mg]

- *MAC_{ADE} vypočtený z přípustné denní expozice API*

$$MAC_{ADE}(API) = \frac{ADE_{API} \times W_{bB}}{W_{tB} \times MDD_B} \quad [\mu g] \quad (2)$$

ADE_{API} ... přípustná denní expozice API [μg]

MDD_B ... maximální denní dávka produktu B [jednotky]

W_{bB} ... nejmenší velikost šarže produktu B [kg]

W_{tB} ... hmotnost jednotky (tabletky, tobolky) produktu B [mg]

Tento limit se vypočte v případě, že je k dispozici ověřená hodnota ADE.

- *MAC_{10PPM} vypočtený z přípustného přenosu 10 PPM_{API}*

$$MAC_{10PPM}(API) = 10000 \times W_{bB} \times 10^{-5} \quad [\mu g] \quad (3)$$

W_{bB} ... nejmenší velikost šarže produktu B [kg]

- *MAC_{Vis} vypočtený z přípustného limitu vizuální čistoty*

$$MAC_{Vis}(API) = LC_{Vis} \times 10000 \times Se_{API} \quad [\mu g] \quad (4)$$

Se_{API} ... celková plocha všech zařízení, jejich částí a pomůcek, které jsou v kontaktu s API produktu A (Pro rezidua API se do celkové plochy nepočítají jednorázové nebo dedikované zařízení, jeho částí nebo pomůcky) [m²]

LC_{vis} ... hodnota limitu vizuální čistoty [$4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$]

Ze všech vypočtených hodnot $MAC_i(\text{API})$ se určí minimální hodnota (tzn. nejpřísnější z vypočtených limitů), která pak představuje kritérium přijatelnosti pro maximální přípustný přenos množství API (MAC_{API})¹³

$$MAC_{API} = \min\{MAC_i(\text{API})\} \quad [\mu\text{g}] \quad (5)$$

3.11.1.2 Limit čistoty pro rezidua API

Hodnota limitu čistoty zařízení, jeho částí resp. pomůcek pro rezidua API (LC_{API}) se vypočte ze vztahu:

$$LC_{API} = \frac{MAC_{API}}{Se(\text{API})} \quad [\mu\text{g}/\text{cm}^2] \quad (6)$$

MAC_{API} ... maximální přípustný přenos množství [mg]

Se_{API} ... celková plocha zařízení, která je v kontaktu s API produktu A [cm^2]

Limity čistoty jako množství API ve stěrech se pak vypočítají:

$$LC_{API}(25 \text{ cm}^2) = 25 \times LC_{API} \quad [\mu\text{g}/25 \text{ cm}^2] \quad (7)$$

$$LC_{API}(100 \text{ cm}^2) = 100 \times LC_{API} \quad [\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2] \quad (8)$$

Faktor výtěžnosti vzorkovací a analytické metody, stanovený v rámci validace analytické metody, se použije pro korekci výsledků analytického stanovení reziduí API. Tuto korekci provádí odpovědní pracovníci QC tak, aby vzorkovací protokol uváděl korigované hodnoty pro rezidua API.⁹

3.11.2 Rezidua detergentů

3.11.2.1 Kritérium přijatelnosti pro rezidua detergentu

Při stanovení kritéria přijatelnosti pro rezidua detergentu (CA - Cleaning agent) je nutné vypočítat tzv. maximální přípustný přenos množství detergentu (MAC_{CA}) používaného pro čištění *nejhoršího případu produktu A* a pro *nejhorší případ produktu B*.

Metody výpočtu $MAC_i(\text{CA})$:

➤ MAC_{LD50} vypočtený z dávky LD_{50} pro detergent

$$MAC_{LD50}(\text{CA}) = \frac{AHW \times LD_{50}}{1000 \times MDD_B} \times \frac{W_{bB}}{W_{tB}} \quad [\mu\text{g}] \quad (9)$$

AHW ... průměrná hmotnost člověka (TEVA standard) [50 kg]

LD_{50} ... smrtící dávka pro detergent (CA) [mg/kg]

MDD_B ... maximální denní dávka produktu B [jednotky]

W_{bB} ... nejmenší velikost šarže produktu B [kg]

W_{tB} ... hmotnost jednotky (tabletky, tobolky) produktu B [mg]

➤ MAC_{10PPM} vypočtený z přípustného přenosu 10 PPM detergentu (CA)

$$MAC_{10PPM}(CA) = 10000 \times W_{bB} \times 10^{-5} \quad [\mu\text{g}] \quad (10)$$

W_{bB} ... nejmenší velikost šarže produktu B [kg]

➤ MAC_{Vis} vypočtený z přípustného limitu vizuální čistoty

$$MAC_{Vis}(CA) = LC_{Vis} \times 10 \times Se_{CA} \quad [\mu\text{g}] \quad (11)$$

Se_{CA} ... celková plocha zařízení, která je v kontaktu s detergentem (CA) [m²]

LC_{Vis} ... je hodnota limitu vizuální čistoty [4 μg/cm²]

Ze všech vypočtených hodnot MAC_i (CA) se určí minimální hodnota, která pak představuje kritérium přijatelnosti pro maximální přípustný přenos množství detergentu (MAC_{CA}).¹³

$$MAC_{CA} = \min\{MAC_i(CA)\} \quad [\mu\text{g}] \quad (12)$$

3.11.2.2 Limit čistoty pro rezidua detergentu (CA)

Hodnota limitu čistoty zařízení, jeho částí resp. pomůcek pro rezidua detergentu (LC_{CA}) se vypočte ze vztahu:

$$LC_{CA} = \frac{MAC_{CA}}{Se_{CA}} \quad [\mu\text{g}/\text{cm}^2] \quad (13)$$

MAC_{CA} ... maximální přípustný přenos množství detergentu (CA) [mg]

Se_{CA} ... celková plocha zařízení, která je v kontaktu s detergentem (CA) [cm²]

Limity čistoty jako množství detergentu (CA) ve stěrech se pak vypočtou:

$$LC_{CA}(25\text{cm}^2) = 25 \times LC_{CA} \quad [\mu\text{g}/25 \text{cm}^2] \quad (14)$$

$$LC_{CA}(100\text{cm}^2) = 100 \times LC_{CA} \quad [\mu\text{g}/100 \text{cm}^2] \quad (15)$$

Faktor výtěžnosti vzorkovací a analytické metody, stanovený v rámci validace analytické metody, se použije pro korekci výsledků analytického stanovení reziduí detergentu. Tuto korekci provádí odpovědní pracovníci QC tak, aby certifikát o analýze uváděl korigované hodnoty pro rezidua detergentu.

V případě stanovování snadno rozpustných detergentů ve vzorcích z oplachu hodnocených měření vodivosti se používá faktor výtěžnosti ^{1,9}

3.11.3 Limit čistoty pro MO

Pro vodné oplachy je limit čistoty stejný jako akční limit vody použité pro poslední oplach. Hodnota limitu čistoty ve výrobě nesterilních lékových forem pro mikrobiologické stěry zařízení, jeho částí, resp. pomůcek (LC_{MO}) je stanovena maximálně 1 CFU/cm² (resp. 100 CFU/100 cm²) a nepřítomnost nežádoucích MO.

Hodnota limitu čistoty ve výrobě sterilních lékových forem pro mikrobiologické stěry zařízení, jeho částí, resp. pomůcek (LC_{MO}) je stanovena 0 CFU/100 cm².⁹

3.12 Srovnání přístupů k validaci čištění

Celý popsany postup validace vychází z přístupů k validaci čištění, které byly platné ve společnosti TCI v roce 2013. Tento přístup je založen na tzv. řízení rizik a je doporučován i v současnosti. Oproti konvenčnímu přístupu, kdy při negativních výsledcích validace čištění je převážně kontrolována správnost výpočtů a jsou přehodnocovány akceptační kritéria, tak přístup řízení rizik je zaměřen na komplexní analýzu celého projektu. Zkoumají se dopady prostředí, kontaminantů, zařízení a dalších aspektů, které mohly mít potenciální vliv na průběh a výsledky celé validace čištění.²⁴

4. PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 Validace čištění zařízení

Praktickou část jsem prováděla ve spolupráci s oddělením *Jištění jakosti - QA*. Cílem bylo validovat proces čištění pro nové zařízení, na kterém ještě validace účinnosti čištění neproběhla, pro nový vlastní postup čištění. Jinými slovy se mělo zjistit, zda navržené a použité postupy umožňují spolehlivě očistit zařízení takovým způsobem, že je vhodné pro výrobu farmaceutických produktů. Mým úkolem především bylo se podílet na vypracování validačního protokolu a validační zprávy.

Validovaným zařízením byla plnička tvrdých želatinových tobolek Bosch, model GKF 2500 ASB 100% (**Obr. 4**). Zařízení disponuje 100% váhovou kontrolou a maximální rychlostí plnění 2500 kapslí/min. K zařízení je k dispozici čistící manuální postup. V rámci validační studie bylo ověřeno čištění po době stání (dirty hold time) v minimální délce 72 hodin.



Obr. 4 Plnička tvrdých želatinových tobolek Bosch GKF 2500 ASB 100% ²⁵

4.2 Analýza rizik

Pro efektivní provedení CV je nezbytné vyhodnotit riziko, které souvisí s přenosem reziduí do následně vyráběných produktů. Analýza rizik slouží jako základ pro vymezení rozsahu validace.³

4.2.1.1 Seznam produktů

Seznam všech produktů, které se budou vyrábět na kapslovacím zařízení Bosch

- *Acyklovir 200 mg cps.*
- *Fluoxetin 10 mg cps.*
- *Fluoxetin 20 mg cps.*
- *Fluoxetin 40 mg cps.*
- *Gabapentin 100 mg cps.*
- *Gabapentin 300 mg cps.*
- *Gabapentin 400 mg cps.*
- *Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.*

4.2.1.2 Výběr nejhoršího případu API A

Nejhorší případ API A (worst case API A) je nejhůře čistitelný ze špatně čistitelných (nerozpustných ve vodě) účinných látek z daného portfolia produktů. V **tabulce 9** jsou účinné látky obsažené v produktech, které se budou vyrábět na kapslovacím zařízení, seřazeny dle rozpustnosti od nejhorší k nejlepší a u každé je uvedena nejnižší terapeuticky účinná dávka (LTD).

Tabulka 9 - Výběr nejhoršího případu API A

API	LTD	Rozpustnost ve vodě
Hydrochlorothiazid	12,5	těžce rozpustný, 100 - 1000 ml/g
Fluoxetin hydrochlorid	20	mírně rozpustný, 30 - 100 ml/g
Acyklovir	1000	dobře rozpustný, 10 - 30 ml/g
Gabapentin	300	snadno rozpustný, 1 - 10 ml/g

Jako *nejhorší případ API A* byl zvolen hydrochlorothiazid, protože je nejméně rozpustný a má nejnižší LTD z porovnávaných účinných látek.

4.2.1.3 Výběr nejhoršího případu produktu A (Worst case product A)

Nejhorší případ produktu A (worst case product A) je produkt obsahující nejvyšší koncentraci *nejhoršího případu API A* (worst case API A) ve směsi. Jako *nejhorší případ*

produktu A byl vybrán Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps., který obsahuje 6,25 % hydrochlorothiazidu.

4.2.1.4 Výběr nejhoršího případu produktu B

Nejhorší případ produktu B (worst case product B) je produkt s nejvyšším poměrem maximální denní dávky k velikosti šarže, neobsahující API zvolenou jako nejhorší případ API A (worst case API A). Jako nejhorší případ produktu B byl pro výpočet limitu residuí API zvolen Gabapentin 400 mg cps. Jako nejhorší případ produktu B pro výpočet limitu residuí detergentu byl zvolen Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps. (viz **Tabulka 10**).

Tabulka 10- Výběr nejhoršího případu produktu B (worst case product B)

Produkt	Wb [g]	Wt [g]	MDD	$(10^6 \times MDD \times Wt) \div Wb$
Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.	400000	0,2	16	8,00
Gabapentin 400 mg cps.	891000	0,54	9	5,45
Gabapentin 300 mg cps.	891000	0,405	12	5,45
Gabapentin 100 mg cps.	891000	0,135	36	5,45
Fluoxetine 10 mg cps.	440000	0,22	6	3,00
Fluoxetine 20 mg cps.	440000	0,22	3	1,50
Fluoxetine 40 mg cps.	440000	0,22	1,5	0,75
Acyclovir cps.	*	*	*	*

* Informace zatím nejsou známy, výroba produktu je zatím jen plánována.

4.2.1.5 Výrobní zařízení

K výrobě produktu Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps. se používá řetězec součástí výrobního zařízení, který je uveden v **tabulce 11**. Celková plocha povrchu zařízení v kontaktu s produktem je 28,87 m².

Tabulka 11 - Zařízení v kontaktu s produktem Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.

Zařízení	Celkový povrch [m ²]
Kontejner 500 l	4,34
Zásobníkový kontejner 120 l	1,43
Sítovací zařízení Glatt GS 180	1,4
Sítovací zařízení Rosel Compact 600	1,4
Plnička tvrdých želatinových tobolek Bosch	5,52
Vzorkovací tyč	0,1
Vzorkovací lopatka	0,1
Optické počítání a plnění tablet Swiftpharm	11,0
Inspekční zařízení SPINE	3,6

Přestože předmětem této validace je pouze čištění plničky tvrdých želatinových tobolek Bosch, při výpočtu reziduí je nutné zohlednit povrchy zařízení, které jsou v kontaktu s produktem v průběhu celého výrobního a balicího procesu.

4.2.2 Výpočet limitu reziduí

4.2.2.1 Výpočet limitů rezidua hydrochlorothiazidu (API) - limit MAC_{API}

Výpočty byly provedeny s hodnotami uvedenými v **tabulce 12**. Limit MAC_{API} je nejmenší z následujících kritérií.

Tabulka 12 - Zadané parametry k výpočtům limitů reziduí hydrochlorothiazidu

<i>Nejhorší případ API A</i>	Hydrochlorothiazid
<i>Nejhorší případ produktu A</i>	Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.
<i>Nejhorší případ produktu B</i>	Gabapentin 400 mg cps.
Nejnižší terapeutická dávka API A (LTD)	12,5 mg
Přípustná denní expozice API A (ADE)	0,1 mg/den
Největší denní dávka produktu B (MDD)	9 jednotek
Hmotnost jednotky (tobolky) produktu B (W_t)	0,54 g
Nejmenší velikost šarže produktu B (W_b)	891000 g
Plocha stěru (S_s)	25 cm ²
Plocha v kontaktu s produktem (S_e)	28,87 m ²
Objem diluentu stěru (V_s)	10 ml
Hodnota limitu vizuální čistoty (LC_{vis})	0,004 mg/cm ²

- Maximální přípustné množství API z minimální terapeutické dávky API pro produkt A:

$$MAC_{LTD}(API) = \frac{LTD_{API}}{1000 \times MDD_B} \times \frac{Wb_B}{Wt_B} = 2291,67 \text{ mg/plocha zařízení}$$

- Maximální přípustné množství API z přípustné denní expozice API:

$$MAC_{ADE}(API) = \frac{ADE_{API} \times Wb_B}{Wt_B \times MDD_B} = 18333,33 \text{ mg/plocha zařízení}$$

- Maximální přípustné množství API z přípustného přenosu 10 PPM API:

$$MAC_{10PPM}(API) = 10000 \times Wb_B \times 10^{-5} = 8910,00 \text{ mg/plocha zařízení}$$

- Maximální přípustné množství API z přípustného limitu vizuální čistoty:

$$MAC_{Vis}(API) = LC_{Vis} \times 10000 \times Se_{API} = 1154,80 \text{ mg/plocha zařízení}$$

- Výpočet limitu čistoty vztahený na plochu stěru:

$$LC_{API} = MAC_{API} \times \frac{Ss}{Se}$$

Tabulka 13 - Výsledky výpočtů limitů reziduí hydrochlorothiazidu

Limity reziduí			
Metoda výpočtu	MAC [mg/plocha zařízení]	LC [mg/stěr]	c [mg/ml]
Kritérium LTD	2291,67	0,19845	0,019845
Kritérium ADE	18333,33	1,58768	0,158758
Kritérium 10 ppm	8910,00	0,772	0,0772
Kritérium limitu vizuální čistoty	1154,80	0,100	0,0100

Nejnižší limit pro zbytkové množství hydrochlorothiazidu byl vypočítán z limitu vizuální čistoty. Limit byl stanoven na 100 µg/25 cm² (**Tabulka 13**).

4.2.2.2 Výpočet limitů reziduí čisticího prostředku Extran MA 02 (CA) - limit MAC_{CA}

Výpočty byly provedeny s hodnotami uvedenými v **tabulce 14**. Limit MAC_{CA} je nejmenší z následujících kritérií.

Tabulka 14 - Zadané parametry k výpočtům limitu reziduí Extranu MA 02

Nejhorší případ produktu B	Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.
Čisticí prostředek (CA)	Extran MA 02
Největší denní dávka produktu B (MDD)	9 jednotek
Hmotnost jednotky (tobolky) produktu B (Wt)	0,54 g
Nejmenší velikost šarže produktu B (Wb)	891000 g
Plocha stěru (Ss)	25 cm ²
Plocha v kontaktu s produktem (Se)	28,87 m ²
Objem diluentu stěru (Vs)	10 ml
Hodnota limitu vizuální čistoty (LC _{Vis})	0,004 mg/cm ²
LD ₅₀ čisticího prostředku	404 mg/kg
Průměrná hmotnost člověka (TEVA standard)	50kg

➤ *Kritérium LD₅₀ pro detergent:*

$$MAC_{LD50}(CA) = \frac{AHW \times LD_{50}}{1000 \times MDD_B} \times \frac{Wb_B}{Wt_B} = 3703333,33 \text{ mg/plocha zařízení}$$

➤ *Kritérium přípustného přenosu 10 PPM detergentu (CA)*

$$MAC_{10PPM}(CA) = 10000 \times Wb_B \times 10^{-5} = 8910,00$$

➤ *Výpočet limitu čistoty vztažený na plochu stěru:*

$$LC_{API} = MAC_{API} \times \frac{Ss}{Se}$$

Tabulka 15 - Výsledky výpočtů limitů reziduí Extranu MA 02

Limity reziduí			
Metoda výpočtu	MAC [mg/plocha zařízení]	LC [mg/stěr]	c [mg/ml]
Kritérium LD ₅₀	3703333,33	320,690	32,0690
Kritérium 10 ppm	8910,00	0,772	0,0772

Nejnižší limit pro zbytkové množství čisticího prostředku Extran MA 02 vyplývá z **tabulky 15** z konceptu 10 ppm. Limit byl stanoven na 0,77 mg/25 cm².

4.2.3 Kritéria přijatelnosti

Stanovená kritéria přijatelnosti:

- vizuálně čisté zařízení
- obsah API ve stěrech ≤ 100 µg/25 cm²
- obsah detergentu ve stěru ≤ 0,77 mg/25 cm²
- mikrobiologické stěry: obsah mikroorganismů < 100 CFU/100 cm² a nepřítomnost nežádoucích bakterií (hodnota limitu čistoty ve výrobě nesterilních lékových forem pro mikrobiologické stěry zařízení je stanovena maximálně 1 CFU/cm²)

4.2.4 Metody testování a hodnocení jednotlivých testů

Jednotlivé vzorky, které byly odebrány při validaci čištění dle vzorkovacího plánu, byly analyzovány a hodnoceny následujícími způsoby.

4.2.4.1 Vizualní kontrola zařízení

Celá plocha povrchu, která je za provozu v kontaktu s produktem, je zkontrolována za dostatečného osvětlení bílým světlem, případně za použití lampy. Zařízení je vizuálně čistém pokud na něm nejsou vidět žádné stopy nečistot.

4.2.4.2 Stanovení reziduí účinné látky

Rezidua účinné látky jsou stanovena specifickou analytickou metodou HPLC, která již byla vyvinuta, viz **Tabulka 16**. Rezidua čisticího prostředku Extran MA 02 jsou stanovena spektrofotometricky (**Tabulka 17**). Plocha stěru pro obsah API i detergentu je 25 cm², rozpouštědla je 10 ml. Musí být odebrán slepý vzorek rozpouštědla pro případné šetření neočekávaných píků chromatogramu. Postup vzorkování je uveden v **odstavci 3.9.4**.

Tabulka 16 - HPLC metoda pro stanovení hydrochlorothiazidu ve stěrech

Analytická metoda	QDP0018209
Validační zpráva	QDP0026139
Rozsah	0,0777 - 7,662 µg/ml
LOD - limit detekce	0,528 µg/25 cm ²
LOQ - limit kvantifikace	1,76 µg/25 cm ²

Tabulka 17 - Metoda pro stanovení Extranu MA 02 ve stěrech

Analytická metoda	AMPQC\SP026
Validační zpráva	VZA\PQC\338
Rozsah	0,001 - 0,075 mg/25cm ²
LOD - limit detekce	-
LOQ - limit kvantifikace	0,001 mg/25 cm ²

4.2.4.3 Mikrobiologická kontrola

Plocha stěru pro mikrobiální kontrolu je 100 cm². Vzorkovací postup je uveden v **odstavci 3.9.7**.

4.2.5 Validace čištění

Validace byla provedena na třech po sobě jdoucích cyklech čištění dle validačního protokolu VP\OSD\078 V 1,0; na jehož vypracování jsem se podílela. Jako modelový přípravek pro validaci byl zvolen Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps. Účinná látka hydrochlorothiazid byla zvolena jako *nejhorší případ API A* pro plničku tvrdých želatinových tobolek i ve vztahu k plánovaným produktům.

4.2.5.1 Čistící procedura

Čistící procedura je manuální a skládá se z následujících kroků dle SOPG\003\892 – Ruční mytí:

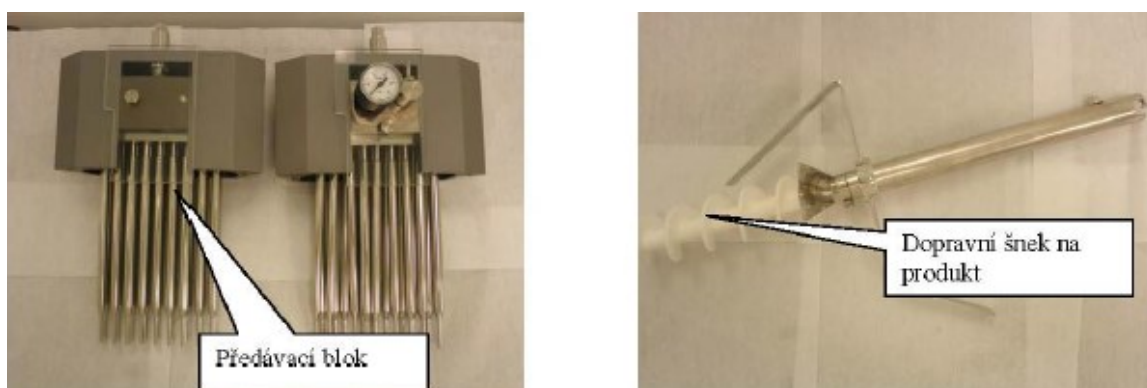
- Oplach teplou vodou po dobu 2 minut
- Umytí dílů roztokem neutrálního detergentu pro ruční mytí – (Extran MA02, ředění detergentu pro ruční mytí dle SOPG\003\892). Nanesení detergentu za pomoci

jednorázové, bezúletové tkaniny celý vnitřní i vnější povrch dílu. Otěr bude prováděn jedním směrem a bude se dbát na to, aby byl otřen celý povrch dílu a přitom se nevracelo na již umytá místa.

- Oplach čištěnou vodou po dobu min. 1 minuty
- Po odkapání dílů provedení nástřiku na vnější i vnitřní části 70% ethanolem
- Po usušení provedení kontroly čistoty dílů

4.2.5.2 Výsledky

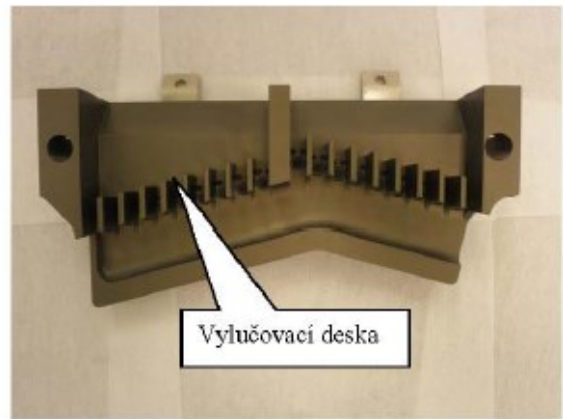
Po provedeném čištění zařízení byly odebrány chemické stěry. MO stěry a stěry detergentu byly odebrány pověřenými pracovníky oddělení výroby OSD. Všechny vzorky analyzovali pracovníci QC OSD a pracovníci na oddělení mikrobiologie podle již vydaných analytických metod. Na **Obr. 5 až 9** jsou fotografie částí zařízení, jež byly stírány. Analýza byla zaznamenána do vzorkovacích protokolů. Výsledky stanovení reziduí jsou shrnuty v **tabulce 18**.



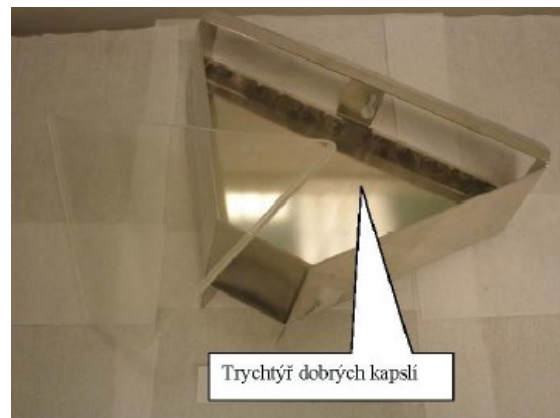
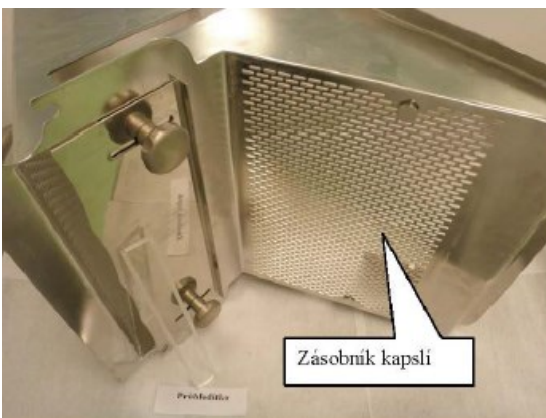
Obr. 5 Fotografie předávacího bloku a dopravního šneku na produkt



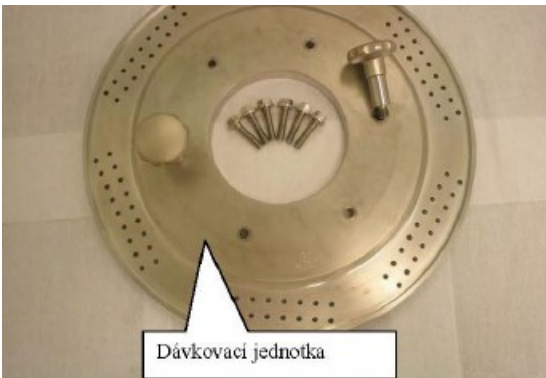
Obr. 6 Fotografie krycí desky a usměřovače produktu



Obr. 7 Fotografie výběhu na kapsle a vylučovací desky



Obr. 8 Fotografie zásobníku kapslí a trychtýře dobrých kapslí



Obr. 9 - Fotografie dávkovací jednotky

Tabulka 18 - Souhrn výsledků stanovení reziduí hydrochlorothiazidu, Extranu MA02 a mikrobiální kontaminace

Místo odběru/materiál	Označení vzorku	1. cyklus	2. cyklus	3. cyklus	Limit	Hodnocení
Vizuální kontrola		Čisté	Čisté	Čisté	Čisté	VYHOVUJE
Výběh na kapsle - leštěná nerez	MB1	1	0	4	< 100 CFU/100 cm ²	
	D1	0,0009	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Vylučovací deska - potahovaná litina	MB2	0	0	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D2	0,0011	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/ 25 cm ²	
Předávací blok - leštěná nerez	MB3	0	1	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D3	0,0006	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Dopravní šnek na produkt - tvrdý plast	MB4	0	0	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ² ≤ 100 μg/25 cm ²	
	D4	0,0008	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Krycí deska - potahovaná litina	MB5	1	0	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S4	2,30	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D5	0,0009	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Usměrňovač produktu - potahovaná litina	MB6	0	0	1	< 100 CFU/100 cm ²	
	S5	7,55	2,99	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D6	0,0009	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Dávkovací jednotka - leštěná slitina	MB7	0	1	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S6	5,16	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D7	0,001	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Zásobník kapslí - leštěná nerez	MB8	0	0	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D8	0,0011	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	
Trychtýř dobrých kapslí - leštěná nerez	MB9	0	0	0	< 100 CFU/100 cm ²	
	S8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	≤ 100 μg/25 cm ²	
	D9	0,0010	< 0,01	< 0,01	≤ 0,77 mg/25 cm ²	

< LOQ - výsledky pod hranicí kvantifikace (< 1,76 μg/25 cm²)

Všechny výsledky uvedené v **tabulce 18** odpovídají požadovaným kritériím přijatelnosti. Jedinou odchylkou bylo nedodržení dirty hold time, které bylo 69 hodin místo požadovaných 72 hodin. Tato odchylka ovšem není kritická. Výsledky jsou uvedeny ve validační zprávě VZP\OSD\078 V. 1,0.

4.3 Vyhodnocení experimentální části

V rámci experimentální části práce byl validován postup čištění na plnička tvrdých želatinových tobolek Bosch GKF 2500 ASB 100 %. Jednalo se o nové zařízení s vlastní manuální procedurou čištění.

Provedla jsem analýzu rizik, která se týkala výběru *nejhoršího případu API A* (hydrochlorothiazid), *nejhoršího případu produktu A* (hydrochlorothiazid 12,5 mg cps.), *nejhoršího případu produktu B* (Gabapentin 400 mg cps.) a výpočtu plochy, která je v kontaktu s produktem.

Spočítala jsem limit reziduí pro API a pro detergent, jež byl zvolen Extran MA 02, který je součástí mycí procedury kapslovacího zařízení. Jako kritéria přijatelnosti jsem stanovila, že obsah hydrochlorothiazidu musí být menší než 100 µg/stěr, obsah detergentu musí být menší než 0,77 mg/stěr, a obsah mikroorganismů menší než 100 CFU/100 cm².

Po provedeném čištění zařízení jsem odebrala chemické stěry. MO stěry a stěry detergentu byly odebrány pověřenými pracovníky oddělení výroby PLF. Analýza byla provedena podle již vydaných analytických metod. Výsledky z validace čištění zařízení jsou shrnuty v **tabulce 18**.

Nalezené výsledky hodnocení reziduí vyhovovaly stanoveným limitům. Jedinou odchylkou byl dirty hold time v délce 69 hodin. V tomto případě se jedná se o nekritickou odchylku a standardní doba (min. 72 hodin) bude ověřena u verifikace čištění.

5. ZÁVĚR

Výsledky získané v experimentální části práce dokládají, že s ohledem na požadavky kladené na parametry čistících procedur je kapslovací zařízení Bosch GKF 2500 ASB 100 % možné využívat k rutinní výrobě léčivých přípravků.

6. SEZNAM ZKRATEK

ADE	Acceptable Daily Exposure
AHW	Průměrná hmotnost člověka
API	Active Pharmaceutical Ingredience
BS	Batch Size
CFU	Colony Forming Unit
CIP	Cleaning in Place
COP	Cleaning Out of Place
CV	Cleaning Validation
EMA	European Medicines Agency
EP	European Pharmacopoeia
EU	European Union
FDA	Food and Drug Administration
GC	Plynová chromatografie
GMP	Good Manufacturin Practice
HBEL	Health Based Exposure Limits
HPW	Highly Purified Water
ISPE	International Society For Pharmaceutical Engineering
IT	Information Technology
IR	Infračervené záření
LC	Limit of Cleanness
<i>LD₅₀</i>	Letální dávka
LOD	Limit detekce
LOQ	Limit kvantifikace
LTD	Lowest Therapeutic Dose
MAC	Maximum Allowable Caryover
MDD	Maximální denní dávka pro produkt
MO	Mikroorganismy

MS	Hmotnostní spektrometrie
OQ	Operational Qualification
OSD	Oral Solid Dosage form
PDA	Parenteral Drug Association
PIC/S	Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme
PQ	Performance Qualification
PW	Purified Water
QA	Quality Assurance
QAV	Quality Assurance Validation Department
QC	Quality Control
Se	Plocha v kontaktu s produktem
SOP	Standardní operační postup
Ss	Plocha stěru
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
SVP	Správná výrobní praxe
TCI	Teva Czech Industries s.r.o.
TSA	Technical and Scientific Affair
TW	TrackWise
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
USP	United States Pharmacopeia
UV	Ultrafialové záření
VIS	Viditelná část záření
VMP	Validation Master Plan
VP	Validační protokol
Vs	Objem diluentu stěru
VZP	Validační zpráva
Wb	Weight of batch
WFI	Water for Injections

WHO World Health Organization

WIP Wash in Place

Wt Weight

7. LITERATURA

- 1 Validation of Cleaning Processes (7/93): GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES. FDA [online]. [cit. 2020-11-11].
Dostupné z: <https://www.fda.gov/validation-cleaning-processes-793>
- 2 SHARMA, Abhishek. CLEANING VALIDATION IN PHARMACEUTICAL INDUSTRY: A COMPREHENSIVE APPROACH. PharmaTutor [online]. India [cit. 2020-10-11].
Dostupné z: <https://www.pharmatutor.org/articles/cleaning-validation-pharmaceutical-industry-comprehensive-approach>
- 3 TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O. Validace čištění: Školící materiál. Opava, 2012, 47 s. TCI083-TCI-A-KO15.
- 4 TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O. Validace- TCI Pharma: SOP. Opava, 2011, 35 s. SOP\PQA\008.
- 5 Validation. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2013-05-02].
Dostupné z: [http://en.wikipedia.org/wiki/Validation_\(drug_manufacture\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Validation_(drug_manufacture))
- 6 GERA, Vivek. Cleaning Validation Guidelines - A Complete List 2020. LEUCINE [online]. [cit. 2020-10-11].
Dostupné z: <https://www.leucinetech.com/post/cleaning-validation-guidelines> 3
- 7 SÚKL. VYR-32: POKYNY PRO SPRÁVNOU VÝROBNÍ PRAXI - DOPLNĚK 15. KVALIFIKACE A VALIDACE. 2003.
Dostupné z: http://www.sukl.cz/file/65202_1_1/
- 8 VYR-32 verze 3: NÁVOD K POKYNŮM PRO SPRÁVNOU VÝROBNÍ PRAXI. In: SÚKL [online]. 2013 [cit. 2013-05-06].
Dostupné z: <http://www.sukl.cz/leciva/vyr-32-verze-3>
- 9 TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O. Validace čištění: SOP. Opava, 2012, 26 s. SOP\PQA\031.
- 10 TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O. Validace analytických metod: SOP. Opava, 2012, 29 s. SOP\PQA\025.
- 11 Čištění a dezinfekce v nápojovém průmyslu. CANDD [online]. 2013 [cit. 2013-03-03].
Dostupné z: http://www.candd.cz/index.php?index.php?sanitace=oblasti_pouziti.html&sanitace2=napojovy_prumysl.html
- 12 Sanitační a dezinfekční prostředky. PEVI [online]. 2012 [cit. 2013-03-11]. Dostupné z: <http://www.pevi.cz/zajimavosti-z-oboru/sanitačni-a-dezinfekční-prostředky.html>
- 13 TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O. Mytí drobných výrobních pomůcek, palet, kontejnerů a demontovatelných částí zařízení. Opava, 2013, 12 s. SOP\OSD\018.
- 14 EXTRAN. Merck Millipore [online]. 2013 [cit. 2013-03-10]. Dostupné z: http://www.merckmillipore.cz/chemicals/extran-c_IDKb.s1OmukAAAEqJFwrCudC

- 15 MERAL ZENTRA. 2007. [cit. 2013-03-10]. Dostupné z:
http://www.berto.cz/userfiles/file/cz/bezpec_listy/potravinarstvi/meral_zentra_c.pdf
- 16 MERALIT CIP. 2008. [cit. 2013-03-10]. Dostupné z:
http://www.berto.cz/userfiles/file/cz/bezpec_listy/potravinarstvi/meralit_cip_c.pdf
- 17 P3-COSA® CIP 95. ECOLABCZ [online]. 2013 [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:
<http://www.ecolabcz.cz/divize.php?b1=food-beverage&b2=20&b3=pripravky-pro-farmacii&b4=P3-cosa%AE%20CIP%2095>
- 18 SAVO Prim. SAVO [online]. 2013 [cit. 2013-03-10].
Dostupné z: <http://www.savo.eu/produkty/savo-prim-novinka>
- 19 FIXINELA. 2006. [cit. 2013-05-05]. Dostupné z: http://www.hygienicke-potreby-praha.cz/soubory/309_Fixinela---BL.pdf
- 20 PERESAL. ECOLABCZ [online]. 2013 [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:
<http://www.ecolabcz.cz/divize.php?b1=healthcare&b2=6&b3=dezinfekce-nastroju-a-pristroju&sh=30&b4=PERESAL>
- 21 MERAL STERIL MILD. 2008. [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:
http://www.berto.cz/userfiles/file/cz/bezpec_listy/potravinarstvi/meral_steril_mild_xi.pdf
- 22 MERAL STERIL. Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv [online]. 2012 [cit. 2013-02-10]. Dostupné z: http://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/biocidy/seznam-ddd?detail_info=301
- 23 Český lékopis 2009 (ČL 2009). 1. vydání. Praha: GRADA Publishing, a.s 2009, 3968 s. ISBN 978-80-247-2994-7.
- 24 Sumukha Krishna P, Gangadharappa H V, Nagendra S, & Hemanth Kumar S. (2020). An Overview of Risk Management and Risk-based Cleaning Validation. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(4), 5407-5414.
<https://doi.org/10.26452/ijrps.v11i4.3168>
- 25 Capsule Filling - GKF 2500 ASB 100%. BOSCH [online]. 2013 [cit. 2013-05-05].
Dostupné z: http://209.221.242.69/site/cust_support/cs_prod.aspx?sec_id=36&prod_id=115

8. SEZNAM TABULEK

- Tabulka 1** - Rozsah validace analytické nelékopisné metody v závislosti na její kategorii (str. 18)
- Tabulka 2** - Pomůcky a zařízení pro výrobu pevných lékových forem (str. 22)
- Tabulka 3** - Pomůcky a zařízení pro výrobu kapalných lékových forem (str. 23)
- Tabulka 4** - Skupiny konstrukčních materiálů a zástupci pro studie výtěžnosti (str. 23)
- Tabulka 5** - Čisticí prostředky pro výrobní zařízení (str. 24)
- Tabulka 6** - Čisticí prostředky pro pracovní prostředí (str. 25)
- Tabulka 7** - Příklad popisu kroků procedury čištění (str. 26)
- Tabulka 8** - Lékopisné označení kategorií rozpustnosti látek (str. 39)
- Tabulka 9** - Výběr *nejhoršího případu API A* (str. 45)
- Tabulka 10** - Výběr *nejhoršího případu produktu B* (worst case product B) (str. 46)
- Tabulka 11** - Zařízení v kontaktu s produktem Hydrochlorothiazid 12,5 mg cps. (str. 57)
- Tabulka 12** - Zadané parametry k výpočtům limitů reziduí hydrochlorothiazidu (str. 57)
- Tabulka 13** - Výsledky výpočtů limitů reziduí hydrochlorothiazidu (str. 48)
- Tabulka 14** - Zadané parametry k výpočtům limitu reziduí Extranu MA 02 (str. 48)
- Tabulka 15** - Výsledky výpočtů limitů reziduí Extranu MA 02 (str. 49)
- Tabulka 16** - HPLC metoda pro stanovení hydrochlorothiazidu ve stěrech (str. 50)
- Tabulka 17** - Metoda pro stanovení Extranu MA 02 ve stěrech (str. 50)
- Tabulka 18** - Souhrn výsledků stanovení reziduí hydrochlorothiazidu, Extranu MA 02 a mikrobiální kontaminace (str. 53)

9. SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1** Schéma organizace validací v TCI Pharma (str. 13)
- Obr. 2** Schéma postupu nové validace čištění (str. 15)
- Obr. 3** Schéma validační dokumentace (str. 20)
- Obr. 4** Plnička tvrdých želatinových tobolek Bosch GKF 2500 ASB 100% (str. 44)
- Obr. 5** Fotografie předávacího bloku a dopravního šneku na produkt (str. 51)
- Obr. 6** Fotografie krycí desky a usměrňovače produktu (str. 51)
- Obr. 7** Fotografie výběhu na kapsle a vylučovací desky (str. 52)
- Obr. 8** Fotografie zásobníku kapslí a trychtýře dobrých kapslí (str. 52)
- Obr. 9** Fotografie dávkovací jednotky (str. 52)