

ПРОМЫШЛЕННЫЕ МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ.

Стерилизацией называют процесс полного уничтожения или удаления из объекта всех жизнеспособных форм микроорганизмов. При стерилизации фармацевтической продукции требуется обеспечить высокий уровень гарантированной стерилизуемости объектов.

1. ВЕРОЯТНОСТЬ ДОСТИЖЕНИЯ ГАРАНТИРОВАННОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СУЩЕСТВУЮЩИХ МЕТОДОВ ПРОМЫШЛЕННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ.

Для фармацевтических препаратов стандартом гарантии стерильности является гарантия того, что после стерилизации партии ГЛС объемом 1 млн. единиц, количество оставшихся нестерильными будет меньше 1, т.е. вероятность нестерильности объекта составляет 10^{-6} , при этом необходимо сохранение полноценности объекта.

Критерии выбора метода промышленной стерилизации:

1. Отношение объекта стерилизации к воздействию (термостойкость, радиостойкость). Допускается разложение после стерилизации не более 1-2%.
2. Эффективность воздействия на различные м/о или эффективность их удаления из объекта.
3. Сохранение полноценности, не допускается образование токсичных веществ.
4. Максимальная гарантия безопасности для персонала и жителей близлежащих районов.
5. Наличие технологических установок для проведения стерилизации.
6. Экономическая целесообразность.

Промышленные методы стерилизации основаны на:

1. уничтожении м/о
2. удалении м/о из стерилизуемых объектов

2. МЕТОДЫ ТЕРМИЧЕСКОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ.

Объекты термической стерилизации:

- ГЛП, инфузионные и инъекционные растворы
- оборудование
- коммуникации
- арматура
- жидкости, вводимые в питательные среды
- упаковка для стерильной продукции
- технологическая одежда

Применяемые теплоносители:

- водяной пар под давлением
- текучий пар
- горячий воздух

Выделяют два варианта ведения процесса стерилизации:

1. периодический
2. непрерывный (кратковременная высокотемпературная обработка)

Для периодической стерилизации используют автоклавы проходного типа, имеющих 2 открывающихся двери, и непроходного типа.

В стерилизаторах проходного типа загрузка материала осуществляется в помещениях более низкого класса чистоты, а выгрузка в помещениях более высокого класса чистоты.

Табл. 1. Область применения методов термической стерилизации.

Вид материала	Метод стерилизации	Режим
Термически устойчивые растворы субстанций, разлитые в ампулы или флаконы	Паром под давлением	1 изб. атм., 121°С; до 100мл – 8мин 100-500мл – 12 мин 500-1000мл – 15 мин
Установки для стерилизующего фильтрования	Паром под давлением	1 изб. атм., 121°С, 45 мин
Технологическая одежда	Паром под давлением	1 изб. атм., 121°С, 40-60 мин
Жиры и масла в герметично закупоренных сосудах	Паром под давлением	1 изб. атм., 121°С, 120 мин
Изделия из стекла, фарфора, металла, перевязочные и вспомогательные материалы (вата, марля, бинты, фильтровальная бумага, пергамент)	Паром под давлением	а) 1 изб. атм., 121°С, 45 мин б) 2 изб. атм., 132°С, 20 мин
Изделия из резины	Паром под давлением	1 изб. атм., 121°С, 45 мин
Изделия из стекла, металла, силиконовой резины, фарфора	Сухожаровой	а) 180°С - 60 мин б) 160°С -150 мин
Термостойкие порошкообразные вещества (натрия хлорида, окиси цинка, талька, белой глины и др.).	Сухожаровой	160-180 °С Время в зав-ти от массы
Термически неустойчивые субстанции (в исключительных случаях, при невозможности использовать метод стерилизующей фильтрации)	Текучим паром	100° С, 30 мин

Стерилизацию паром под давлением осуществляют насыщенным водяным паром при :

- избыточном давлении 0,11 МПа (1 атм.) и температуре 121 °С;
- избыточном давлении 0,20 МПа (2 атм) и температуре 132 °С.

Для достижения максимальной эффективности процесса стерилизации необходимо полное удаление воздуха из стерилизационной камеры и обрабатываемых объектов, а также правильное размещение последних, обеспечивающее свободное проникновение к ним пара. Основной механизм повреждающего действия – **денатурация (коагуляция) белков** (структурных, ферментов, нуклеотидов)

Стерилизация текучим паром проводится насыщенным водяным паром при температуре 100°С. Для стерилизации используют автоклавы с открытой крышкой и открытым клапаном для спуска конденсата или специальные «аппараты Коха». Применяется в исключительных случаях для объектов, не выдерживающих температур более 100°С. Споры в таких условиях, как правило, полностью не уничтожаются, поэтому используют дробную стерилизацию, что долго и дорого.

Стерилизацию горячим воздухом осуществляют в сухожаровых печах при температурах 160, 180 и 200 °С. Эффективность этого метода стерилизации зависит от температуры, времени, степени теплопроводности стерилизуемых объектов и правильности расположения их внутри стерилизационной камеры для обеспечения свободной циркуляции горячего воздуха. Основной механизм повреждающего действия – **пиролиз**, резкая активация окислительно-восстановительных процессов (клетка сгорает).

Н.В. Режим стерилизации не является решающим фактором, обеспечивающим полную гибель всех жизнеспособных форм м/о.

Факторы влияющие на эффективность стерилизации при заданном режиме:

1. Исходная концентрация термоустойчивых м/о в объекте
2. Степень ассоциации клеток (конгломераты или единичные)
3. Состояние среды обработки, наличие веществ, защищающих клетку
4. Конструкционные особенности оборудования (например, недостижение требуемой температуры в придонных частях из-за скопления конденсата)
5. Правильная эксплуатация оборудования
6. Характеристики пара или воздуха

3. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Используют стерилизацию растворами и стерилизацию газами.

3.1 Стерилизация химическими растворами.

Метод используют для изделий из полимерных материалов, резины, стекла, коррозионно-стойких металлов.

Стерилизация осуществляется:

- погружением в химический раствор
- заполнением объекта раствором

Основными стерилизующими агентами являются перекись водорода и надкислоты (например, надуксусная кислота)

Эффективность стерилизации растворами зависит от концентрации активно действующего вещества, времени стерилизационной выдержки и температуры стерилизующего раствора.

При стерилизации 6 % раствором перекиси водорода температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18 °С, время стерилизационной выдержки – 6 ч; при температуре 50 °С – 3 ч.

После стерилизации изделие должно быть **тщательно промыто** стерильной водой в асептических условиях для удаления следов стерилизующего агента (ведется контроль)

3.2 Газовая стерилизация.

Метод рекомендован для изделий из резины, полимерных материалов (глазные линзы, трубки для глазных капель, пакеты для инфузионных растворов), стекла, металла.

Для газовой стерилизации используют **окись этилена** или ее смесь с различными флегматизаторами (взрывобезопасными газами для улучшения циркуляции газа внутри объекта): бромистым метилом, двуокисью углерода, хладонами (фреонами) и др.

Антимикробное действие окиси этилена зависит от влажности среды, температуры, концентрации и времени выдерживания.

Оптимальные условия:

- концентрация 50-1000 мг/л
- 50-60°C
- влажность 30-60%
- выдержка 1-6 часов.

Стерилизация проводится в герметичных аппаратах, по конструкции похожих на автоклавы, к которым присоединяется баллон с газом.

Широкое распространение метода сдерживают:

- токсичность окиси этилена для персонала и потребителя
- высокая реактогенность окиси этилена с компонентами объекта

В связи с токсичностью окиси этилена и бромистого метила применение стерилизованных этими газами изделий допускается только после их **дегазации** (десорбирующей дозы).

Активная дегазация – продувка стерильным воздухом

Пассивная дегазация - выдержка в вентилируемом помещении до допустимых остаточных количеств (около 20 суток)

4. РАДИАЦИОННЫЙ МЕТОД СТЕРИЛИЗАЦИИ

Радиационный метод может быть рекомендован для:

- изделий из полимерных материалов (полимерные пакеты или контейнеры для растворов)
- изделий одноразового использования в упаковке (одноразовые шприцы, перчатки)
- систем взятия крови
- чашек Петри

Облучение объектов в конечной упаковке производят на гамма-установках, ускорителях электронов и других источниках ионизирующего излучения дозой 25 кГр (2,5 Мрад) или другими дозами в зависимости от конкретных условий (микробная обсемененность продукции до стерилизации, радиорезистентность контаминантов, величина коэффициента надежности стерилизации).

Широкое распространение метода сдерживают:

- прямое влияние на объект
- косвенное влияние (появление после разрушения молекул нехарактерных для препарата)

5. СТЕРИЛИЗАЦИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ.

Ограниченно используют в производстве некоторых вакцин, при наличии оборудования для получения тонкого слоя материала. Также применяют для стерилизации некоторых полимерных изделий с сухими биохимическими реактивами для экспресс-идентификации м/о.

Ограничения использования вызваны:

- слабой проникающей способностью УФ-лучей
- фотохимическим воздействием на молекулы препарата, т.е. на светочувствительные объекты

6. СТЕРИЛИЗАЦИЯ ФИЛЬТРОВАНИЕМ

Используют для получения стерильных растворов термолабильных веществ, а также для получения стерильного технологического воздуха и подготовки воздуха для работы в чистых помещениях.

Для фильтрации применяют:

- **мембранные фильтры**, характеризуются ситовым механизмом задержания и постоянным размером пор при эксплуатации. Максимальный диаметр пор стерилизующего мембранного фильтра не превышает 0,3 мкм.)
- **глубинные фильтры** характеризуются сложным механизмом задержания (ситовым, адсорбционным, инерционным) и в большинстве случаев непостоянным размером пор.
-

Стерилизующее фильтрование жидкостей проводят для:

1. термически неустойчивых ГП или ПП (антибиотики, витамины)
2. иммунобиопрепаратов и термолабильных компонентов парентерального питания (аминокислоты)
3. термолабильных компонентов питательных сред и добавок для ферментации (40% глюкоза, р-р NH_3 , фенилуксусная кислота)

Для фильтрования воздуха используют фильтры из стекловолокна.

Для получения воды для инъекций, растворов дезинфицирующих веществ в производстве СЛС применяют метод обратного осмоса.

Минусы фильтрования на глубинных фильтрах (асбестовых):

- попадание волокон материала в фильтрат
- адсорбция белков из препарата на материал фильтра

Глубинные фильтры используют как **предфильтры**. После них устанавливается стерилизующий мембранный фильтр.

Для конечной стадии фильтрации обязательно используются фильтры с диаметром пор **0,22 мкм** (тогда как в м/б анализе – 0,45 мкм)

Для удаления вирусов из термолабильных жидкостей используют методы ультрафильтрации.

Материалы мембранных фильтров:

- эфиры целлюлозы
- ацетат целлюлозы
- полиамиды
- нейлон

Факторы обеспечения эффективной стерилизации фильтрованием

1. Характеристика или тип мембраны (наличие стерилизующей способности)
2. Качество подготовки системы фильтрования к работе (должна быть стерильна и герметична)

3. Свойства фильтруемой жидкости. Жидкости по их фильтруемости и необходимостью в предварительной обработке делят на:
- легкофильтруемые (водные растворы)
 - требующие дополнительной обработки
 - труднофильтруемые
- b, c – проводят предварительное центрифугирование для отделения крупных частиц, используют систему фильтров с постепенно уменьшающимся размером пор (5мкм – 0,5 мкм – 0,22 мкм)
4. Исходная концентрация клеток
Концентрация м/о должна быть минимальна. Наибольшая вероятность стерильности достигается при концентрации в 1 мл. раствора не более 100 клеток. С ростом числа м/о растет вероятность проникновения в фильтр.
- В фильтрат способны проникать м/о и частицы с размером меньше 0,22 мкм. (вирусы, споры *Bac. subtilis*, спиральные формы и м/о, лишенные клеточной стенки (микоплазмы))
5. Технологический режим фильтрования (давление, время фильтрации)
Для предотвращения неконтролируемого размножения на фильтре в ходе технологического процесса и возникновения пирогенности инъекционных растворов должно быть максимально сокращено время от момента ввода жидкости в систему до получения продукта (не более 8 часов).
При крупномасштабном фильтровании производят замену мембран или всей системы.
6. Условия производственной среды
Процесс стерилизующего фильтрования проводят в помещениях класса чистоты В.

Табл. Сравнение эффективности разных методов стерилизации. Тест-микрорганизмы использующиеся для контроля режимов.

Метод стерилизации	Показатели эффективности	Тест м/о для контроля
Паром под давлением	10^{-6}	<i>Bac. stearothermophilus</i> , <i>Cl. sporogenes</i>
Сухожаровой	10^{-12} , 180°C 2 часа	<i>Bac. subtilis</i> , <i>Bac. niger</i>
Газовый	10^{-2}	<i>Bac. subtilis</i>
Ионизирующего излучения	10^{-2}	<i>Bac. pumilus</i>
Фильтрование	10^{-3}	<i>Prevundimonas diminute</i>

7. КОНТРОЛЬ СОБЛЮДЕНИЯ ВЫБРАННОГО РЕЖИМА.

Используют различные методы контроля:

- Проводят периодическую проверку показаний манометров, термометров, дозиметрических устройств (проводится метрологической службой)
- Измеряют максимальную температуру в разных точках оборудования для стерилизации (особенно при введении новых автоклавов)
- Химический контроль. Используют химические индикаторы, которые меняют цвет под воздействием окиси этилена, ионизирующего излучения или температуры.

4. Биологический контроль.

Показатель эффективности – гибель тест-м/о используемого в качестве контроля. Используют м/о устойчивые к воздействиям (см. табл)

Пример: биоиндикатор для автоклава – суспензия спор *Bac. stearothermophilus* 10⁶ в МПБ с добавлением индикатора рН-перехода. Помещают в автоклав на 15 мин при 121°C, после чего термостатируют при 55°C. Содержимое ампулы при недостижении режима меняет цвет с фиолетового на желтый.

Минус биологического контроля – ретроспективность ответа.

Общие требования к организации контроля работы стерилизующих устройств:

1. Контроль должен быть постоянным и непрерывным в связи возможными дефектами оборудования
2. Средства контроля должны устраиваться в наименее благоприятных местах для стерилизующего воздействия
3. При использовании биологических индикаторов необходимо соблюдение строгих мер предосторожности для исключения попадания индикаторных м/о в сферу производства.