

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает методы и условия стерилизации, используемые при получении стерильных лекарственных средств.

Под стерильностью понимают отсутствие жизнеспособных микроорганизмов и их спор.

Стерилизация - это валидируемый процесс, используемый при получении стерильных лекарственных форм для освобождения продукта, оборудования, вспомогательных веществ и упаковки от живых микроорганизмов и их спор.

При изменении условий стерилизации, в том числе при изменении объема загрузки стерилизатора, необходимо проводить повторную валидацию.

Методы, описанные ниже, применимы для инактивации бактерий, дрожжевых и плесневых грибов.

По возможности продукцию стерилизуют в конечной упаковке (финишная стерилизация).

В случаях, когда финишная стерилизация невозможна, используют метод мембранной фильтрации или получение лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта. Дополнительно возможно проводить обработку объекта (например, стерилизация гамма-излучением) в конечной упаковке. Во всех случаях упаковка и укупорочные средства должны обеспечивать стерильность препарата в течение всего срока годности.

Уровень обеспечения стерильности

Для методов, описанных ниже, в случае необходимости, указывают уровень обеспечения стерильности (УОС).

Уровень обеспечения стерильности процесса стерилизации - это степень гарантии, с которой процесс обеспечивает стерильность всех единиц продукции в серии. Для конкретного процесса уровень обеспечения стерильности определяется как вероятность наличия нестерильной единицы в

серии. Например, $УОС = 10^{-6}$ означает, что в подвергнутой стерилизации серии готового

продукта объемом 10^{-6} единиц существует вероятность наличия не более одного жизнеспособного микроорганизма. Уровень обеспечения стерильности процесса стерилизации для конкретного продукта устанавливают в процессе валидации.

Методы и условия стерилизации

Стерилизация может быть проведена одним из следующих методов или их комбинацией.

1. Термические методы:

- насыщенным водяным паром под давлением (автоклавирование);
- горячим воздухом (воздушная стерилизация).

2. Химические методы:

- газами;

- растворами антисептиков.

3. Стерилизация фильтрованием (через фильтры с требуемым размером пор).

4. Радиационный метод стерилизации.

Использование модификации или комбинации этих методов допускается при условии проведения валидации выбранного процесса стерилизации, чтобы обеспечить как эффективность процесса, так и целостность продукта, упаковки и укупорочных средств.

Для всех методов стерилизации, в том числе при использовании стандартных условий, для подтверждения обеспечения необходимых условий стерилизации всей серии продукта, на протяжении всего процесса стерилизации проводят мониторинг на критических стадиях производства.

Термическая стерилизация

Стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование)

Стерилизацию насыщенным паром осуществляют при температуре 120 - 122°C под давлением 120 кПа и при температуре 130 - 132°C под давлением 200 кПа. Этот метод чаще всего применяют для водных растворов и других жидких лекарственных форм в герметично укупоренных, предварительно простерилизованных флаконах, ампулах или других видах упаковки. Стерилизацию проводят в паровых стерилизаторах (автоклавах). Стандартными условиями являются нагревание при температуре 120 - 122°C в течение 8 - 15 мин. Время стерилизации зависит от физико-химических свойств и объема продукта, а также используемого оборудования ([табл. 1](#)).

Таблица 1 - Время стерилизации для различного объема раствора

Объем продукта, мл	Минимальное время стерилизации, мин
до 100	8
от 100 до 500	12
от 500 до 1000	15

Жиры и масла стерилизуют при температуре 120 - 122°C в течение 2 ч.

Изделия из стекла, фарфора, металла, перевязочные и вспомогательные материалы, при необходимости санитарную технологическую одежду, стерилизуют при температуре 120 - 122°C - в течение 45 мин, при 130 - 132°C - в течение 20 мин. Для стерилизации изделий из резины следует использовать первый из указанных режимов.

Допускаются другие сочетания времени и температуры, если предварительно доказано, что

выбранный режим стерилизации обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень гибели микроорганизмов. Используемые процедуры должны обеспечивать уровень обеспечения

стерильности не более 10^{-6} .

Автоклав загружают таким образом, чтобы обеспечить однородность температуры в пределах всей загрузки. В процессе автоклавирования следует регистрировать условия процесса стерилизации (температуру, давление и время). Температуру, как правило, измеряют с помощью термочувствительных элементов, помещенных в контрольные упаковки, вместе с дополнительными термоэлементами, помещенными в самые низкотемпературные места стерилизационной камеры, которые устанавливаются заранее. Условия каждого цикла стерилизации регистрируются, например, в виде температурно-временной диаграммы или другим подходящим способом.

Для оценки эффективности каждого цикла стерилизации возможно использование как химических (термовременных), так и биологических индикаторов.

Стерилизация горячим воздухом (воздушная стерилизация)

Для этого метода термической стерилизации стандартными условиями являются нагревание при температуре не менее 160°C в течение не менее 2 ч.

Для стерилизации термостойких порошкообразных веществ (натрия хлорида, цинка оксида, талька, белой глины и др.) или минеральных и растительных масел, жиров, ланолина, вазелина, воска и др. температуру и время стерилизации устанавливают в зависимости от массы образца ([табл. 2](#) и [3](#)).

Таблица 2 - Условия стерилизации для термостойких порошкообразных веществ

Масса образца, г	Температура, °C	Минимальное время стерилизации, мин
до 25	180	30
	200	10
от 25 до 100	180	40
	200	20
от 100 до 200	180	60
	200	30

Таблица 3 - Условия стерилизации для

минеральных и растительных масел, жиров, ланолина, вазелина, воска и др.

Масса образца, г	Температура, °С	Минимальное время стерилизации, мин
до 100	180	30
	200	15
от 100 до 500	180	40
	200	20

Изделия из стекла, металла, фарфора, установки для стерилизующего фильтрования с фильтрами и приемники фильтрата стерилизуют при температуре 180°C в течение 60 мин, или при температуре 160°C - в течение 2,5 ч.

Воздушную стерилизацию при температуре более 220°C обычно применяют для стерилизации и депирогенизации стеклянной упаковки. В этом случае должно быть доказано уменьшение на 3 порядка количества термостойких эндотоксинов вместо использования биологических индикаторов.

Допускается использование сочетаний времени и температуры, если предварительно доказано, что выбранный режим стерилизации обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень гибели микроорганизмов. Используемые процедуры должны обеспечивать уровень обеспечения

стерильности не более 10^{-6} .

Воздушную стерилизацию проводят в специальном сухожаровом шкафу с принудительной циркуляцией стерильного воздуха или на другом оборудовании, специально предназначенном для этих целей. Стерилизационный шкаф загружают таким образом, чтобы обеспечить однородность температуры в пределах всей загрузки. Температуру в стерилизационном шкафу, как правило, измеряют с помощью термочувствительных элементов, помещенных в контрольные упаковки, вместе с дополнительными термоэлементами, помещенными в самые низкотемпературные места стерилизационного шкафа, которые устанавливаются заранее. В ходе каждого цикла стерилизации регистрируют температуру и время. Для оценки эффективности каждого цикла стерилизации возможно использование как химических (термовременных), так и биологических индикаторов.

Химическая стерилизация

Химическую стерилизацию проводят газом или растворами.

Газовая стерилизация

Стерилизация газом применяется только в случае, если не могут быть использованы другие методы. При этом способе стерилизации должно быть обеспечено проникновение газа и влаги в стерилизуемый продукт, а также последующая дегазация и удаление продуктов его разложения в стерилизуемом продукте до уровня, не вызывающего токсического эффекта при применении лекарственного средства.

Стерилизацию газом проводят в газовых стерилизаторах или микроанаэростатах (портативный аппарат), оборудованных системой подачи газа и постстерилизационной дегазации. В качестве газа обычно используют оксид этилена. В связи с его высокой пожароопасностью, допускается его смешивание с каким-либо инертным газом.

Стерилизацию газом проводят при следующих режимах:

- оксид этилена: стерилизующая доза 1200 мг/дм^3 , температура не менее 18°C , относительная влажность 80%, время выдержки - 16 ч (портативный аппарат);

- смесь оксида этилена и бромистого метила (1:2,5):

а) стерилизующая доза 2000 мг/дм^3 , температура 55°C , относительная влажность 80%, время выдержки 4 ч;

б) стерилизующая доза 2000 мг/дм^3 , температура не менее 18°C , относительная влажность 80%, время выдержки 16 ч.

Допускается использование других валидированных режимов газовой стерилизации, обеспечивающих стерильность и сохранность объекта.

Оксид этилена может проявлять мутагенные свойства и токсичность, особенно при использовании материалов, содержащих ионы хлора. В связи с токсичностью оксида этилена и бромистого метила применение стерилизованных этими газами изделий допускается только после их дегазации, т.е. выдержки в вентилируемом помещении до допустимых остаточных количеств, указанных в нормативной документации.

Условия дегазации зависят от назначения, способа применения, размеров изделий, материала изделия и упаковки и указываются в нормативно-технической документации на изделие.

По возможности в процессе стерилизации регистрируют следующие показатели: концентрацию газа, относительную влажность, температуру и время стерилизации. Измерения проводят в тех зонах, где условия стерилизации достигаются хуже всего, что устанавливают в процессе валидации.

Стерилизуемые изделия упаковывают в пакеты из полиэтиленовой пленки толщиной от 0,06 до 0,20 мм, пергамент и др. Метод рекомендован для изделий из резины, полимерных материалов, стекла, металла.

Эффективность процесса газовой стерилизации проверяют при каждой загрузке с помощью биологических индикаторов.

Перед выпуском каждой серии проверяют стерильность на определенном количестве образцов.

Химическая стерилизация растворами

Химическую стерилизацию проводят растворами антисептиков (водорода пероксид и надкислоты). Эффективность стерилизации растворами антисептиков зависит от концентрации активно действующего вещества, времени стерилизации и температуры стерилизующего раствора.

При стерилизации 6% раствором водорода пероксида температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18°C , время стерилизации - 6 ч; при температуре 50°C - 3 ч.

При стерилизации 1% раствором дезоксона-1 (по надуксусной кислоте) температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18°C , время стерилизации 45 мин.

Химическую стерилизацию растворами антисептиков проводят в закрытых емкостях из стекла, пластмассы или емкостях, покрытых неповрежденной эмалью, при полном погружении изделия в

раствор на время стерилизации. После этого изделие промывают стерильной водой в асептических условиях.

Метод стерилизации растворами антисептиков применяют для изделий из полимерных материалов, резины, стекла, коррозионно-стойких металлов.

Стерилизация фильтрованием

Некоторые действующие вещества и лекарственные препараты, которые не могут быть подвергнуты финишной стерилизации ни одним из описанных выше методов, могут быть простерилизованы с использованием мембранных фильтров. Такие продукты требуют соблюдения специальных мер предосторожности. Производственный процесс и производственная среда должны обеспечивать минимальный риск микробного загрязнения и требуют регулярного мониторинга. Оборудование, упаковка, укупорочные средства и, по возможности, ингредиенты следует подвергать соответствующей стерилизации. Рекомендуется проводить фильтрацию непосредственно перед наполнением упаковки. Операции, следующие за фильтрацией, проводят в асептических условиях.

Предварительную фильтрацию осуществляют через мембранные фильтры с размером пор не более 0,45 мкм. Затем растворы пропускают через мембранные фильтры с номинальным размером пор не более 0,22 мкм, способные задерживать не менее 10^7 микроорганизмов *Pseudomonas diminuta* на квадратный сантиметр поверхности. Допускается использование других типов фильтров, обеспечивающих такую же эффективность фильтрации.

Пригодность мембранных фильтров устанавливают путем микробиологических испытаний с использованием соответствующих микроорганизмов, например, *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146, NCIMB 11091 или CIP 103020). Рекомендуется использовать не менее 10^7 КОЕ/см² активной поверхности фильтра. Суспензия микроорганизмов должна быть приготовлена в триптонно-соевом бульоне, который после прохождения через фильтр собирают асептически и инкубируют в аэробных условиях при температуре не более 32°C.

Уровень фильтрации определяют как величину логарифма снижения (ВЛС) микробной загрязненности. Например, если при фильтрации через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм задерживается 10^7 микроорганизмов, ВЛС составляет не менее 7.

Следует учитывать уровень микробной контаминации до начала фильтрации, пропускную способность фильтра, объем серии продукта, продолжительность фильтрации, а также избегать загрязнений продукта микроорганизмами с фильтра. Срок использования фильтра не должен превышать времени, установленного при валидации данного фильтра в сочетании с конкретным фильтруемым продуктом. Не следует повторно использовать мембранные фильтры.

Целостность готового к применению мембранного фильтра проверяют до и после фильтрации путем испытаний, соответствующих типу фильтра и стадии проверки, например, испытанием на определение насыщенности ("точка пузырька") методом диффузионного потока или выдержкой под давлением.

В связи с тем, что при проведении стерилизации фильтрованием существует больший потенциальный риск по сравнению с другими методами стерилизации, рекомендуется проводить предварительную фильтрацию через мембранные фильтры в тех случаях, когда низкий уровень микробной контаминации не может быть обеспечен другими средствами.

Получение лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта

Целью получения лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта является сохранение стерильности препарата с использованием компонентов, каждый из которых был предварительно простерилизован одним из вышеописанных методов. Это достигается путем проведения процесса в помещениях определенного класса чистоты, а также использования условий и оборудования, обеспечивающих стерильность.

В асептических условиях могут осуществляться: процесс наполнения упаковки, укупорка, асептическое смешивание ингредиентов с последующим асептическим наполнением и укупоркой. Для сохранения стерильности ингредиентов и готового продукта в ходе производственного процесса особое внимание следует уделять:

- состоянию производственной среды;
- персоналу;
- критическим поверхностям;
- стерилизации упаковки и укупорочных средств и передаточным процедурам;
- предельно допустимому времени хранения продукта до момента наполнения конечной упаковки.

Валидация процесса включает надлежащую проверку всех перечисленного выше пунктов, а также систематический контроль с применением имитационных тестов с использованием питательной среды, которую инкубируют и исследуют на наличие микробной контаминации (тесты на заполнение питательными средами). Перед выпуском каждой серии продукта, простерилизованного фильтрованием и/или изготовленного в асептических условиях, следует проводить испытания стерильности на соответствующем количестве образцов.

Радиационный метод стерилизации

Радиационный метод стерилизации осуществляют путем облучения продукта ионизирующим излучением. Данный метод может быть использован для стерилизации лекарственного растительного сырья, лекарственных растительных препаратов, лекарственных средств растительного происхождения и др.

γ -излучение, источником которого может быть либо радиоизотопный элемент (например, кобальт-60), либо пучок электронов, подаваемый соответствующим ускорителем электронов.

Для этого метода стерилизации дозу поглощения устанавливают от 10 до 50 кГр. Допускается использование других доз, если предварительно доказано, что выбранный режим обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень летальности микроорганизмов. Используемые процедуры и меры предосторожности должны обеспечивать уровень обеспечения стерильности не более

10^{-6}

Преимуществом радиационной стерилизации является ее низкая химическая активность и легко контролируемая доза излучения, которая может быть точно измерена. Радиационная стерилизация проходит при минимальной температуре, однако могут быть ограничения при использовании некоторых типов стеклянной и пластиковой упаковки.

В процессе радиационной стерилизации следует постоянно осуществлять мониторинг поглощенного готовым продуктом излучения при помощи установленных дозиметрических методов независимо от величины дозы. Дозиметры калибруют по отношению к стандартному источнику на эталонной радиационной установке при получении от поставщика и затем с периодичностью, не превышающей одного года.

Если предусмотрена биологическая оценка, ее проводят с использованием биологических индикаторов.

Биологические индикаторы стерилизации

Биологические индикаторы - это стандартизованные препараты определенных микроорганизмов, используемые для оценки эффективности процесса стерилизации.

Биологический индикатор обычно представляет собой споры бактерий, нанесенные на инертный носитель, например, полоску фильтровальной бумаги, стеклянную пластинку или пластиковую пробирку. Инокулированный носитель изолируют так, чтобы предотвратить его повреждение или загрязнение и, в то же время, обеспечить контакт стерилизующего агента с микроорганизмами. Суспензии спор могут находиться в герметично запаянных ампулах.

Биологические индикаторы готовят таким образом, чтобы обеспечить их сохранность при определенных условиях; для них должен быть указан срок годности.

Те же штаммы бактерий, что используют при производстве биологических индикаторов, могут быть инокулированы непосредственно в жидкий продукт, подлежащий стерилизации, или в жидкий продукт, аналогичный стерилизуемому. В этом случае должно быть доказано, что жидкий продукт не оказывает ингибирующего действия на споры, особенно на их прорастание.

Для биологического индикатора указывают следующие характеристики: вид бактерий, используемых в качестве эталонных микроорганизмов; номер штамма в исходной коллекции; число жизнеспособных спор, приходящееся на носитель; величину D.

Величина D - значение параметра стерилизации (продолжительность или поглощенная доза), обеспечивающее снижение числа жизнеспособных микроорганизмов до 10% от их исходного числа. Эта величина имеет смысл для строго определенных экспериментальных условий стерилизации.

Биологический индикатор должен содержать только указанные микроорганизмы. Допускается использование биологических индикаторов, содержащих более одного вида бактерий на одном носителе. Должна быть указана информация о питательной среде и условиях инкубации.

Рекомендуется размещать индикаторы в областях, наименее доступных для стерилизующего агента, определенных предварительно эмпирически или на основании предварительных физических измерений. После воздействия стерилизующего агента носитель спор переносят на питательную среду в асептических условиях.

Допускается использование биологических индикаторов промышленного производства в закрытых ампулах с питательной средой, помещенных непосредственно в упаковку, защищающую инокулированный носитель.

Выбор эталонных микроорганизмов для биологических индикаторов осуществляют с учетом следующих требований:

- устойчивость тест-штамма к конкретному методу стерилизации должна быть выше по сравнению с устойчивостью всех патогенных микроорганизмов и других микроорганизмов, контаминирующих продукт;

- тест-штамм должен быть непатогенным;

- тест-штамм должен легко культивироваться.

Если после инкубации наблюдается рост эталонных микроорганизмов, это свидетельствует о неудовлетворительно проведенном процессе стерилизации.

Особенности применения биологических индикаторов стерилизации

Стерилизация насыщенным паром под давлением. Биологические индикаторы для контроля стерилизации насыщенным паром под давлением рекомендуется использовать при валидации циклов стерилизации. Рекомендуется использовать *Bacillus stearothermophilus* (например, ATCC 7953, NCTC 10007, NCIMB 8157 или CIP 52.81). Число жизнеспособных спор должно превышать $1 \cdot 10^5$ на носитель. Величина D при температуре 121°C должна составлять более 1,5 мин. При обработке биологического индикатора паром при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ под давлением 120 кПа в течение 6 мин должно наблюдаться сохранение жизнеспособных спор, а обработка при той же температуре в течение 15 мин должна приводить к полной гибели эталонных микроорганизмов.

Воздушная стерилизация. Рекомендуется использовать для приготовления биологических индикаторов *Bacillus subtilis* (например, var. niger ATCC 9372, NCIMB 8058 или CIP 77.18). Число жизнеспособных спор должно превышать $1 \cdot 10^5$ на носитель, величина D при температуре 160°C составляет 1-3 мин. Для стерилизации и депирогенизации стеклянного оборудования часто используют горячий воздух при температуре более 220°C. В этом случае заменой биологическим индикаторам может служить снижение на 3 порядка количества термостойких бактериальных эндотоксинов.

Радиационная стерилизация. Биологические индикаторы могут использоваться для мониторинга текущих операций в качестве дополнительной оценки эффективности установленной дозы излучения, особенно в случае стерилизации ускоренными электронами. Рекомендуются споры *Bacillus pumilus* (например, ATCC 27.142, NCTC 10327, NCIMB 10692 или CIP 77.25). Число жизнеспособных спор должно превышать $1 \cdot 10^7$ на носитель. Величина D должна составлять более 1,9 кГр. Следует убедиться, что после облучения биологического индикатора дозой 25 кГр (минимальная поглощенная доза) рост эталонных микроорганизмов не наблюдается.

Газовая стерилизация. Использование биологических индикаторов необходимо при проведении всех процедур газовой стерилизации как при валидации циклов, так и при проведении рутинных операций. Рекомендуется использовать споры *Bacillus subtilis* (например, var. niger ATCC 9372, NCIMB 8058 или CIP 77.18) при использовании этилена оксида. Число жизнеспособных спор

должно превышать $5 \cdot 10^5$ на носитель. Параметры устойчивости следующие: величина D составляет более 2,5 мин для испытания цикла при концентрации этилена оксида 600 мг/л, температуре 54°C и 60% относительной влажности. Следует убедиться, что после 60-минутного цикла стерилизации с указанными параметрами не наблюдается рост эталонных микроорганизмов, тогда как после 15 мин цикла стерилизации при более низкой температуре (600 мг/л, 30°C, 60% влажности) жизнеспособность спор сохраняется.

Биологический индикатор должен позволять обнаруживать недостаточную влажность в стерилизаторе и продукте: при воздействии на него этилена оксида концентрации 600 мг/л при температуре 54°C в течение 60 мин без увлажнения должна сохраняться жизнеспособность спор.