

Validacija čišćenja prostora i opreme iz perspektive zahtjeva dobre proizvođačke prakse

Cifrek, Toni

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:215717>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-27**

Repository / Repozitorij:

BIotech

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
Istraživanje i razvoj lijekova

Toni Cifrek

Validacija čišćenja prostora i opreme iz perspektive zahtjeva dobre
proizvođačke prakse

Diplomski rad

Rijeka, 2022. godine

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
Istraživanje i razvoj lijekova

Toni Cifrek

Validacija čišćenja prostora i opreme iz perspektive zahtjeva dobre
proizvođačke prakse

Diplomski rad

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Siniša Tomić

Rijeka, 2022. godine

UNIVERSITY OF RIJEKA
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
Graduate programme
Drug research and development

Toni Cifrek

Validation of premises and equipment cleaning from the perspective of good
manufacturing practice

Graduate thesis

Rijeka, 2022.

Zahvala

Ovim putem zahvaljujem se profesoru i mentoru dr. sc. Siniši Tomiću na mentorstvu i pruženoj prilici za izradu ovog rada, kao i na znanju prenesenom tijekom studija. Zahvaljujem i dr. sc. Lovorki Pitarević na pomoći i uloženom trudu prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem svim profesorima Odjela za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci na prenesenom znanju tijekom cijelog trajanja studija.

Neizmjereno hvala mojoj obitelji i prijateljima što ste vjerovali u mene i bili uz mene tijekom studiranja.

Diplomski rad obranjen je dana: 23. rujna 2022. godine
pred povjerenstvom:

1. doc. dr. sc. Željka Maglica (predsjednica povjerenstva)
2. prof. dr. sc. Marta Žuvić
3. izv. prof. dr. sc. Petra Karanikić
4. dr. sc. Lovorka Pitarević (komentor)

Rad ima 62 stranice, 3 slike, 5 tablica i 15 literaturnih navoda.

Sažetak

Inspekcija dobre proizvođačke prakse (DPP) kod proizvođača lijekova je složen postupak za koji je potrebno planiranje i sagledavanje svih kritičnih postupaka u proizvodnji koji mogu utjecati na proizvodnju lijekova te posljedično imati utjecaj na pacijenta. U kritične procese prilikom proizvodnje se svakako ubraja čišćenje prostorija i opreme koje treba biti dobro definirano te validirano. Validacija čišćenja prostorija i opreme je dokumentirani postupak kojim se dokazuje da postupci čišćenja uklanjaju ostatke djelatnih ili pomoćnih tvari, sredstava za čišćenje ili drugih onečišćenja do unaprijed definirane granice određene kriterijima prihvatljivosti. Provedba provjere valjanosti čišćenja mora biti opisana u protokolu validacije i zabilježena u izvješću o validaciji. Izmjene u postupku čišćenja potrebno je procijeniti kroz proces kontrole izmjena, a u skladu s procjenom rizika potrebno je provesti revalidaciju. U ovome su radu razmatrana dva pristupa validacije čišćenja na temelju primjera iz prakse. Pristup validaciji čišćenja specifičan za proizvod razmatran je na primjeru proizvodnje sterilnog proizvoda koji sadrži djelatnu tvar busulfan te je izračunato MACO ograničenje za prijenos djelatne tvari uspoređeno s vrijednostima koje u protokolu validacije čišćenja navodi proizvođač. Pristup validaciji čišćenja specifičan za opremu razmatran je na drugom primjeru proizvodnje šest sterilnih proizvoda na istoj proizvodnoj liniji, a za validaciju čišćenja odabran je sterilni proizvod koji sadrži djelatnu tvar desmopresin kao najkritičniji na temelju ADE vrijednosti. Procjenom rizika utvrđeno je da validacija čišćenja ne podržava proizvodnju injekcije eptifibatida nakon proizvodnje injekcije desmopresina. Validacija čišćenja podržava proizvodnju ostalih injekcija u proizvodnoj liniji nakon proizvodnje injekcije desmopresina.

Ključne riječi: inspekcija DPP, validacija čišćenja, MACO vrijednost

Summary

Good manufacturing practice (GMP) inspection at medicines manufacturing sites is a complex procedure which includes meticulous planning. Within the inspection an overview of all processes must be performed, especially ones that are considered to be critical for the product quality and consequently for the patient. Cleaning of premises and equipment is considered to be a critical process hence it should be well defined and validated. Cleaning validation is a documented procedure that proves that removal of the traces of active substances and excipients, detergents or any other defined impurities is conducted successfully up to the set limit. Validation protocol has to document the validity cleaning procedures checks and later documented in the report. Any changes in the validated cleaning procedure should risk assessed and the result could be a re-validation. In this thesis two different approaches found in the practice were explained and assessed using a real life examples. Approach specific for the single sterile medicine production was assessed based on example of manufacturing of the sterile product containing active pharmaceutical ingredient busulfan. MACO limit for busulfan is calculated and compared with the values given by manufacturer in validation protocol. Equipment-specific approach was assessed based on another example of the production of six sterile medicine products on the same production line, and for cleaning validation the sterile product containing the active pharmaceutical ingredient desmopresin was selected as the most critical based on the ADE value. The risk assessment determined that cleaning validation does not support production of eptifibatide injection after production of desmopresin injection. Cleaning validation supports the production of other injections in the production line after the production of desmopresin injection.

Key words: GMP inspection, cleaning validation, MACO value

Sadržaj

1.	UVOD.....	1
2.	LITERATURNI PREGLED.....	2
2.1.	Zahtjevi i smjernice za postupke čišćenja	2
2.2.	Provedba validacije čišćenja	4
2.3.	Sastavljanje dokumentacije i uputa za čišćenje	8
2.3.1.	Standardna Operativna Procedura validacije čišćenja.....	9
2.3.2.	Protokol validacije i izvješće o validaciji čišćenja	11
2.3.3.	Glavni plan validacije čišćenja.....	12
2.4.	Određivanje opsega validacije čišćenja	15
2.4.1.	<i>Bracketing</i>	15
2.4.2.	Validacijska matrica	17
2.5.	Kriteriji prihvatljivosti i izračuni ograničenja.....	18
2.5.1.	Izračun ostataka djelatne tvari.....	18
2.5.2.	Izračun ostataka sredstva za čišćenje	25
2.5.3.	Određivanje mikrobiološkog statusa.....	27
2.6.	Procedure ili postupci uzorkovanja.....	27
2.6.1.	Izravno uzorkovanje (test brisa).....	28
2.6.2.	Neizravno uzorkovanje (test ispiranja)	30
2.6.3.	Druge procedure uzorkovanja	32
2.6.4.	Mikrobiološko testiranje površine	33
2.7.	Analitičke metode i postupci	34
2.8.	Kontrola izmjena i revalidacija	38
2.8.1.	Revalidacija povezana s izmjenama	40
2.8.2.	Periodična revalidacija	42
3.	SVRHA I CILJ RADA	43
4.	MATERIJALI I METODE	44
5.	REZULTATI	45
5.1.	Pristup specifičan za proizvod.....	45
5.2.	Pristup specifičan za opremu (procjena rizika za proizvodno mjesto)	50
7.	ZAKLJUČAK	59
8.	LITERATURA	61

1. UVOD

Postupci čišćenja prostora i proizvodne opreme trebaju biti jasno definirani te potvrđeni uspješno provedenom validacijom. Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije (*World Health Organisation, WHO*), validacija čišćenja prostora i opreme je dokumentirani dokaz koji potvrđuje da postupci čišćenja uklanjaju ostatke prethodnog proizvoda, sredstava za čišćenje ili drugih onečišćenja do unaprijed određene razine prihvatljivosti, uzimajući u obzir čimbenike kao što su veličinu serije, doziranje, toksikologija i veličina proizvodne opreme. Također, validacija čišćenja je suštinski dio dobre proizvođačke prakse (*Good Manufacturing Practice, GMP*) i dobre kliničke prakse (*Good Clinical Practices, GCP*) te je dio farmaceutskog sustava kvalitete. Validacijskim postupkom se osigurava da postupak čišćenja koji je odabran na osnovu različitih kriterija i znanstvenih osnova jamči da je očišćena oprema prikladna za upotrebu u proizvodnji farmaceutskih proizvoda i djelatnih tvari. Postupak čišćenja mora ispunjavati unaprijed postavljene kriterije prihvatljivosti kako bi bio odobren za daljnju primjenu. Koncept same validacije uključuje i kvalifikaciju te bi trebala biti primjenjivana tokom cijelog životnog ciklusa određenih proizvoda, postupaka, sustava i opreme.

Farmaceutski proizvodi te djelatne tvari mogu biti kontaminirani drugim farmaceutskim proizvodima ili djelatnim tvarima, sredstvima za čišćenje, mikroorganizmima te drugim materijalima. Često se u industriji zajednička oprema koristi za obradu različitih proizvoda, zbog čega je važno utvrditi odgovarajući postupak čišćenja. Stoga, validacija čišćenja prostora i opreme osigurava da na kvalitetu farmaceutskih i medicinskih proizvoda ne utječe unakrsna kontaminacija od prethodnog proizvoda, ostataka tenzida ili mikroorganizama. Prevencija moguće kontaminacije i unakrsne kontaminacije farmaceutskih početnih materijala i proizvoda ujedno je jedan od ciljeva dobre proizvođačke prakse.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Zahtjevi i smjernice za postupke čišćenja

Važno je uspostaviti pisane postupke čišćenja za sve dijelove opreme i površine koje su u kontaktu s proizvodom. Prostori i oprema moraju biti smješteni, projektirani, izgrađeni, prilagođeni i održavani tako da odgovaraju postupcima za koje su predviđeni. Njihov raspored i dizajn mora imati za cilj minimiziranje rizika od pogreške te omogućiti učinkovito čišćenje i održavanje u svrhu izbjegavanja unakrsne kontaminacije, nakupljanja prašine ili prljavštine te bilo kakvog negativnog utjecaja na kvalitetu proizvoda.[1] Potrebna je provjera dizajna opreme i površinskih materijala na opremi koji bi mogli ugroziti uspjeh čišćenja. Automatizirani procesi čišćenja (*Clean-In-Place*, CIP sustavi) zahtijevaju uspostavu parametara procesa, primjerice tlaka, temperature i vremena.

Uspostavljeni postupak čišćenja mora imati unaprijed definiran cilj. To je ujedno i preduvjet za analizu rizika koja određuje kritične parametre i njihov utjecaj na cilj čišćenja. Kritični parametri su specifični za različite proizvode, opremu i procese. Nakon analize rizika prihvatljivo je grupirati opremu usporedivog dizajna i proizvode s usporedivim kemijskim i fizikalnim svojstvima te odabrati po jednog predstavnika svake grupe kao objekt validacije. Odabir se provodi prema pristupu najgoreg slučaja, a mora biti znanstveno, literaturno i iskustveno utemeljen te dokumentiran.[2]

Prije početka validacije čišćenja potrebno je odrediti kriterije prihvatljivosti koji predstavljaju ograničenja za određene parametre.

Tablica 1. Kriteriji prihvatljivosti za postupke čišćenja prema vrsti onečišćenja

Ostaci prethodnog proizvoda	Ostaci sredstva za čišćenje	Mikrobiološki status
Kriterij doze (1/1000)	<i>Maximum acceptable carry over (MACO)</i>	Broj mikroba po jedinici površine (CFU/cm ²)
Kriterij količine (10 ppm)		
Vizualno čisto		

Kako bi se utvrdilo jesu li parametri navedeni u Tablici 1. unutar unaprijed postavljenih ograničenja, potrebno je provesti postupak uzorkovanja, koji može biti izravan (test brisa) ili neizravan (test ispiranja). Kvantitativno i kvalitativno određivanje ostataka prethodnog proizvoda, sredstva za čišćenje ili drugih onečišćenja nakon uzorkovanja provodi se validiranim analitičkim metodama. Vrijeme u kojem se uzorkovanje provodi je od značajne važnosti, pogotovo pri provedbi postupaka čišćenja koji uključuju nekoliko faza (npr. čišćenje, ispiranje, sušenje,...). Nedovoljni postupci sušenja posljedično mogu dovesti do povećanog rasta mikroorganizama na opremi. Važno je obratiti pažnju na vrijeme kada se uzorkovanje provodi pri određivanju broja mikroorganizama na opremi te prethodno provjeriti suhoću opreme.[2]

Proizvodnja placebo serije kao metode za određivanje količine ostataka onečišćenja u sljedećem proizvodu nije prikladna kao isključiva te se predlaže dodatak testa brisa ili ispiranja. Naime, nije sigurno da će sva prisutna onečišćenja s površine opreme biti prenesena prilikom proizvodnje u placebo seriju. Neravnomjerna distribucija ostataka onečišćenja unutar placebo serije, pogotovo većih čestica, može uzrokovati probleme prilikom analitičkih određivanja. Testiranje do zadovoljavajuće čistoće također nije prihvatljivo kao metoda provjere valjanosti čišćenja, iako je zabilježena prilikom nadzora

proizvođača. Takav način testiranja provodi se ponavljanjem postupaka uzorkovanja i testiranja opreme do ispunjenja prethodno postavljenih kriterija prihvatljivosti što ukazuje da metoda čišćenja nije validirana s obzirom da se ponavljanjem navedenih postupaka zapravo dokumentira prisutnost neprihvatljivog onečišćenja i kontaminanata.[3]

2.2. Provedba validacije čišćenja

Validacija postupka čišćenja provodi se u slučajevima kada je potrebno kritično čišćenje, odnosno čišćenje između proizvodnje različitih proizvoda, površina koje dolaze u kontakt s proizvodima, farmaceutskim proizvodima i djelatnim tvarima.[4] Različiti procesi proizvodnje ili pakiranja u farmaceutskoj industriji uključuju temperaturne, kemijske, vremenske i mehaničke čimbenike koji mogu utjecati na kvalitetu proizvoda. Ti čimbenici se identificiraju tijekom razvoja proizvoda i na taj način olakšavaju optimizaciju procesa čišćenja. Provedba validacije procesa čišćenja omogućuje procjenu učinka navedenih čimbenika na konačan proizvod. Nužno je optimizirati postojeće postupke čišćenja, kao i one koji se tek razvijaju, prije same provedbe validacije. Cilj optimizacije postupaka čišćenja je razviti proceduru čišćenja koja je učinkovita u najgorim uvjetima („*worst case scenario*“), isplativa te da ju je moguće validirati.[5]

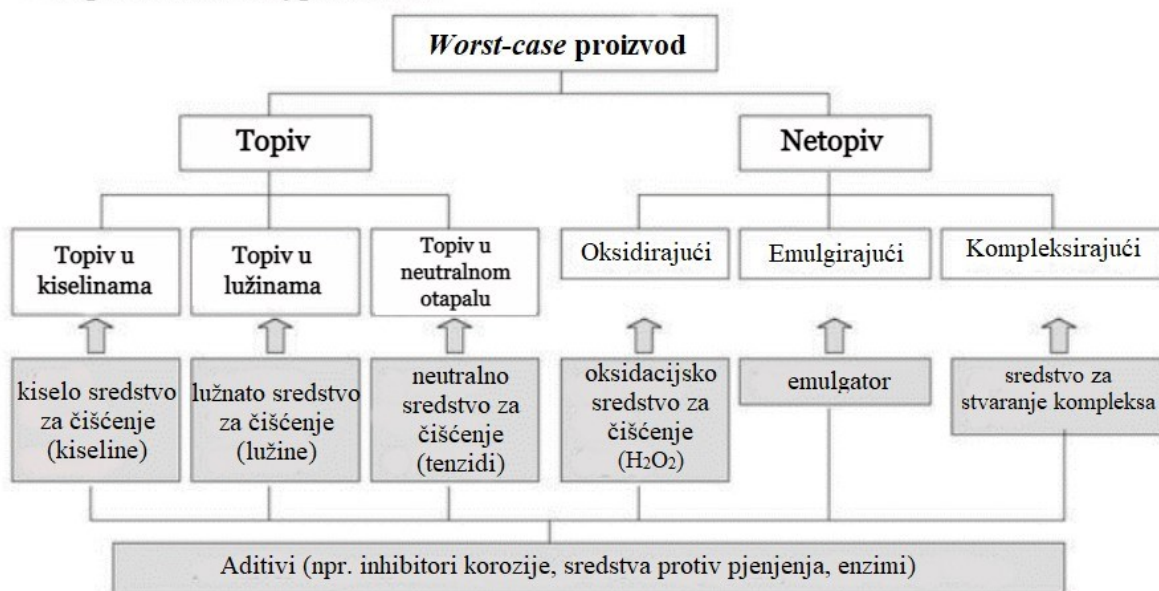
Nije potrebno pojedinačno provjeravati procedure čišćenja za proizvode i procese koji su vrlo slični. Prihvatljivo je odabrati reprezentativan raspon sličnih proizvoda i procesa te opravdati program validacije koji se bavi kritičnim pitanjima za odabrane proizvode i procese. Tada se pristupa validaciji koja razmatra odabrani „najgori slučaj“. Najgori slučaj definira se kao uvjet ili skup uvjeta koji obuhvaćaju gornje i donje granice obrade za radne parametre

i okolnosti, unutar standardnih operativnih procedura (SOP), a predstavljaju najveću mogućnost neispravnosti proizvoda ili procesa u usporedbi s idealnim uvjetima. Takvi uvjeti ne uključuju nužno neispravnost proizvoda ili procesa.[6] Potrebno je precizno definirati najgori slučaj i uzeti u obzir sve relevantne kriterije za osiguranje učinkovitosti čišćenja u najgorim uvjetima. Navedena praksa naziva se „*bracketing*“.[7] Primjerice, najgori slučaj predstavlja talog koji se najteže čisti unutar svake skupine taloga za koje je potreban pojedinačni postupak čišćenja (talози topivi u kiselom ili u bazičnom otapalu). U slučaju da se taj talog može očistiti na pouzdan način, učinkovitost postupka osigurava se za sve ostale taloge iz iste skupine koji se lakše čiste. Osim toga, najgori slučaj može predstavljati najmanja moguća veličine serije nekog proizvoda, najveća masa pojedinog oblika doziranja te dio opreme ili prostora teško dostupan za čišćenje.

Faza optimizacije uključuje uspostavljanje kemijskih, temperaturnih, mehaničkih i vremenskih parametara koji utječu na rezultat postupka čišćenja. Pri odabiru sredstva za čišćenje uzimaju se u obzir svojstva topivosti najgoreg slučaja, koja su određena svim tvarima u formulaciji, a ne samo djelatnom tvari.[5]

Odabir sredstva za čišćenje

- Topivost kao kriterij prikladnosti



Slika 1. Plan odabira sredstva za čišćenje[5]

Izbor sredstva za čišćenje mora biti dokumentiran i odobren od strane kontrole kvalitete te znanstveno opravdan prema: topivosti materijala koje je potrebno očistiti, dizajnu opreme i površinskih materijala, sigurnosti, jednostavnosti uklanjanja i detekcije, svojstvima produkta, minimalnom temperaturom i volumenom sredstva i tekućine za ispiranje te uputama proizvođača.[1]

Proizvođač odabranog sredstva za čišćenje trebao bi podijeliti s proizvođačem farmaceutskih proizvoda kemijski sastav te podijeliti informaciju o promjeni sastava svaki puta kada se dogode promjene u formulaciji. Proizvođač farmaceutskih proizvoda može zatražiti dokument o sukladnosti sa svim nacionalnim ili lokalnim zakonima za sredstvo za čišćenje. Konvencionalna sredstva za čišćenje u kućanstvu nisu preporučljiva za primjenu obzirom da najčešće sadrže mirise i bojila zbog kojih se formulacija mijenja nekoliko puta godišnje. Koncentracija sredstva za čišćenje određuje se u skladu s drugim

parametrima procesa čišćenja kao što su; temperatura, mehanika i vrijeme.[5]

Povećanje temperature prilikom čišćenja najčešće utječe pozitivno na rezultate čišćenja te se preporučuje odabrati što višu temperaturu unutar raspona kojeg određuje proizvođač sredstva za čišćenje, ukoliko nije povrijeđena sigurnost na radu. Mehanika čišćenja može biti ručna ili strojna. Kod ručnog čišćenja potrebno je odabrati odgovarajući pribor (spužve, četke, visokotlačne čistače) uzimajući u obzir svojstva materijala i površina. Kod automatiziranog čišćenja WIP/CIP (*Wash-in-Place/Clean-in-place*) sustavima potrebno je odabrati odgovarajuće mlaznice te ih postaviti tako da su sve površine dostupne za ispiranje te osigurati odgovarajući pritisak i protok. Vrijeme u kojem se ostavi djelovati sredstvo za čišćenje će u slučaju da su kemijski, temperaturni i mehanički parametri usklađeni i optimizirani biti najkraće moguće. Ukupno vrijeme čišćenja odnosi se na cijeli proces koji uključuje pripremu za čišćenje, rastavljanje i ponovno sastavljanje dijelova opreme te također zahtjeva kritičku inspekciju.[5]

Nužni preduvjeti za uspjeh validacije prilikom ručnog čišćenja su redovita i sveobuhvatna obuka uz pojačano praćenje odgovornog osoblja, dok prilikom validacije automatiziranih procesa, preduvjet je opsežna inspekcija i kvalifikacija sustava i programa za čišćenje.

2.3. Sastavljanje dokumentacije i uputa za čišćenje

Procesi kvalifikacije i validacije moraju biti dokumentirani u skladu s propisanim odobrenim procedurama te se na taj način osiguravaju dokumentirani dokazi o:

- kvalifikaciji dizajna (*Design Qualification, DQ*) - Prostori, prateće komunalije, oprema i procesi, projektirani su u skladu sa zahtjevima dobre proizvođačke prakse, DPP.
- instalacijskoj kvalifikaciji (*Installation Qualification, IQ*) - Prostori, prateće komunalije i oprema izgrađeni su i instalirani u skladu s projektnim specifikacijama.
- kvalifikaciji operacija (*Operational Qualification, OQ*) - Prostori, prateće komunalije i oprema rade u skladu s projektnim specifikacijama.
- validaciji procesa ili kvalifikaciji performansi/procesa (*Process Validation, PV* ili *Performance Qualification, PQ*) - Specifičan proces će dosljedno proizvoditi proizvod koji zadovoljava unaprijed određene specifikacije i kvalitetu.[7]

Treba imati na umu da izraz 'validacija' obuhvaća elemente kvalifikacije opreme, pa samim time i kvalifikaciju instalacije i kvalifikaciju operacija, uz samu validaciju procesa.

Proizvođač treba definirati odgovarajuće odgovornosti svog osoblja i vanjskih izvođača u programu kvalifikacije i validacije. Ključnu ulogu u nadzoru cijelog procesa kvalifikacije i validacije ima osiguranje kvalitete. Preporuča se da program validacije aktivno koordinira tvrtka kroz preciznu raspodjelu zadataka odgovornom osoblju.[7]

2.3.1. Standardna Operativna Procedura validacije čišćenja

U svrhu uspješne validacije postupka čišćenja potrebna je pisana standardna operativna procedura (SOP) koja detaljno opisuje postupak čišćenja opreme i prostora. Temelj farmaceutске industrije čine testirani, vrednovani, odobreni i dokumentirani načini provedbe aktivnosti što je propisano prikladnim SOP-ovima. Krajnja svrha SOP-a je pojednostaviti Sustav upravljanja farmaceutskom kvalitetom (*Pharmaceutical Quality Management System, QMS*) koji pridonosi ukupnoj kvaliteti i sigurnosti proizvoda. Osoblju daje upute korak po korak za provedbu određenog procesa. Svaki kritični proces, procedura ili operacija mora imati svoj SOP i protivno je regulatornim zahtjevima da se iste provode ili započnu bez SOP-a. Standardna operativna procedura se definira kao ovlaštenu pisani postupak koji daje upute za izvođenje operacija koje nisu nužno specifične za određeni proizvod ili materijal, ali su općenitije prirode (npr. rad opreme, održavanje i čišćenje, validacija, čišćenje prostora i kontrola okoliša, uzorkovanje i inspekcija). Određeni standardni operativni postupci mogu se koristiti za dopunu proizvodne dokumentacije glavne serije specifične za proizvod.[6]

Međunarodna inspekcijska organizacija PIC/S predlaže strukturiranje SOP-a na sljedeći način:

- I. Identifikacija opreme
- II. Kritična područja
- III. Provedba čišćenja
- IV. Dokumentacija
- V. Provjere

Identifikacija opreme treba na najbolji mogući način opisati proizvodnu opremu, navodeći vrstu opreme, proizvođača, lokaciju i broj pod kojim se bilježi. Oprema iste vrste ili dizajna može se sažeti u SOP-u čišćenja te kasnije u protokolu validacije.[7]

Kritična područja uključuju područja proizvodne opreme i prostora kojima je teško pristupiti tokom čišćenja ili su teško vidljiva pri završnim provjerama. Preporučljivo je uz SOP priložiti crtež, fotografiju ili shematski prikaz s jasno naznačenim kritičnim područjima. Osoblje odgovorno za čišćenje mora biti posebno pažljivo pri čišćenju i provjeri takvih područja.[5]

Provedba čišćenja mora opisivati intervale čišćenja; korake koje je potrebno provoditi na dnevnoj bazi, maksimalno dopušteno trajanje proizvodnje do provedbe potpunog čišćenja te maksimalno dopušteno vrijeme zadržavanja neočišćene proizvodne opreme do potpunog čišćenja. Provedba također mora navesti precizan opis sredstva za čišćenje, količinu sredstva i temperaturu te upute za sigurnost na radu prilikom rukovanja samim sredstvom. Potrebno je navesti točan opis mehaničke opreme za čišćenje. Vrijeme i ciklusi čišćenja za CIP i WIP sustave uspostavljaju se programski, dok je za ručno čišćenje teško predvidjeti trajanje koraka s obzirom da ovisi o vizualnoj procjeni čistoće. Upute za sekundarnu obradu i sušenje opreme za CIP i WIP sustave su vrlo detaljne te uključuju temperaturu i volumen otopine za ispiranje, broj i trajanje sekvenci ispiranja, količinu dovoda zraka i temperature tijekom sušenja te samo trajanje sušenja. Upute za ručno čišćenje ograničene su na opis radnih koraka i pomagala. Svi postupci rastavljanja i ponovnog sastavljanja opreme također moraju biti navedeni u SOP-u.[5]

Dokumentacija podrazumijeva unos podataka u dnevnik, postavljanje statusnih oznaka o statusu čistoće na opremu te navođenje tvari koje je potrebno očistiti s opreme od strane odgovornog osoblja.

Provjere čišćenja po završetku procesa trebala bi provjeriti druga kvalificirana osoba, koja će to i dokumentirati. Provjera se može provoditi odmah po završetku čišćenja ili prije ponovne uporabe. U drugom slučaju postoji rizik da bi neposredno prije procesa proizvodnje čistoća opreme mogla biti smatrana neprihvatljivom, zbog čega je preporučljivo provjeru provoditi nakon završetka čišćenja. Prilikom validacije čišćenja potrebno je uzeti u obzir vrijeme između proizvodnje i čišćenja, „*dirty hold time*“ te između čišćenja i ponovne uporabe proizvodne opreme, „*clean hold time*“.

2.3.2. Protokol validacije i izvješće o validaciji čišćenja

Provedba provjere valjanosti čišćenja mora biti opisana u unaprijed izrađenom protokolu za validaciju te dokumentirana u izvješću o validaciji. Protokol validacije je dokument koji opisuje aktivnosti koje treba provesti tijekom validacije, uključujući kriterije prihvatljivosti za odobrenje procesa ili sustava (ili njihovih dijelova) za namjeravanu upotrebu. Izvješće o validaciji je dokument u kojem se sastavljaju sažeti zapisi, rezultati i evaluacija validacije. Izvješće također može sadržavati prijedloge za poboljšanje procesa i/ili sustava i/ili opreme. [2]

Tablica 2. Sadržaj protokola i izvješća

Protokol	Izvješće
Opis postupaka čišćenja	Rezultati provedenih testova validacije
Opseg validacije i odgovorno osoblje	Procjena i evaluacija rezultata ispitivanja
Kriteriji prihvatljivosti i vremenski parametri	Posljedice procjene i konačni zaključak
Oprema i materijali	Službeno odobrenje postupka čišćenja od strane odgovornog osoblja
Koraci provjere, postupci uzorkovanja, evaluacija	
Daljnje upute, zahtjevi izvješća	

Promjene u postupku čišćenja i opreme koja se čisti procjenjuju se formalnim procesom kontrole promjena koji dokumentira sve izmjene postupaka i donesene odluke. Potvrda valjanosti provodi se po potrebi.[2]

2.3.3. Glavni plan validacije čišćenja

Ključni elementi programa kvalifikacije i validacije trebaju biti jasno definirani u glavnom planu (master plan) validacije. Glavni plan validacije je dokument visoke razine kritičnosti koji uspostavlja krovni plan validacije za cijeli projekt i sažima cjelokupnu filozofiju i pristup proizvođača, koji će se koristiti za utvrđivanje adekvatnosti izvedbe. Pruža informacije o proizvođačevom programu validacije i definira pojedinosti i vremenske rokove za provedbu

validacije, uključujući izjavu o zaduženjima i odgovornostima za provedbu plana. [6]

Validacijski glavni plan trebao bi biti dokument koji je sažet, kratak i jasan. Ne bi trebao ponavljati informacije dokumentirane negdje drugdje, već se referirati na postojeće dokumente kao što su dokumenti o politici kvalitete, SOP-ovi, upute te protokoli/izvješća o validaciji. Glavni plan treba biti odobren i od strane uprave tvrtke. [7]

Međunarodna inspekcijska organizacija PIC/S predlaže sljedeću strukturu master plana validacije čišćenja:

- I. Definiranje cilja
- II. Odgovornosti
- III. Područja korištenja
- IV. Procjena rizika (za proizvode i proizvodnu opremu)
- V. Validacijska matrica
- VI. Sredstva za čišćenje
- VII. Upute za čišćenje
- VIII. Kriteriji prihvatljivosti (vizualna provjera, ostaci djelatne tvari, ostaci sredstva za čišćenje, mikrobiološki status)
- IX. Procedure uzorkovanja (ostaci djelatne tvari, ostaci sredstva za čišćenje, mikrobiološka kontaminacija)
- X. Metode analize (ostaci djelatne tvari, sredstva za čišćenje)
- XI. Provedba validacije čišćenja (preduvjeti, način i broj ispitivanja, mjere u slučaju odstupanja, održavanje statusa validiranosti)
- XII. Planiranje validacije
- XIII. Obuka
- XIV. Literatura
- XV. Dodatak

Nakon određivanja cilja validacije, jasno se definiraju odgovornosti koje podrazumijevaju sastavljanje, pregled i odobravanje dokumenata te obuku osoblja, uzorkovanje, analizu i nabavu materijala. Potrebno je precizno definirati područje primjene na koje se glavni plan odnosi, primjerice određeni dio postrojenja. Procjena rizika ima zadatak identificirati kritične proizvode i dijelove proizvodnog procesa i opreme koje je potrebno uključiti u program validacije te razmotriti proizvodnu opremu koju treba validirati s obzirom na rizik od unakrsne kontaminacije. Na taj način uspostavlja se opseg validacije, odnosno validacijska matrica uzimajući u obzir kritične proizvode i procese.[8]

Potrebno je navesti sva sredstva za čišćenje koja će se koristiti te njihove najvažnije karakteristike, ako nisu navedene u drugim dokumentima, kao i upute za čišćenje proizvodne opreme. Uz kriterije prihvatljivosti potrebno je navesti znanstveno opravdanje postavljanja granica za ostatke djelatne tvari, sredstava za čišćenje i mikrobiološkog onečišćenja.

Procedure uzorkovanja za pojedinačne postupke treba opisati u zasebnim uputama navedenim u glavnom planu, a u ovom odjeljku definiraju se postupci koji se koriste za ispitivanje ostataka djelatne tvari, sredstava za čišćenje te mikrobiološke kontaminacije.[8]

Analitičke metode za određivanje ostataka onečišćenja moraju biti navedene u glavnom planu uz uvjet da su iste validirane u skladu s potrebnim zahtjevima i smjernicama. Za kritične tvari također je preporučljivo da budu navedene u ovom odjeljku zajedno s detaljima o metodi ispitivanja koja se primjenjuje.

Provedba validacije čišćenja definira zahtjeve koje je potrebno ispuniti prije početka provjere valjanosti čišćenja. Ti zahtjevi se odnose na instalacijsku i kvalifikaciju operacija za određenu proizvodnu opremu, obuku osoblja te sastavljenu i odobrenu dokumentaciju. Važno je navesti broj testova za svaku vrstu ispitivanja koja se provodi, a PIC/S zahtjeva provedbu najmanje tri

uspješne uzastopne primjene postupka čišćenja kako bi se dokazalo da je metoda validirana.[7]

Važno je definirati i mjere koje se poduzimaju u slučaju prekoračenja ili ne ispunjavanja kriterija prihvatljivosti, koji mogu biti naznačeni u glavnom planu ili u priloženom SOP-u. Poglavlje glavnog plana o održavanju statusa validiranosti bavi se upravljanjem izmjenama (*change control*) i revalidacijom. Prema PIC/S smjernicama, validirani postupci čišćenja trebaju biti podvrgnuti upravljanjem izmjenama, odnosno postupku koji se koristi za identifikaciju, kontrolu i praćenje svih izmjena u farmaceutskom SOP-u. Revalidacija može biti posljedica izmjene opreme, proizvoda i procesa ili revalidacija koja se provodi periodički, u određenim vremenskim intervalima. Farmaceutska tvrtka definira implementaciju navedenih pojedinačnih zahtjeva. Poglavlje o planiranju validacije sadrži rasporede i procjene kapaciteta izvedene iz validacijske matrice.[8]

Za svu obuku osoblja (zaduženih djelatnika) koja se provodi mora postojati dostupna dokumentacija. Osoblje koje provodi čišćenje mora biti osposobljeno za izvedbu validiranih postupaka čišćenja. U glavnom planu također mora biti navedena literatura na koju se referira. Dodatci glavnom planu uključuju dodatne informacije potrebne za planiranje i provedbu validacije, kao što su podaci o djelatnoj tvari, proizvodnoj opremi, izračuni granica prihvatljivosti te sigurnosne informacije.

2.4. Određivanje opsega validacije čišćenja

2.4.1. Bracketing

Za uspješnu validaciju nije potrebno uzeti u obzir svaki pojedinačni proizvod, već opravdani broj kritičnih proizvoda, odnosno najgorih slučajeva. Takva praksa nazvana *bracketing*, već ranije opisana u ovom radu, uvelike smanjuje opseg

validacije čišćenja. Kritični proizvodi općenito se identificiraju i svrstavaju u skupine na osnovu tri rizična faktora:

- I. Topivost – proizvod sadrži slabo topivu djelatnu tvar,
- II. Farmakologija – proizvod sadrži visoko potentnu djelatnu tvar, odnosno djelatnu tvar koja izaziva biološki odgovor pri vrlo niskim dozama
- III. Formulacija – proizvod sadrži dijelove formulacije koji se teško odstranjuju, kao što su boje ili arome.[9]

Prvi korak procjene rizika je dodjeljivanje proizvoda jednoj ili više rizičnih skupina. Na taj način izravno se vrši predodabir kritičnih proizvoda. U drugom koraku identificiraju se kritični, odnosno najgori slučajevi u svakoj od rizičnih skupina, prema sljedećim kriterijima:

- I. Sadržaj djelatne tvari – proizvod ima najviši sadržaj djelatne tvari (%) u kategoriji
- II. Topivost – proizvod sadrži djelatnu tvar s najmanjom topivosti u kategoriji
- III. Terapijska doza – proizvod sadrži djelatnu tvar s najnižom terapijskom dozom u kategoriji.[9]

Validacija čišćenja provodi se samo za proizvode koje odgovaraju navedenim kriterijima. Ukoliko je postupak čišćenja validiran za najgore slučajeve, validacija vrijedi i za sve druge manje kritične proizvode koji se moraju čistiti istim postupkom.

Poseban slučaj predstavlja rizična skupina formulacije, s obzirom na to da ostaci ne potječu od djelatne tvari već od pomoćnih tvari. Formulacije proizvoda koje sadrže topivu boju mogu uzrokovati obojenje otopina tijekom čišćenja te naknadno neželjeno obojenje sljedećeg proizvoda. U takvim

slučajevima preporučljivo je provesti validaciju čišćenja. Učinkovit način testiranja u ovom slučaju bio bi brisanje kritičnih područja bijelom krpom kako bi se otkrile i najmanje količine ostataka boje. Kriterij vizualne čistoće u takvoj situaciji može se smatrati dovoljnim.

Vizualna inspekcija je kritični korak prilikom potvrđivanja uspješnosti postupka čišćenja, a osoblje koje provodi vizualnu inspekciju zahtjeva posebnu obuku kako bi rezultat bio objektivan. Kriterij vizualne čistoće predstavlja minimalni očekivani standard te važan dio kriterija prihvatljivosti prilikom validacije čišćenja. Vizualno čisto znači da nema vidljivih onečišćenja na opremi nakon čišćenja.[10]

2.4.2. Validacijska matrica

Opseg validacije specifičan za proizvod ili opremu može se odrediti sastavljanjem validacijske matrice. Nakon identifikacije „najgorih slučajeva“, provedba validacije čišćenja u praksi može biti specifična za proizvod ili specifična za opremu. U pristupu specifičnom za proizvod, sastavlja se protokol validacije za svaki kritičan proizvod koji uključuje sve vrste opreme potrebne za proizvodni proces. Za pristup specifičan za opremu, sastavlja se protokol validacije koji uključuje sve kritične proizvode proizvedene na opremi.

Iako oba pristupa mogu biti korisna, pristup specifičan za proizvod ima svoje nedostatke. S obzirom na to da protokol validacije obrađuje nekoliko procesa čišćenja, ako se pojave problemi tijekom validacije jednog od procesa provjera valjanosti svih ostalih procesa moguća je tek nakon rješavanja problema. Protokol koji pokriva nekoliko vrsta proizvodne opreme može biti opsežan i zbunjujući. Također, u slučaju promjena na proizvodnoj opremi ili u procesu čišćenja određene opreme, svi protokoli za validaciju specifični za proizvod moraju se po potrebi provjeriti i potvrditi.[9]

Provedba validacije specifična za opremu nudi nekoliko prednosti. Protokol validacije se bavi samo jednom vrstom proizvodne opreme, a sukladno tome i samo jednim specifičnim postupkom čišćenja. Potencijalni problemi koji nastanu tijekom validacije jednog od postupaka neće ometati druge postupke, a nekoliko postupaka čišćenja može se validirati paralelno i neovisno jedno o drugom. Nadalje, promjene na određenoj opremi ili u postupku čišćenja opreme utječu samo na jedan protokol validacije.

Validacijska matrica mora pokazivati koja proizvodna oprema će biti korištena za proizvodnju kritičnih proizvoda. Cijeli tijek procesa mora biti prikazan, čak i ako se pojedini dijelovi proizvodne opreme pojavljuju više puta. Matrica se može koristiti i za kasniji izračun ograničenja te kao osnova za sastavljanje vremenskih rasporeda i procjena kapaciteta.[9]

2.5. Kriteriji prihvatljivosti i izračuni ograničenja

2.5.1. Izračun ostataka djelatne tvari

Obrazloženje farmaceutske tvrtke za utvrđene granice ostataka djelatnih tvari treba biti logično i temeljeno na znanju proizvođača o uključenim materijalima te biti praktično, ostvarivo i provjerljivo. Važno je definirati osjetljivost analitičkih metoda kako bi se postavile razumne granice.[3]

Ostaci djelatne tvari moraju odgovarati definiranim kriterijima prihvatljivosti. Za ostatke djelatne tvari odabire se najstroži od sljedeća tri kriterija prihvatljivosti:

- I. U najvećoj dnevnoj dozi sljedećeg proizvoda ne smije se pojaviti više od 0,1% normalne terapijske doze bilo kojeg drugog proizvoda,
- II. U sljedećem proizvodu ne smije se pojaviti više od 10 ppm bilo kojeg drugog proizvoda,

III. Na opremi ne smije biti vidljiva nikakva količina ostataka prethodnog proizvoda nakon izvođenja postupka čišćenja. Koncentracija pri kojoj je većina djelatnih tvari vidljiva određuje se *spiking*-om (dodavanjem određene količine poznate tvari u uzorak u svrhu evaluacije performansi analitičke metode).

Za određene alergene, peniciline, cefalosporine ili snažne steroide i citotoksične tvari, granica treba biti ispod granice detekcije najboljih dostupnih analitičkih metoda i/ili postupaka.[7]

Kriterij doze

Dnevna doza sljedećeg proizvoda smije sadržavati najviše 1/1000 pojedinačne doze djelatne tvari prethodnog proizvoda. Najveći dopušteni ostatak djelatne tvari prethodnog proizvoda (*Maximum allowable residue, MAR*) u sljedećem proizvodu izračunava se pomoću kriterija doze prema sljedećoj formuli, [11]:

$$\text{MAR} = \frac{1}{1000} \times \text{LHDp} \times \left(\frac{\text{BSs}}{\text{IFs} \times \text{MD}} \right)$$

MAR [mg]: Najveći dopušteni ostatak djelatne tvari prethodnog proizvoda (*Maximum allowable residue*)

LHDp [mg]: Najniža terapijska doza prethodnog proizvoda za ljude (*Lowest human therapeutic dose of the previous product*)

BS_s [g]: Veličina serije sljedećeg proizvoda (*Batch size of subsequent product*)

IF_s: Učestalost unosa sljedećeg proizvoda (*Intake frequency of the subsequent product*)

MD [g]: Masa oblika doziranja sljedećeg proizvoda (*Mass of the dosage form of the subsequent product*)

Velika prednost kriterija doze je što se pri izračunu ograničenja u obzir uzima terapijska doza djelatne tvari, zbog čega se različita farmakološka svojstva različitih djelatnih tvari mogu u određenoj mjeri prilagoditi. Nedostatak kriterija doze je u tome što u praksi može postojati velik broj različitih naknadnih proizvoda koji mogu predstavljati najgori slučaj. Time bi za svaku moguću kombinaciju prethodnog/sljedećeg proizvoda bilo potrebno napraviti individualni izračun, što je skupo i složeno. Ipak, takve izračune potrebno je napraviti samo jednom, a rezultate je moguće prikazati tablično.[11]

Prema općim pravilima validacije čišćenja, kriteriji prihvatljivosti i rezultirajuća ograničenja moraju biti definirani unaprijed. Potrebno je poznavati ograničenja za kritične djelatne tvari pri validaciji analitičkih metoda, koja se također mora provesti prije validacije čišćenja. Zbog toga nije prihvatljivo izračunavati ograničenja pomoću odgovarajućeg naknadnog proizvoda dok se validacija provodi. Rješenje koje se koristi u industriji je odabir izmišljenog najgoreg slučaja na temelju dostupnih proizvoda tvrtke, pri čemu se u formuli koristi najmanja moguća veličina serije, najveća učestalost uzimanja te najveća masa pojedinog oblika doziranja. Ako je granica izračunata ovim postupkom preniska, mogući su problemi u pogledu učinkovitosti postupka čišćenja i provjerljivosti. Ograničenje se tada izračunava za dva postojeća naknadna proizvoda koji predstavljaju dva najgora slučaja, odnosno proizvod s najmanjom veličinom serije i proizvod s najvećom dnevnom dozom. Za provjeru valjanosti čišćenja odabire se manja od dvije rezultirajuće granice.[11]

Sljedeći nedostatak kriterija doze je da su izračunata ograničenja proporcionalna terapijskoj dozi, odnosno djelatne tvari s niskom terapijskom

dozom rezultiraju niskim granicama, a za djelatne tvari s visokom terapijskom dozom granice su visoke. Granica ponekad može biti toliko visoka da su ostaci onečišćenja vidljivi golim okom, prilikom čega vizualni kriterij više nije ispunjen, što je u suprotnosti s općim zahtjevima dobre proizvođačke prakse.

Kriterij količine

Farmaceutski proizvod ne smije sadržavati više od 10 ppm (*parts per million*) bilo kojeg drugog proizvoda. Maksimalni prihvatljivi ostatak djelatne tvari u sljedećem proizvodu izračunava se pomoću kriterija količine prema sljedećoj formuli, [11]:

$$\text{MAR} = 10 \text{ ppm} \times \text{BSS}$$

MAR [mg]: Najveći dopušteni ostatak djelatne tvari prethodnog proizvoda (*Maximum allowable residue*)

BS_s [kg]: Veličina serije sljedećeg proizvoda (*Batch size of subsequent product*)

Prednost kriterija količine je u tome što se može koristiti bez obzira na kombinaciju prethodnog/sljedećeg proizvoda, što znatno olakšava izračun ograničenja unutar složenog procesa validacije čišćenja. Osnovu za izračun ograničenja predstavlja najgori slučaj u obliku najmanje moguće veličine serije sljedećeg proizvoda.

Nedostatak kriterija količine je u tome što je neovisan o tvari, odnosno terapijska doza djelatne tvari nije uključena u izračun. Različita farmakološka svojstva različitih djelatnih tvari se ne uzimaju u obzir, stoga

granica za visoko potentne djelatne tvari izračunata ovim kriterijem može biti neprihvatljiva s farmakološke točke gledišta.[11]

Vizualni kriterij

Proizvodna oprema bez vidljivih ostataka djelatnih tvari nakon čišćenja je, neovisno o samoj validaciji čišćenja, jedan od osnovnih zahtjeva dobre proizvođačke prakse. Pozitivan vizualni pregled očišćene opreme u kombinaciji s provjerom valjanosti čišćenja smatra se preduvjetom za daljnja ispitivanja testom brisa ili ispiranja.

Vizualni kriterij kao kriterij prihvatljivosti za procjenu rezultata čišćenja prepoznat je od strane smjernica FDA kao alternativna metoda kriteriju količine i kriteriju doze [3], dok PIC/S zahtjeva definiranje prihvatljivog ostatka djelatne tvari prema najstrožim od navedenih kriterija [7]. Smjernice PIC/S također zahtijevaju *spiking* testove za određivanje koncentracije u kojoj je vidljiva većina djelatnih tvari, dok FDA preporuča osporavanje analitičke metode određivanjem postotka onečišćenja s površine opreme.

Kriterij prihvatljivosti za vizualnu inspekciju je vizualno čisto. Vizualni pregled treba uključiti izravne i neizravne površine u kontaktu s proizvodom i zahtijeva da površine opreme budu vidljive. Kada to nije slučaj, može biti potrebno rastavljanje opreme radi lakšeg pristupa ili korištenje alata kao što su zrcala, izvori svjetlosti ili boroskopi. Suvremene tehnologije poput digitalnih kamera koje mogu procijeniti površinu također mogu biti korisne za pregled cijevi velikog volumena, kada je vizualni pregled izazovan.[10]

Vizualna granica detekcije za većinu djelatnih tvari određena je na otprilike $100 \mu\text{g}/25 \text{ cm}^2$ ($4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Prema tome, vizualni kriterij bi uvijek predstavljao najstroži kriterij prihvatljivosti ako granica u sljedećem proizvodu izračunata prema kriteriju količine ili kriteriju doze dovodi do površinske koncentracije

veće od 100 µg/25 cm². Moguće izostavljanje analitičkih ispitivanja kao što su testovi brisa ili ispiranja u ovom slučaju izaziva rasprave. Odlučujući čimbenik je udaljenost površinske granice vizualnog kriterija i granice izračunate kriterijem doze ili kriterijem količine.[11]

Zbog toga, u svrhu detekcije djelatne tvari, vidljiva koncentracija ostataka na površini opreme dokumentira se *spiking* testovima. Serije razrjeđenja djelatne tvari izrađuju se u što je moguće hlapljivijem otapalu i definirani volumeni nanose se na označenu ispitnu površinu koja odgovara površinama uzorka (npr. 25 cm²). U svrhu osiguranja ravnomjerne raspodjele primijenjenih količina djelatne tvari na ispitnim površinama, nanošenje i sušenje otopina s različitim koncentracijama mora se provoditi pod istim uvjetima, kao u primjeru prikazanom u tablici 3.[11]

Tablica 3. Primjer testnih otopina za *spiking* testove

	Otopina 1	Otopina 2	Otopina 3	Otopina 4
Koncentracija testne otopine	2 mg/ml	1,5 mg/ml	1,0 mg/ml	0,5 mg/ml
Površina testiranja	25 cm ²	25 cm ²	25 cm ²	25 cm ²
Volumen nanošenja	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Količina nanasene djelatne tvari	200 µg	150 µg	100 µg	50 µg

Nakon potpunog isparivanja otapala, vizualna granica detekcije utvrđuje se usporedbom pojedinačnih ispitnih područja. Problem kod vizualnog pregleda opreme je u tome što ovisi o subjektivnoj ocjeni ispitivača. Osoblje koje provodi vizualni pregled opreme mora proći posebnu obuku jer ono što pojedinac vizualno zamjećuje ovisi o sljedećim čimbenicima, [10]:

- udaljenosti i kutu između inspektora i površine koja se pregledava (vidna oštrina, subjektivna ocjena)

- okolnom osvjetljenju (intenzitetu svjetlosti, kutu upada, efekt zasljepljivanja)
- konfiguraciji opreme i svojstvima površine (suhoća, hrapavost, oblik),
- distribuciji djelatne tvari (ravnomjerno/neravnomjerno)

Europska agencija za lijekove (EMA) predlaže periodično testiranje vidne oštine osoblja. Prema ISPE Risk Mapp (*International Society for Pharmaceutical Engineering Risk-Based Manufacture of Pharmaceutical Products*), u situacijama u kojima je metoda detekcije onečišćenja samo vizualna, važno je razumjeti vidnu oštrinu osoblja i koja se razina ostataka onečišćenja smatra sigurnom. Ako je razina sigurnosti ispod vidne oštine osoblja, tada se rizik od neotkrivanja onečišćenja može smatrati visokim, dok ako je razina sigurnosti znatno iznad vidne oštine osoblja rizik od otkrivanja onečišćenja se može smatrati niskim.[10] Također, provjera valjanosti čišćenja koja se provodi samo na temelju vizualnog kriterija zahtjeva temeljitu dokumentaciju u kojoj se opisuje eksperimentalno određivanje vizualne granice detekcije.

Visoka pouzdanost određivanja vizualne granice detekcije može se postići ispitivanjem na reprezentativnim područjima proizvodne opreme (različita hrapavost, oblik, osvjetljenje), ispitivanjem s različitim ispitivačkim osobljem te ispitivanjem koje slijedi standardizirane procedure za stvarne uvjete. Trajna slaba točka metode vizualne detekcije je način distribucije djelatne tvari. U pokusima se, zahvaljujući prikladnom izboru otapala i primijenjenom volumenu, može postići ravnomjerna raspodjela ostataka djelatne tvari na ispitnom području, dok je nakon čišćenja u praksi raspodjela ostataka djelatne tvari slučajna.[11]

2.5.2. Izračun ostataka sredstva za čišćenje

Potrebno je utvrditi ograničenja za uklanjanje svih korištenih sredstava za čišćenje. Kriteriji prihvatljivosti trebaju uzeti u obzir potencijalni kumulativni učinak višestrukih dijelova opreme u nizu procesne opreme.[12]

Evalucija učinkovitosti postupaka čišćenja za uklanjanje ostataka deterdženata je potrebna za definiranje prihvatljive granice razine deterdženata nakon čišćenja. U idealnom slučaju, ne bi smjeli biti otkriveni ostaci sredstava za čišćenje. Mogućnost kvara deterdženta također mora biti uzeta u obzir prilikom validacije postupaka čišćenja.[7]

Sredstva za čišćenje nisu dio proizvodnog procesa te se dodaju samo kako bi se olakšalo čišćenje, stoga bi se trebali lako ukloniti. U suprotnom, preporuča se odabrati drugo sredstvo za čišćenje.[3]

Poput izračuna za ostatke djelatne tvari, za izračun ostataka sredstava za čišćenje moguće je koristiti kriterij količine ili uključiti različita svojstva sredstava za čišćenje koja se koriste u izračunu ograničenja. Za karakterizaciju toksikoloških svojstava sredstava za čišćenje koristi se kriterij prihvatljivosti temeljen na LD_{50} (*Lethal Dose 50*) vrijednosti. LD_{50} određuje dozu tvari koja uzrokuje smrt 50% laboratorijskih životinja nakon oralnog uzimanja.[11]

LD_{50} kriterij

Najveća dnevna doza sljedećeg proizvoda može sadržavati najveću prihvatljivu dnevnu količinu korištenog sredstva za čišćenje.

Izračun najvećeg dopuštenog ostatka sredstva za čišćenje provodi se prema sljedećoj formuli, [11]:

$$ADI = \frac{5 \times 10^{-4} \times LD_{50} \times 70 \text{ kg}}{SF}$$

$$MACO = ADI \times \left(\frac{B}{D}\right)$$

ADI [mg]: Dopušteni dnevni unos (*Acceptable daily intake*)

SF: Faktor sigurnosti (*Safety factor*)

MACO [mg]: Najveći dopušteni prijenos (*Maximum acceptable carry over*)

B [g]: Veličina serije sljedećeg proizvoda (*Batch size of subsequent product*)

D [g]: Dnevna doza sljedećeg proizvoda (*Daily dose of subsequent product*)

LD₅₀ vrijednost u veličini 5×10^{-4} više nema mjerljiv farmakološki učinak na ljude, odnosno predstavlja NOEL (*No observed effect level*) vrijednost, koja se odnosi na prosječnu masu odrasle osobe (70 kg). U svrhu određivanja dopuštenog dnevnog unosa (ADI), NOEL vrijednost mora biti podijeljena sa faktorom sigurnosti, uzimajući u obzir način primjene tvari. Faktor sigurnosti, ovisno o načinu primjene tvari, ima sljedeće vrijednosti, [11]:

- Topikalna primjena – $10^1 - 10^2$
- Oralna primjena – $10^2 - 10^3$
- Parenteralna primjena – $10^3 - 10^4$

Sredstva za čišćenje odobrena za farmaceutsku i prehrambenu industriju imaju relativno visoke vrijednosti LD₅₀, odnosno nekritična su s farmakološke točke gledišta. Poput izračuna za ostatke djelatne tvari, može se napraviti usporedni izračun prema kriteriju količine i LD₅₀ kriteriju te odabrati strožu granicu za validaciju čišćenja.

2.5.3. Određivanje mikrobiološkog statusa

Provjera mikrobiološkog statusa površina u kontaktu s proizvodom provodi se kao dio validacije čišćenja, sve dok nije dio nadzora higijene. Mikrobiološki aspekti čišćenja opreme sastoje se od preventivnih mjera, a ne od uklanjanja kontaminacije nakon što je nastupila. Potrebni su postojeći dokazi da rutinsko čišćenje i skladištenje opreme ne dopušta proliferaciju mikroorganizama. Oprema mora biti osušena prije skladištenja i ni pod kojim okolnostima ne smije se dopustiti da stajaća voda ostane u opremi nakon postupaka čišćenja.[3]

Za određivanje granica može se koristiti Dodatak 1 EU GMP Vodiča za proizvodnju sterilnih lijekova (*EU GMP Guide Manufacture of sterile medicinal products*), u kojem su navedena ograničenja za klase čistih prostora od A do D (sterilna proizvodnja). Podaci o mikrobiološkom statusu površina u prostorima E i F (GMP prostori) nisu uključeni u Dodatak 1 EU GMP Vodiča. Vrijednost od 50 CFU/ploča (*Colony forming units/plate*) određena za kontaktne površine proizvoda u D klasi čistih prostora može također biti korištena za kontaktne površine proizvoda u GMP prostorima. Navedena vrijednost zadržava se za svježe očišćene površine opreme pod pretpostavkom ispravnog i higijenskog čišćenja i sušenja.[11]

2.6. Procedure ili postupci uzorkovanja

Za uspješnu validaciju čišćenja potrebno je na odgovarajući način uzorkovati ispitivanu površinu. Dva postupka uzorkovanja smatraju se prihvatljivima: izravno uzorkovanje (test brisa) i/ili neizravno uzorkovanje (test ispiranja).

Općenito, poželjna je kombinacija dviju navedenih metoda pogotovo ako dijelovi opreme teško dostupni za čišćenje predstavljaju problem za izravno

uzorkovanje. Ponovno uzorkovanje prije ili tijekom čišćenja ne bi smjelo biti uključeno u postupak validacije čišćenja, a prihvatljivo je samo u iznimnim slučajevima. Uzastopno ponavljanje postupaka uzorkovanja i testiranja dokazuje prisutnost onečišćenja koja su rezultat neadekvatnog postupka čišćenja, što pokazuje da postupak čišćenja nije validiran. [4]

Prilikom odabira odgovarajućeg postupka uzorkovanja, potrebno je poznavati dizajn proizvodne opreme (otvoreni/zatvoreni sustav, postojanje i dostupnost kritičnih točaka), topivost ostataka koji se detektira te dostupnost prikladnih analitičkih metoda.

2.6.1. Izravno uzorkovanje (test brisa)

Postupak izravnog uzorkovanja je najčešće korišteni postupak koji uključuje brisanje određene površine za uzorkovanje odgovarajućim materijalom (npr. vatom) na unaprijed propisan način. Kako bi se poboljšalo kvantitativno prikupljanje uzoraka, materijal za uzorkovanje se navlaži odgovarajućim otapalom. Vrsta materijala korištenog za uzorkovanje mora biti unaprijed određena, s obzirom da neadekvatan izbor materijala može omesti ispitivanje, a isto vrijedi i za otapalo. Primjerice, utvrđeno je da ljepilo korišteno u brisevima ometa analizu uzoraka. Na početku provođenja programa validacije potrebno je osigurati da su medij za uzorkovanje i otapalo koje se koristi za ekstrakciju iz medija zadovoljavajući i da se mogu lako koristiti.[3]

Čimbenici koje treba uzeti u obzir prilikom izravnog uzorkovanja su dobavljač brisa, područje uzorkovanja, broj uzetih briseva, suhoća/vlažnost briseva, rukovanje brisom i tehnika uzorkovanja. Također, potrebno je u obzir uzeti materijal od kojeg je načinjena oprema (npr. staklo ili čelik) te lokaciju (npr. lopatice, stijenke spremnika, spojnice). Potrebno je poznavati područja uzorkovanja koja predstavljaju najgori slučaj, a koja moraju biti navedena u

protokolu validacije. Važno je identificirati kritična područja, odnosno područja koja je najteže čistiti, pogotovo u velikim pogonima koja uključuju polu automatske i automatske CIP sustave.[4]

Prilikom odabira materijala za uzorkovanje potrebno je poštivati nekoliko zahtjeva, [13]:

- Ekstrahirajući sastojci materijala ne bi smjeli ometati provođenje analitičke metode,
- Kompatibilnost materijala s otapalom tijekom uzorkovanja i pripreme uzoraka,
- Visoka apsorpcija ostataka djelatne tvari tijekom uzorkovanja i
- Nisko zadržavanje ostataka djelatne tvari tijekom pripreme uzorka.

Materijal za uzorkovanje može biti pamučna vuna, filter papir, celuloza ili industrijski proizvedeni pupoljci od umjetnih vlakana. Pamučna vuna, filter papir i celuloza mogu sadržavati nečistoće koje bi mogle ometati analizu te ih je potrebno prethodno obraditi otapalom koje će se kasnije koristiti za pripremu uzoraka. Industrijski proizvedeni pupoljci su obično izrađeni od materijala visoke čistoće koji ne ispuštaju daljnje nečistoće. Preporučljivo je napraviti preliminarne testove za provjeru ekstrakcije sekundarnih supstanci, odnosno kad god je moguće, napraviti test odabranom analitičkom metodom pomoću slijepe probe sa stvarnim uzorcima kako bi se osiguralo da ekstrakti iz materijala za uzorkovanje ne ometaju analizu te nemaju utjecaj na rezultate.[13]

Glavna prednost izravnog postupka uzorkovanja je u tome što se uzorkovanje može provesti izravno na kritičnim točkama. Mehaničkim uzorkovanjem moguće je prikupiti ostatke osušene i ostatke teško topivih tvari. Nedostaci ovog postupka su u tome što komponente materijala za uzorkovanje potencijalno mogu ometati daljnju analizu. Kako bi se potencijalne

interferencije nastale zbog sastava materijala za uzorkovanje razdvojile od ostataka onečišćenja prilikom analize potrebne su što osjetljivije, selektivne i specifične analitičke metode. Također, na ponovljivost uzorkovanja utječu individualne varijacije od osobe do osobe koje provode uzorkovanja. Kako bi se moguće varijacije smanjile potrebno je provoditi obrazovanje osoblja te utvrditi mjere praćenja. Bilježenje provedbe uzorkovanja je obavezno te ga je potrebno bilježiti na obrascima prethodno utvrđenih SOP-ovima. Provedbu testa brisa potrebno je dokumentirati u SOP-u periodički.[13]

2.6.2. Neizravno uzorkovanje (test ispiranja)

Postupak neizravnog uzorkovanja omogućuje uzorkovanje većih površina, teško dostupnih područja ili dijelova opreme koji se ne mogu rutinski rastaviti. Uzorci prikupljeni ovim postupkom uzorkovanja mogu pružiti dovoljno dokaza o adekvatnom postupku čišćenja u slučaju kada nedostupnost dijelova opreme onemogućava izravno uzorkovanje površina. Također, neizravno uzorkovanje može biti korisno za provjeru ostataka sredstava za čišćenje (deterdženti). Kada je moguće, test ispiranja treba biti korišten u kombinaciji s drugim metodama uzorkovanja, primjerice s testom brisa.[4]

Primjena testa ispiranja uključuje ispiranje cijele površine opreme u kontaktu s proizvodom ili pojedinih dijelova odgovarajućim otapalom. U svrhu određivanja količine ostataka, analizira se tvar koja je prethodno izabrana kao kritična prisutna u tekućini za ispiranje. Budući da se uzorak uzima s cijele kontaktne površine proizvoda, nije potrebno definirati kritične točke za uzorkovanje.

Prednosti ovog postupka uzorkovanja su u tome što je moguće uzorkovati zatvorene sustave i dijelove opreme koji su teško dostupni ili nedostupni za uzimanje briseva.[13]

Nedostaci postupaka neizravnog uzorkovanja su u tome što nisu prikladni za sve vrste proizvodne opreme, a njegova primjena prihvatljiva je samo za tvari lako topive u korištenom otapalu. Otapalo koje se najčešće koristi je voda. Ostaci djelatne tvari ili kontaminanti koji su netopivi ili fizički slijepljeni za opremu možda se neće isprati. Koncentracija navedenih ostataka u uzorku ne mora nužno odgovarati količini ostataka na površini, budući da se uklanjanje ostataka temelji na njihovoj topivosti. Zbog toga iz rezultata provedene analize vrlo često nije moguće zaključiti je li oprema potpuno očišćena.

Za provođenje testa ispiranja postoji nekoliko preduvjeta, [13]:

- Adekvatna topivost tvari,
- Ostaci djelatne tvari ili nečistoća ne smiju biti slijepljeni za opremu,
- Poznavanje granice detekcije odabrane analitičke metode s obzirom na tvar ili tvari koje se ispituju i
- Volumen otapala tijekom uzorkovanja i pripreme uzoraka mora biti definiran tako da prihvatljiva koncentracija ostataka bude iznad granice kvantifikacije

Dva su načina provedbe testa ispiranja: ispitivanje završnog ispiranja i ispitivanje dodatnog volumena ispiranja (ispiranje otapalom).

Metodom završnog ispiranja ispituje se voda za ispiranje iz zadnje sekvence ispiranja. Primjena ove metode uzorkovanja ograničena je na tvari topive i vrlo topive u vodi. Uzorak daje dokaz o količini ostataka djelatne tvari ili drugih onečišćenja u završnom ispiranju, iz čega nije moguće izvući izravan zaključak o količini ostataka koji ostaje na opremi nakon čišćenja. Također, korištenjem velikih količina vode za ispiranje, zbog razrjeđenja rezultirajuća koncentracija ostataka može biti ispod granice detekcije i granice kvantifikacije. U tom slučaju govorimo o lažno pozitivnom rezultatu ispitivanja. Ponovljivost rezultata primjenom metode završnog ispiranja moguća je samo ako se za

završnu sekvencu ispiranja uvijek koristi ista količina vode te ako je ukupni volumen završnog ispiranja dostupan za uzorkovanje.[13]

Metoda ispiranja otapalom uključuje uzorkovanje čiste površine dodatnim volumenom odabrane tekućine za ispiranje nakon završne sekvence ispiranja u procesu čišćenja. Nekoliko je prednosti ove metode u odnosu na metodu završnog ispiranja. Otapalo koje se koristi može se odabrati na način na odgovara svojstvima topivosti tvari koja se detektira. Uzimanje uzoraka odvija se nakon završetka čišćenja zbog čega metoda ispiranja otapalom daje bolji uvid u čistoću površina. Volumen odabranog otapala može se odabrati tako da koncentracija ostataka djelatne tvari ili drugih nečistoća koji se detektiraju bude iznad granica detekcije i kvantifikacije. Ponovljivost rezultata također ovisi o korištenju unaprijed definiranih volumena otapala za uzorkovanje i o tome da su sva otapala korištena za uzorkovanje dostupna.[13]

Zbog ograničene primjenjivosti ovog načina uzorkovanja u usporedbi s testom brisa, preporučljivo je utvrditi samo osnovne zahtjeve za provedbu testa ispiranja. Specifične značajke opreme tijekom uzorkovanja trebaju biti opisane u odgovarajućem protokolu validacije.

2.6.3. Druge procedure uzorkovanja

Metoda kondenzata pare

Ova metoda može se promatrati kao poseban oblik testa ispiranja. Metodu kondenzata pare moguće je se koristiti samo za zatvorenu proizvodnu opremu koja se može autoklavirati, a određivanje ostataka provodi se u kvantitativno prikupljenom kondenzatu pare odobrenim i validiranim analitičkim metodama.

Prednosti ove metode su u tome što vruća para ima dobra svojstva topivosti i može doprijeti do svih dijelova opreme. Stoga, metoda kondenzata pare je posebno prikladna za djelatne tvari topive u lipidima, lipofilne matrice te za

ostatke sredstava za čišćenje. Temeljni nedostatak ove metode je njena ograničena primjenjivost.[11]

Placebo metoda

Ova metoda uključuje proizvodnju placebo serije nakon što je proizvodna oprema očišćena i testiranje na ostatke prethodnog proizvoda. To je skup proces u kojem je teško osigurati da će ostaci prethodnog proizvoda biti ravnomjerno uklonjeni s površine opreme. Također, ako čestice onečišćenja ili ostatka prethodnog proizvoda nisu dovoljno velike, vjerojatno neće biti ravnomjerno raspoređeni u placebo seriji.[4]

Placebo metoda je prihvatljiva samo ako se koristi u kombinaciji s testom ispiranja i/ili brisa.

2.6.4. Mikrobiološko testiranje površine

Mikrobiološki status pročišćene kontaktne površine proizvoda obično se testira izravnim kontaktom. Za test izravnog kontakta koristi se čvrsti medij kulture pripremljen na RODAC (*Replicate Organism Detection and Counting*) pločama. RODAC ploča sastoji se od okrugle plastične posude s poklopcem, a medij za kulturu nalazi se na donjem dijelu posude. Vrlo su prikladne za uzorkovanje ravnih površina, na način da se konveksna površina agara od 25 cm² utiskuje na površinu koja se ispituje. Zakrivljene površine moguće je uzorkovati agarfilmovima koji pokrivaju jednaku ispitnu površinu.[13]

Uzorkovanje prilikom mikrobiološkog testiranja površine trebalo bi provesti na kritičnim točkama proizvodne opreme što je potrebno unaprijed definirati. Rizik od ostataka vlage igra veliku ulogu u određivanju lokacije uzorkovanja. Potrebno je pripaziti na mogućnost ulaska organizama u proizvodni prostor putem zraka ili osoblja. Također, uzorkovanje bi se trebalo provoditi na lako

dostupnim mjestima reprezentativnima za cjelokupnu proizvodnu opremu.[13]

Poput postupaka za određivanje ostataka djelatne tvari i sredstava za čišćenje, metodu uzorkovanja za određivanje mikrobiološke čistoće potrebno je opisati u SOP-u validacije čišćenja te prikladno i potpuno dokumentirati.

2.7. Analitičke metode i postupci

Analitičke metode i postupke potrebno je validirati prije same studije validacije čišćenja. Analitičke metode koje se koriste za detekciju ostataka djelatne tvari ili drugih onečišćenja trebaju biti specifične za tvar koju treba analizirati i osigurati osjetljivost koja odražava razinu čistoće koju je proizvođač utvrdio kao prihvatljivu. Prije donošenja zaključaka na temelju rezultata uzoraka, analitičke metode trebaju biti ispitane u kombinaciji s upotrijebljenim metodama uzorkovanja. Na taj način pokazuje se razina i konzistentnost prinosa, kao i da se onečišćenja mogu prikupiti s površine opreme. Negativan rezultat može biti rezultat loših tehnika uzorkovanja.[7]

Smjernice PIC/S i FDA vodiča za inspekcije validacije procesa čišćenja pridaju veliku važnost tri aspekta validacije analitičke metode: specifičnost, osjetljivost i prinos.

Validacija analitičkih metoda obično uključuje sljedeće aspekte: preciznost, točnost, granica detekcije, granica kvantifikacije, selektivnost, linearnost, linearni raspon i robusnost.[14]

Specifičnost

Specifičnost je definirana kao svojstvo postupka kojim se može odrediti samo jedna komponenta u uzorku neovisno o drugim komponentama, koje u tom

slučaju ne daju analitički signal. Specifične analitičke metode odnose se na određenu tvar, dok nespecifične analitičke metode bilježe kemijski različite tvari s istim svojstvima.[14]

Potrebno je koristiti odgovarajuće osjetljive i specifične analitičke metode kada je moguće, što uključuje kromatografske metode poput tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC, *high performance liquid chromatography*), plinsku kromatografiju (GC, *gas chromatography*) i tankoslojna kromatografija visokog učinka (HPTLC, *high performance thin-layer chromatography*) te elektroforezu. Ostale, nespecifične metode mogu uključivati mjerenje ukupnog organskog ugljika (TOC, *total organic carbon*), mjerenje pH, mjerenje konduktivnosti, mjerenje površinske napetosti, ultraljubičastu (UV, *Ultraviolet*) spektrofotometriju te ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) metodu.[4]

Odgovarajući postupci za početnu i završnu analizu otpuštanja mogu se prilagoditi zahtjevima za određivanje ostataka djelatne tvari za validaciju čišćenja. Stoga je općenito lako ispuniti zahtjeve za specifičnost analitičkog postupka za određivanje ostataka djelatne tvari. Pri određivanju ostataka sredstva za čišćenje, često nije moguće provesti specifične analitičke postupke zbog kemijske strukture mnogih sastojaka sadržanih u sredstvu.[14]

Osjetljivost

Osjetljivost analitičke metode definirana je promjenom u odgovoru instrumenta u odnosu na promjenu mjerene koncentracije. Veća promjena u odgovoru instrumenta u slučaju promjene koncentracije znači veću osjetljivost postupka. Granica detekcije svake analitičke metode mora biti dovoljno niska da može detektirati uspostavljenu prihvatljivu razinu ostataka djelatnih tvari ili onečišćenja.[14]

Osjetljivost se odnosi na granicu detekcije (*LOD, limit of detection*) i granicu kvantifikacije (*LOQ, limit of quantitation*) metode. Kako bi se osiguralo da se najmanja količina tvari dopuštena u uzorku može pouzdano otkriti i odrediti, moraju se utvrditi granice detekcije i kvantifikacije. Granica detekcije definira se kao najmanja količina tvari u uzorku koja se može detektirati, ali ne i točno kvantificirati. Granica kvantifikacije definira se kao najmanja količina tvari u uzorku koja može biti kvantificirana kao točna vrijednost s odgovarajućom preciznošću i točnošću. Jedan od načina izračuna LOD i LOQ je korištenje kalibracijske krivulje.[14]

Prinos

PIC/S i FDA zahtjevi za određivanje stope prinosa bave se s dva aspekta klasične metode validacije; točnošću i preciznošću. [14] Točnost je definirana kao blizina rezultata ispitivanja očekivanoj, unaprijed utvrđenoj vrijednosti. Preciznost je definirana kao raspršenost pojedinih mjerenja oko srednje vrijednosti dobivenih ponavljanim ispitivanjima.

Ovisno o postupku uzorkovanja, na stopu prinosa može utjecati niz sustavnih i slučajnih pogrešaka. Stalno preniska stopa prinosa označava prisutnost sustavnih pogrešaka, dok značajna razlika u rezultatima testa prinosa označava sve više slučajnih pogrešaka. Razlog za nisku stopu prinosa može biti u uzorkovanju ili pripremi uzoraka. Prema tome, određivanje stope prinosa dijeli se na dva dijela: određivanje stope prinosa iz uzorka i određivanje stope prinosa s površine.

Određivanje stope prinosa iz uzorka provodi tijekom testa brisa ili testa ispiranja. U oba slučaja potrebno je pripremiti referentnu otopinu sa poznatom koncentracijom tvari koja se detektira te provesti postupak prema unaprijed propisanim uputama. Važno je da se referentna otopina pripremi s istim otapalom koje se koristi prilikom uzorkovanja. Prilikom uzorkovanja testom

brisa moguće su sljedeće sustavne pogreške: nemogućnost razdvajanja ostataka onečišćenja od materijala za uzorkovanje, pogrešan odabir otapala za ekstrakciju i neadekvatni uvjeti za ekstrakciju. U takvim slučajevima potrebno je promijeniti materijal za uzorkovanje, testirati druga otapala te povećati vrijeme ekstrakcije.[14]

Određivanje stope prinosa s površine tijekom testa brisa obuhvaća pripremu referentne otopine sa poznatom koncentracijom tvari koja se detektira, razmazivanje definiranog volumena referentne otopine na površinu za uzorkovanje nakon čega se otopina mora osušiti. Zatim se provodi test brisa i procesira uzorak prema unaprijed napisanim uputama. Određivanje stope prinosa s površine tijekom testa ispiranja obuhvaća iste korake, osim što se referentna otopina ne smije osušiti s površine opreme. Prilikom uzorkovanja testom brisa moguće su sljedeće sustavne pogreške: neodgovarajuće otapalo kojim se vlaži materijal za uzorkovanje i vidljive kapi ili preostala vlaga na površini opreme, što znači da otopljeni ostaci djelatnih tvari nisu kvantitativno apsorbirani materijalom za uzorkovanje (vata). Rješenje za navedene probleme je korištenje otapala s boljim sposobnostima otapanja, testiranje drugog materijala za uzorkovanje s boljom apsorpcijom i brisanje površine s drugom vatom.[14]

Kako bi se mogao donijeti zaključak o ponovljivosti prinosa, pokusi se moraju ponoviti tri do pet puta za svaku tvar koja se istražuje. Kako bi se izbjegli dodatni testovi i pogreške, preporučljivo je razvijati postupak uzorkovanja zajedno s analitičkim metodama. Također, korisno je unaprijed utvrditi minimalni zahtjev za stopu prinosa te u skladu s tim razviti i validirati analitičku metodu.

2.8. Kontrola izmjena i revalidacija

Kontrola izmjena je važan element svakog sustava osiguranja kvalitete. Nužno je postojanje pisanih postupaka za opis radnji koje treba poduzeti ako se predloži bilo kakva izmjena u proizvodnom ili drugom procesu ili postupku poput promjena komponente proizvoda, procesne opreme, procesnog okruženja, metode proizvodnje ili testiranja ili bilo koje druge promjene koje mogu utjecati na kvalitetu proizvoda ili sustav.

Izmjene moraju biti službeno zatražene, dokumentirane i prihvaćene od strane predstavnika proizvodnje, QC/QA, istraživanja i razvoja, inženjeringa i regulatornih poslova prema potrebi. Treba procijeniti vjerojatni učinak promjene na proizvod i raspraviti potrebu i opseg revalidacije. Sustav kontrole promjena trebao bi osigurati da su sve prijavljene ili tražene promjene na zadovoljavajući način istražene, dokumentirane i odobrene.[7]

Izmjene koje će kao posljedicu imati revalidaciju su sljedeće:

- Izmjene sirovina (gustoća, viskoznost, raspodjela veličine čestica),
- Izmjena proizvođača početnog materijala,
- Izmjene materijala za pakiranje,
- Izmjene u procesu (npr. vrijeme miješanja, temperature sušenja),
- Izmjene u opremi (proizvodnja, računalni sustavi)
- Izmjene proizvodnog područja i sustava podrške (npr. preuređenje područja, nova metoda obrade vode),
- Prijenos procesa na drugo mjesto uslijed preseljenja opreme,
- Neočekivane izmjene (npr. one uočene tijekom samoprovjere ili tijekom rutinske analize podataka procesa).

U teoriji, validacija postupaka čišćenja trebala bi se provoditi samo jednom za svaki proces. U praksi rijetko koji proces ostaje u svom izvornom obliku, tj.

nepromjenjen u svom životnom ciklusu; promjene se događaju u komponentama kao što su sirovine i materijal za pakiranje, a oprema se modificira. Stoga je vrlo važno provoditi redovni ili periodički program revalidacije postupaka čišćenja.[15]

Revalidacija pruža dokaz da izmjene u procesu i/ili procesnom okruženju, uvedene namjerno ili nenamjerno, ne utječu nepovoljno na karakteristike procesa i kvalitetu proizvoda. Dvije su glavne kategorije revalidacije, [4]:

- Revalidacija u slučaju poznate izmjene (opreme, proizvoda ili procesa),
- Periodična revalidacija provedena u određenim vremenskim intervalima.

Treba bi postojati sustav kojim se osigurava da su obje situacije riješene. Zahtjevi za revalidaciju pisani u dokumentaciji (glavni plan) bit će isti kao i za početnu provjeru valjanosti procesa, a u mnogim slučajevima mogu se koristiti slični protokoli.

Potrebno je definirati što predstavlja izmjenu procesa ili procesnog okruženja. Periodična revalidacija sterilnih procesa veći je prioritet od revalidacije nesterilnih procesa. U slučaju standardnih procesa na konvencionalnoj opremi, pregled podataka sličan onom koji bi bio potreban za retrospektivnu validaciju može pružiti odgovarajuće jamstvo da se proces nastavlja pod kontrolom. Uz to, također treba razmotriti i sljedeće, [7]:

- pojavu bilo kakvih izmjena u glavnoj formuli, metodama ili proizvođaču početnog materijala,
- kalibracije opreme provedene prema utvrđenom programu,
- preventivno održavanje provedeno u skladu s programom,
- ažurirane standardne operativne procedure koje se slijede,
- prikladnost programa čišćenja i higijene,
- neplanirane izmjene ili održavanje opreme ili instrumenata.

Prema prethodno navedenome, validacija postupaka čišćenja može se smatrati kružnim procesom koji zahtijeva kontinuirano praćenje.



Slika 2. Ciklus validacije postupaka čišćenja [15]

2.8.1. Revalidacija povezana s izmjenama

Izmjene zbog kojih se mora provesti revalidacija postupaka čišćenja uključuju izmjene u postupku čišćenja, izmjene proizvodne opreme te izmjene samog proizvoda.

Izmjene u postupku čišćenja koje utječu na sam postupak čišćenja, a nisu izmjene strukture, organizacije ili izgleda uputa za čišćenje, podliježu revalidaciji i uključuju, [15]:

- upotrebu novog sredstva za čišćenje,
- izmjene koncentracije primijenjenog sredstva za čišćenje,

- korištenje novog pribora za čišćenje,
- izmjenu parametara procesa,
- izmjenu količine tekućine za čišćenje i ispiranje.

Izmjene na proizvodnoj opremi općenito se dijele na izmjene u CIP opremi (zamjena glava mlaznica, izmjene u sustavu doziranja sredstva za čišćenje, izmjene u sustavu cijevi) i izmjene/zamjene dijelova opreme. Novi dijelovi proizvodne opreme te upotreba novih materijala koji su u kontaktu s proizvodom dovode do pojave novih kritičnih točaka. Također, potrebno je utvrditi je li se promijenila kontaktna površina proizvoda te provjeriti jesu li prethodni izračuni ograničenja za ostatke djelatnih tvari ili sredstava za čišćenje u skladu s izmjenama na opremi.

Izmjene na proizvodu koje mogu utjecati na validaciju postupaka čišćenja su izmjene sastava proizvoda i izmjene proizvodnog procesa ili proizvodne opreme. Preformulacija proizvoda koja utječe na izmjenu sastava najčešće se odnosi na izmjenu jedne ili više pomoćnih tvari pri čemu su odlučujući faktori za revalidaciju kompresibilnost, dezintegracija ili homogenost sadržaja. Izmjene proizvodnog postupka mogu utjecati na pojedinačne proizvodne korake ili na cijeli postupak, čime ponovni izračun kontaktne površine proizvoda i ograničenja za proizvod postaje neizbježan, kao i sama revalidacija.[15]

2.8.2. Periodična revalidacija

Periodičnom revalidacijom postupaka čišćenja provjerava se i osigurava prethodno potvrđeni status validacije postupaka čišćenja prema određenim vremenskim intervalima. Uz vremenski interval, potrebno je definirati povezivanje s postupcima kontrole izmjena te vrstu provedbe testa revalidacije.

Ručni postupci čišćenja trebaju se provjeravati u kraćim vremenskim intervalima od procesa automatiziranog čišćenja. Povezivanje s postupcima kontrole izmjena pojednostavljuje periodičnu revalidaciju. Primjerice, potrebno je ponovno pregledati i provjeriti (revalidirati) uputstva za čišćenje u slučaju izmjene u postupku čišćenja, potreban je pregled kvalifikacijske dokumentacije u slučaju izmjena opreme kako bi se provjerila sama mogućnost izmjena, u slučaju izmjene kritičnih proizvoda potrebno je usporediti sadašnja uputstva za proizvodnju s uputstvima za proizvodnju u vrijeme prve validacije i slično. Vrsta provedbe testa u jednostavnijim slučajevima može biti isključivo pregled dokumenata, dok će u kompliciranijim slučajevima značiti ponavljanje cjelokupne validacijske studije.[15]

3. SVRHA I CILJ RADA

Svrha ovog diplomskog rada je analizirati i pojasniti smjernice za praćenje zahtjeva dobre proizvođačke prakse (DPP) u svrhu inspekcije validacije čišćenja prostora i opreme u farmaceutskoj industriji.

Ciljevi diplomskog istraživanja su:

1. Analizirati i obrazložiti smjernice za provođenje validacije čišćenja prostora i opreme iz različitih pravilnika koji sadrže važeće i dostupne smjernice koji prate zahtjeve DPP
2. Napraviti izračun MACO vrijednosti za pojedine slučaje iz prakse
3. Objasniti kriterije za prihvaćanje čistoće

4. MATERIJALI I METODE

U ovom radu analizirane su dostupne, ali ne sve smjernice i regulative smjernice za praćenje zahtjeva dobre proizvođačke prakse prilikom validacije čišćenja proizvoda i opreme u farmaceutskoj industriji.

U izradi rada korišteni su podaci iz DPP Pravilnika međunarodne inspekcijske organizacije PIC/S (engl. *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme*), Vodiča za inspekcije validacija procesa čišćenja Američke uprave za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration, FDA*), Smjernica za validaciju Svjetske zdravstvene organizacije (*World Health Organisation, WHO*) te Smjernica za GMP za Ljudsku i Veterinarsku primjenu Europske Komisije.

Pravila i smjernice iz navedenih dokumenata koriste djelatnici/inspektori Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) prilikom provođenja inspekcija i inspekcijskih nadzora.

Navedeni su službeni zahtjevi za regulaciju postupka čišćenja te načini provedbe validacije, od sastavljanja uputa do procedura uzorkovanja i izračuna dopuštenih ostataka prema kriterijima prihvatljivosti.

Izračunata je MACO (engl. *Maximum Allowable Carryover*) vrijednost u primjeru iz prakse, koja predstavlja kriterij dopuštenog prenošenja određenog dijela dnevne doze proizvoda na dnevnu dozu sljedećeg proizvoda. Izračun je proveden prema formuli navedenoj u GMP Pravilniku međunarodne inspekcijske organizacije PIC/S.

5. REZULTATI

Validacija čišćenja prostora i opreme provodi se na temelju pristupa specifičnog za proizvod ili pristupa specifičnog za opremu, kako je prikazano u literaturnom pregledu. Oba pristupa koja će biti razmatrana su primjeri iz prakse za validaciju čišćenja prostora i opreme prilikom proizvodnje sterilnih proizvoda koji se primjenjuju putem injekcije. Pristup validaciji čišćenja specifičan za proizvod proveden je na proizvodnom mjestu 1 prilikom proizvodnje sterilnog proizvoda koji sadrži djelatnu tvar busulfan. Pristup validaciji čišćenja specifičan za opremu proveden je na proizvodnom mjestu 2 prilikom proizvodnje šest sterilnih proizvoda u istoj proizvodnoj liniji, a za validaciju čišćenja odabran je najkritičniji sterilni proizvod koji sadrži djelatnu tvar desmopresin.

5.1. Pristup specifičan za proizvod

Validacija čišćenja prostora i opreme proizvodne linije proizvodnog mjesta 1 provedena je za sterilni proizvod u obliku injekcije koji sadrži djelatnu tvar busulfan u dozi 60 mg/10 ml. Busulfan je slabo topiv u vodi te vrlo topiv u dimetilacetamidu (DMA), stoga su testovi brisa i ispiranja tokom validacije postupka čišćenja provedeni uz uporabu DMA. Oprema i dijelovi opreme koji se koriste za uzorkovanje ispiranjem korištenjem DMA podvrgnuti su ispitivanju sadržaja DMA u završnom ispiranju vodom za injekcije (*Water for injection*, WFI). Proizvođač je odradio ispitivanje parametara za WFI, uključujući pH, konduktivnost, ukupni broj aerobnih mikroorganizama i BET (*Bacterial Endotoxin Test*). Svi parametri za završno ispiranje vodom za injekcije zadovoljili su zahtjeve kvalitete. Također, proizvođač je potvrdio da je sadržaj DMA u završnom ispiranju opreme i dijelova opreme proizvodne linije proizvodnog mjesta 1 koristeći WFI unutar zadanih ograničenja i

zadovoljava zahtjeve kvalitete. Primarni osvrt studije u nastavku rada je na izračun MACO ograničenja za djelatnu tvar busulfan.

Izračun kriterija prihvatljivosti:

Granice prihvatljivosti validacije čišćenja uključujući toksikološke podatke za uzorke briseva

1. Izračun NOEL vrijednosti

LD₅₀- *Lethal Dose* 50 prethodno proizvedenog proizvoda (busulfan injekcija)
= 110 mg/kg

Empirijska konstanta = 2000

$$\text{NOEL} = \frac{\text{LD}_{50}}{\text{Empirijska konstanta}} = \frac{110 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}}{2000} = 0,055 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

2. Izračun prihvatljivog dnevnog unosa (ADI)

Prosječna masa odrasle osobe = 70 kg

SF (faktor sigurnosti) = 1000

$$\text{ADI} = \frac{\text{NOEL} \times \text{prosječna masa odrasle osobe}}{\text{SF}} = \frac{0,055 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 70 \text{ kg}}{1000} = 0,00385 \text{ mg}$$

3. Izračun MACO vrijednosti

ADI (*Acceptable daily intake*) - prihvatljiv dnevni unos = 0,00385 mg

ADE (*Acceptable daily exposure*) – prihvatljiva dnevna izloženost = 0,01 mg

Bs (*Minimum batch size*) - minimalna veličina serije slijedećeg proizvoda (karboplatin) = 10000 ml

SA (*Swab surface area*) - površina brisa = 100 cm²

MOD (*Maximum daily dose of next product*)- najveća dnevna doza slijedećeg proizvoda (karboplatin) = 64,8 ml

ESA (*Equipment surface are shared with next product*) - površina opreme koja se dijeli sa slijedećim proizvodom (karboplatin) = 16038 cm²

V (*Volume of solvent used to dispense the swab*) - volumen otapala (DMA) korištenog za nanošenje brisa = 10 ml

* faktor prinosa uključuje se u formulu za izračun MACO vrijednosti ako je prinos manji od 75%

a) izračun MACO vrijednosti koristeći ADI

$$\begin{aligned} \text{MACO} &= \frac{\text{ADI} \times \text{Bs} \times \text{SA} \times 1000 \times \text{Faktor oporavka} *}{\text{MOD} \times \text{ESA} \times \text{V}} \\ &= \frac{0,00385 \text{ mg} \times 10000 \text{ ml} \times 100 \text{ cm}^2 \times 1000}{64,80 \text{ ml} \times 16038 \text{ cm}^2 \times 10 \text{ ml}} = 0,37 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b) izračun MACO vrijednosti koristeći ADE

$$\begin{aligned} \text{MACO} &= \frac{\text{ADE} \times \text{Bs} \times \text{SA} \times 1000 \times \text{Faktor oporavka} *}{\text{MOD} \times \text{ESA} \times \text{V}} \\ &= \frac{0,01 \text{ mg} \times 10000 \text{ ml} \times 100 \text{ cm}^2 \times 1000}{64,80 \text{ ml} \times 16038 \text{ cm}^2 \times 10 \text{ ml}} = 0,96 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Granice prihvatljivosti validacije čišćenja uključujući toksikološke podatke za uzorke testa ispiranja

1. Izračun NOEL vrijednosti

LD₅₀- *Lethal Dose 50* prethodno proizvedenog proizvoda (busulfan injekcija)
= 110 mg/kg

Empirijska konstanta = 2000

$$\text{NOEL} = \frac{\text{LD}_{50}}{\text{Empirijska konstanta}} = \frac{110 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}}{2000} = 0,055 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

2. Izračun prihvatljivog dnevnog unosa (ADI)

Prosječna masa odrasle osobe = 70 kg

SF (faktor sigurnosti) = 1000

$$\text{ADI} = \frac{\text{NOEL} \times \text{prosječna masa odrasle osobe}}{\text{SF}} = \frac{0,055 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 70 \text{ kg}}{1000} \\ = 0,00385 \text{ mg}$$

3. Izračun MACO vrijednosti

ADI (*Acceptable daily intake*) - prihvatljiv dnevni unos = 0,00385 mg

ADE (*Acceptable daily exposure*) - prihvatljiva dnevna izloženost = 0,01 mg

Bs (*Minimum batch size*) - minimalna veličina serije slijedećeg proizvoda (karboplatin)= 10000 ml

SA (*Surface area of machine parts in product train*) - površina strojnih dijelova u proizvodnom nizu = 6149 cm²

MOD (*Maximum daily dose of next product*) - najveća dnevna doza slijedećeg proizvoda (karboplatin) = 64,8 ml

ESA (*Equipment surface are shared with next product*) - površina opreme koja se dijeli sa slijedećim proizvodom (karboplatin)= 16038 cm²

V (*Volume of solvent used to rinse equipment/machine parts in product train*)-volumen otapala korištenog za ispiranje opreme/strojnih dijelova u proizvodnom nizu = 1000 ml

* faktor prinosa uključuje se u formulu za izračun MACO vrijednosti ako je prinos manji od 75%

a) izračun MACO vrijednosti koristeći ADI

$$\begin{aligned} \text{MACO} &= \frac{\text{ADI [mg]} \times \text{Bs[ml]} \times \text{SA} \times 1000 \times \text{Faktor oporavka} *}{\text{MOD} \times \text{ESA} \times \text{V}} \\ &= \frac{0,00385 \text{ mg} \times 10000 \text{ ml} \times 6149 \text{ cm}^2 \times 1000}{64,80 \text{ ml} \times 16038 \text{ cm}^2 \times 1000 \text{ ml}} = 0,23 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b) izračun MACO vrijednosti koristeći ADE

-izračun je proveden od strane proizvođača predmetnog lijeka

$$\begin{aligned} \text{MACO} &= \frac{\text{ADE [mg]} \times \text{Bs[ml]} \times \text{SA} \times 1000 \times \text{Faktor oporavka} *}{\text{MOD} \times \text{ESA} \times \text{V}} \\ &= \frac{0,01 \text{ mg} \times 10000 \text{ ml} \times 6149 \text{ cm}^2 \times 1000}{64,80 \text{ ml} \times 16038 \text{ cm}^2 \times 1000 \text{ ml}} = 0,59 \text{ ppm} \end{aligned}$$

5.2. Pristup specifičan za opremu (procjena rizika za proizvodno mjesto)

Validacija čišćenja prostora i opreme proizvodne linije proizvodnog mjesta 2 provedena je za sterilni proizvod u obliku injekcije koji sadrži djelatnu tvar desmopresin u dozi 4µg/1ml. Desmopresin je topiv u vodi, etanolu i 1%-tnom anhidridu octene kiseline.

Tablica 4. Proizvodne vrste lijekove proizvedene u istoj proizvodnoj liniji

Proizvodna vrsta	Proizvodna vrsta koja može biti proizvedena u sljedećoj seriji			Neprenosiva proizvodna vrsta
	Naziv	Doza	Serija/bočica	
Injekcija desmopresina	Injekcija karbetocina	1 ml : 100 µg	30000, 100000	Injekcija eptifibatida
	Injekcija atosibanacetata	0,9 ml : 6,75 mg	30000	
		5 ml : 37,5 mg	1000	
	Injekcija timopentina	1 mg	120000,	
		10 mg	125000	
	Injekcija desmopresina	1 ml : 4 µg	100000, 200000	
		1 ml : 15 µg	200000	
Injekcija timalfasina	1,6 mg	30000, 120000		

Proizvodnja sterilnog proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin odvija se kolinijски uz proizvodnju još 5 različitih sterilnih proizvoda navedenih u Tablici 4. Proizvod koji sadrži djelatnu tvar desmopresin određen je kao najkritičniji. Najviša dopuštena dnevna doza (*Maximum tolerable daily dose*, MTDD) desmopresina je 0,004 mg, a NOEL vrijednost za desmopresin iznosi

0,042 mg/kg. ADE vrijednost za desmopresin iznosi 83 µg. Najmanja veličina serije (*Minimum batch size, MBS*) proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin iznosi 100000 bočica, a najviša dnevna doza (*Daily dose, Dd*) određena je na 18 bočica (0,072 mg).

6. RASPRAVA

Pristup validaciji čišćenja specifičan za proizvod temelji se na pretpostavci da su tragovi proizvoda i otapala korištenog za uzorkovanje ispiranjem nakon čišćenja na zadovoljavajući način uklonjeni prije proizvodnje sljedećeg proizvoda s istom proizvodnom opremom. Ovaj pristup osigurava da ne dođe do unakrsne kontaminacije proizvoda zbog korištenja zajedničke opreme u proizvodnji i punjenju. Učinkovitost postupka čišćenja u uklanjanju tragova proizvoda do razina ispod postavljenih granica utvrdit će se kemijskom analizom uzoraka briseva/ispiranja uzetih s opreme.

Praćenjem i testiranjem očišćene opreme utvrđena je uspješnost postupka čišćenja definiranog u odgovarajućim SOP-ovima kako bi se osiguralo da je prijenos ciljane tvari (busulfana) ispod definirane i prihvatljive MACO vrijednosti.

Tablica 5. Popis opreme i dijelova opreme za validaciju čišćenja proizvodnog mjesta 1

Oprema u direktnom kontaktu s proizvodom	Oprema koja nije u direktnom kontaktu s proizvodom
Proizvodni spremnik 30 L	Izolator za doziranje i miješanje
Sterilni spremnik za zadržavanje 30 L	Izolator za filtriranje
Proizvodni dijelovi	Izolator linije za punjenje
Lijevak i žlica	
Kućište filtera	
Otvor za prijenos sterilne tekućine	
Dijelovi stroja za punjenje	
Razdjelnik za štrcaljke	
Štrcaljke / Igle	

Cijeli niz opreme navedene u Tablici 5. mora se nadzirati i validirati kako bi se utvrdila učinkovitost postupka čišćenja, tijekom proizvodnje tri različite serije proizvoda koji sadrži djelatnu tvar busulfan. Potrebno je uzeti u obzir sve dijelove opreme koji su u direktnom kontaktu s proizvodom te površinu opreme koja nije u direktnom kontaktu s proizvodom.

Nakon uvođenja novog proizvoda u proizvodni pogon proizvodnog mjesta 1 potrebno je odrediti svu površinu proizvodne opreme koja se dijeli s drugim proizvodima. MACO vrijednost izračunava se za svaku kombinaciju lijekova u proizvodnom pogonu, a određuje se pomoću dostupne LD₅₀ vrijednosti (iz koje se izvodi ADI) ili ADE vrijednosti i zajedničke površine dijeljene sa sljedećim proizvodom koji predstavlja najgori slučaj. Zajednička površina koju dijele proizvod koji sadrži djelatnu tvar busulfan i sljedeći proizvod koji sadrži djelatnu tvar karboplatin, a koji predstavlja najgori slučaj iznosi 16038 cm². Vrijednost LD₅₀ za busulfan iznosi 110 mg/kg, a određena je toksikološkim eksperimentima koji su pokazali da u navedenoj dozi busulfan uzrokuje smrt 50% laboratorijskih životinja. Empirijska konstanta koja se uz LD₅₀ vrijednost koristi za izračun NOEL vrijednosti iznosi 2000 za sterilne lijekove. Izračunata NOEL vrijednost iznosi 0,055 mg/kg, dok ADI vrijednost iznosi 0,00385. Faktor sigurnosti koji se koristi pri izračunu ADI vrijednosti iznosi 1000 za sterilne lijekove.

Proizvođač je revidirao protokol validacije korištenjem ADE vrijednosti prilikom izračuna MACO ograničenja za određivanje kriterija prihvatljivosti. Za izračun MACO ograničenja za sve postojeće proizvode, ADI vrijednosti u formuli zamijenjene su dostupnom ADE vrijednosti koja iznosi 0,01 mg. MACO granice dobivene na temelju ADE vrijednosti uspoređuju se s postojećim MACO granicama izračunatim korištenjem LD₅₀ vrijednosti, kako bi se procijenio sveobuhvatni utjecaj za definiranje najstrože (minimalne) vrijednosti kao MACO granice. Najstroža, odnosno najniža izračunata MACO vrijednost definira granicu prihvatljivosti za uzorke testa brisa ili testa

ispiranja nakon uzorkovanja dijelova opreme koji su u direktnom kontaktu s proizvodom. Najveća dopuštena koncentracija busulfana u uzorcima brisa/završnog ispiranja koju navodi proizvođač iznosi 0,59 ppm. Također, proizvođač kao kriterij prihvatljivosti za dijelove opreme koja nije u direktnom kontaktu s proizvodom navodi kriterij količine, referirajući se na odgovarajuće pravilnike. Prema navodima proizvođača, najveća dopuštena koncentracija busulfana u uzorku brisa ne smije biti veća od 10,0 ppm.

Suprotno tome, eksperimentalno izračunata MACO ograničenja u ovom radu korištenjem ADI vrijednosti iznose 0,37 ppm za uzorke briseva te 0,23 ppm za uzorke ispiranja. Izračunata MACO ograničenja korištenjem ADE vrijednosti iznose 0,96 ppm za uzorke briseva te 0,59 ppm za uzorke ispiranja. Prema navedenom, najveća dopuštena koncentracija busulfana u uzorcima brisa/završnog ispiranja iznosi 0,23 ppm, što je niže od dopuštene koncentracije busulfana koju navodi proizvođač.

Uz utvrđivanje navedenih kriterija prihvatljivosti, SOP validacije čišćenja zahtjeva vizualni pregled svih dostupnih površina opreme. Kriterij prihvatljivosti u ovom slučaju je da nema vidljivih tragova ostataka djelatnih tvari na površini opreme nakon sušenja.

Svakim uvođenjem novog proizvoda u proizvodni pogon potrebno je ponovno definirati kriterij prihvatljivosti koristeći matricu proizvoda. Ako je izračunata MACO vrijednost manja od prethodno postavljene granice, prethodni rezultati validacije čišćenja uspoređuju se s novim granicama. Ako je izračunata MACO vrijednost novog proizvoda veća od prethodno određene MACO vrijednosti, potrebno je provjeriti adekvatnost validirane analitičke metode i postupka čišćenja za dotičnu opremu. Validacija analitičkog postupka i postupka čišćenja modificira se po potrebi, a tome prethodi provedena procjena rizika.

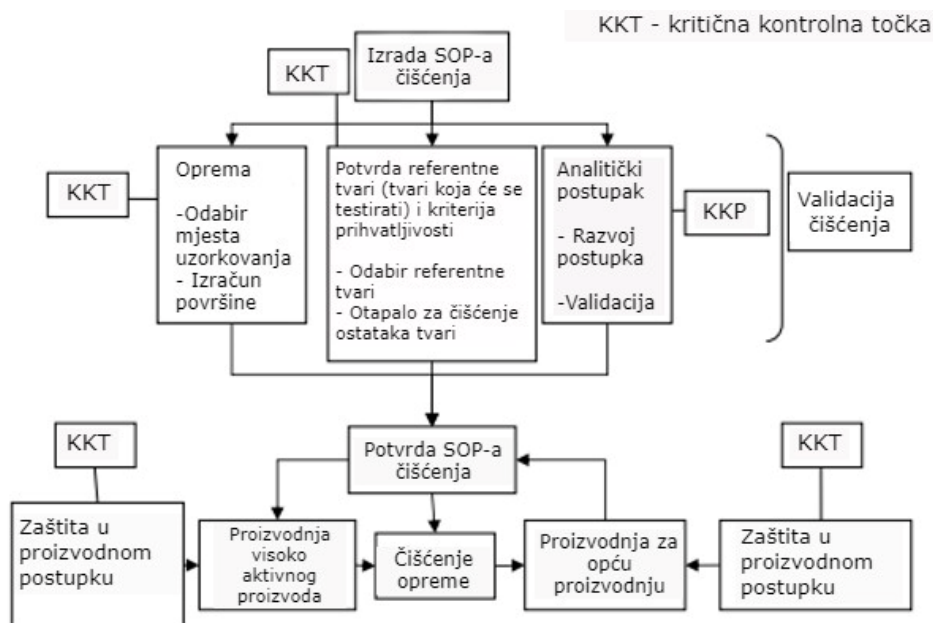
Izvedivost dijeljenja proizvodnih pogona i opreme za obradu i proizvodnju više proizvoda (lijekova) u proizvodnom mjestu 2 mora se utvrditi uzevši u obzir čimbenike kao što su karakteristike lijeka, proces proizvodnje te namjeravana uporaba lijeka. Potrebno je utvrditi razinu rizika kako bi se mogli učinkovito kontrolirati potencijalni rizici u procesu proizvodnje više proizvoda u proizvodnoj liniji. Procjenu moguće unakrsne kontaminacije ili drugih povezanih rizika za više proizvoda proizvedenih u istoj proizvodnoj liniji mora biti provedena kako bi se identificirale strategije za kontrolu unakrsne kontaminacije te kako bi se rizik sveo na najmanju moguću mjeru.

Upotrebom alata za procjenu rizika kao što su stablo odlučivanja, dijagram toka, analiza opasnosti i kritične kontrolne točke (HACCP – Hazard analysis and critical control point), analizira se proizvodnja više proizvoda u zajedničkoj liniji kako bi se identificirale ključne kontrolne točke, formulirala ključna ograničenja i kako bi se uspostavio sustav praćenja za kontrolu svake kritične kontrolne točke. Potrebna je uspostava korektivnih mjera koje treba poduzeti kada su kritične kontrolne točke izvan kontrole i postupaka za potvrdu učinkovitog rada kontrolnog sustava u svrhu smanjenja potencijalnih rizika.

U proizvodnoj liniji proizvodnog mjesta 2 proizvodi se 6 različitih injekcija navedenih u Tablici 4. Procjena rizika postavlja uvjete za dozvoljeni prijenos proizvoda, čime se maksimalno iskorištava proizvodnja za komercijalne potrebe i izbjegava unakrsna kontaminacija u proizvodnom procesu. Među lijekovima u proizvodnoj liniji nema visoko osjetljivih lijekova (kao što su penicilini), bioloških proizvoda, β -laktamskih lijekova, hormona ili citotoksičnih lijekova. Ne postoje posebni zahtjevi za preradu proizvoda te nema potrebe za namjenskim ili neovisnim proizvodnim pogonom ili opremom, a može se provesti procjena rizika za proizvodnju više proizvoda u zajedničkoj proizvodnoj liniji kako bi se potvrdila prikladnost zajedničke proizvodnje. Prema analizi procesne rute, linijska proizvodnja lijekova počinje

od pripreme, prilikom čega lijekovi dijele spremnik za pripremu, filter za sterilizaciju, sterilni spremnik za privremeno skladištenje i međuspremnik za punjenje. Proizvođač je proveo testove brisa i ispiranja za kritične dijelove proizvodnog prostora i opreme proizvodnog mjesta 2 koji predstavljaju srednji ili visok rizik. Provedena su mjerenja pH, konduktivnosti, BET, TOC i vrijeme zadržavanja djelatne tvari. Sva mjerenja zadovoljila su zahtjeve kvalitete.

Analiza potencijalnog rizika linijske proizvodnje više lijekova uzima u obzir sigurnost lijekova, na način da rizike indikacija i kontraindikacija lijeka treba isključiti na temelju analize svojstava, toksičnosti, aktivnosti i namjeravane uporabe svakog lijeka. Kolinijska proizvodnja različitih lijekova može dovesti do rizika od zaostale kontaminacije, stoga je potrebno provesti potvrdu dopuštenih granica ostataka i validaciju postupka čišćenja.



Slika 3. Tijek procesa i dijagram analize opasnosti za proizvodno mjesto 2

Nakon analize tijeka procesa koji je prikazan na Slici 3., proizvodnja na zajedničkoj liniji počinje od pripreme faze, a neki od spremnika za pripremu,

filtara za sterilizaciju, sterilnog spremnika za skladištenje i međuspremnik za punjenje dijeli više proizvoda, što dovodi do rizika od prekomjerne količine ostataka djelatne tvari. Kako bi se u potpunosti razmotrila sigurnost lijekova, za dopuštenu granicu ostataka djelatne tvari uzima se ADE vrijednost, dobivena iz NOEL vrijednosti. Rizik od ostataka iz proizvodnje u liniji prihvatljiv je jer su postupci čišćenja za kontrolu čistoće proizvodne opreme i posuđa u potpunosti validirani, a sigurnost lijeka u potpunosti je uzeta u obzir.

Prema analizi karakteristika svih rutinski proizvedenih proizvoda ili vrsta proizvoda i serija u proizvodnoj liniji proizvodnog mjesta 2, potrebno je odrediti dopuštenu granicu ostataka za svaki proizvod koji je ostao do sljedeće proizvodne serije. MACO granicu nije moguće eksperimentalno izračunati zbog toga što proizvođač proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin u protokolu ne navodi sve parametre potrebne za izračun. Stoga se omjer najmanje proizvodne serije (MBS) i najveće dnevne doze (Dd) uzima kao najgori slučaj kada proizvod nema kontraindikacije za lijek kako bi se odredila najveća dopuštena granica za ostatke djelatne tvari. Proizvod koji sadrži djelatnu tvar desmopresin ima najmanju ADE vrijednost (83 µg), što znači da ima najveću aktivnost, a njegova proizvodnja može uzrokovati kontaminaciju ili unakrsnu kontaminaciju drugih lijekova. Validacija čišćenja prostora i opreme prilikom proizvodnje proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin provodi se kada prestaje proizvodnja proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin te počinje proizvodnja proizvoda koji sadrži djelatnu tvar atosibanacetat u dozi 6,75 mg / 0,9 ml. Atosibanacetat ima najniži MBS/Dd omjer koji iznosi 1429.

Rizik od sukoba (*Risk of conflict*) indikacija i kontraindikacija između različitih lijekova prisutan je kod proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin koja je kontraindicirana u bolesnika s nestabilnom anginom i proizvoda koji sadrži djelatnu tvar eptifibatid koja je indicirana u bolesnika s akutnim koronarnim

sindromom; proizvodnja injekcije desmopresina ne smije biti praćena proizvodnjom injekcije eptifibatida, kao što je navedeno u Tablici 4.

7. ZAKLJUČAK

Proizvođač je slobodan odrediti bilo koji način izračuna ograničenja za ostatke djelatnih tvari, s obzirom da u važećim smjernicama za validaciju čišćenja prostora i opreme nije striktno definirano na koji se način treba računati. Revidiranjem protokola i uvođenjem ADE vrijednosti u izračun MACO ograničenja za djelatnu tvar busulfan proizvedenu na proizvodnoj liniji proizvodnog mjesta 1, proizvođač je definirao najvišu dopuštenu koncentraciju busulfana u uzorcima brisa/završnog ispiranja dijelova opreme u direktnom kontaktu s proizvodom. U uzorcima briseva za dijelove opreme koji nisu u kontaktu s proizvodom proizvođač proizvoda koji sadrži djelatnu tvar busulfan odlučio je koristiti kriterij količine. Najstroža eksperimentalno izračunata MACO vrijednost za prijenos busulfana je niža od MACO vrijednosti koje je odredio proizvođač te bi kao takva trebala predstavljati granicu prihvatljivosti za uzorke testa brisa ili testa ispiranja nakon uzorkovanja dijelova opreme. S obzirom da je najbolje odabrati najstroži, odnosno najgori slučaj za postavljanje ograničenja, na temelju eksperimentalno izračunate vrijednosti od proizvođača se može zatražiti provjera adekvatnosti validirane analitičke metode i postupka čišćenja za prostore i opremu proizvodnog mjesta 1 prilikom inspekcije.

Proizvod koji sadrži djelatnu tvar desmopresin proizveden je na proizvodnoj liniji proizvodnog mjesta 2 na kojoj se proizvode još 5 različitih sterilnih proizvoda. Na temelju procjene rizika od strane proizvođača, smatra se da je kolinijska proizvodnja sterilnih proizvoda dopuštena pod određenim uvjetima. Na temelju procjene utjecaja djelatnih tvari lijeka, postoji kontraindikacija za lijekove između proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresina i proizvoda koji sadrži djelatnu tvar eptifibatid, što znači da sljedeća serijska proizvodnja nakon proizvodnje proizvoda koji sadrži djelatnu tvar desmopresin ne može biti proizvod koji sadrži djelatnu tvar eptifibatid. Validacija čišćenja podržava

proizvodnju injekcije karbetocina, injekcije atosibanacetata, injekcije timopentina i injekcije timalfasina nakon proizvodnje injekcije desmopresina.

Iz aspekta inspeksijskog nadzora, pregled validacije čišćenja je potreban kako bi se osiguralo da se proizvodnja lijekova i drugih farmaceutskih proizvoda provodi u najboljim mogućim uvjetima. Validacija čišćenja je esencijalan dio provođenja zahtjeva dobre proizvođačke prakse, sprečava moguću kontaminaciju farmaceutskih proizvoda te pomaže da proizvod zadovoljava prethodno definirane standarde kvalitete.

8. LITERATURA

- [1] European Commission, 'EudraLex, Volume 4, The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Part 1, Chapter 3: Premises and Equipment', 2014.
- [2] M. Hiob and R. Gomez, '8.A Official requirements', in *GMP Manual Version Feb 2014*, Maas & Peither AG, 2014.
- [3] FDA, 'Validation of Cleaning Processes (7/93), Guide to inspections of validation of cleaning processes', 2021. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/validation-cleaning-processes-793>
- [4] World Health Organisation, 'Annex 4 Supplementary guidelines on good manufacturing practices: validation. Appendix 3 Cleaning Validation', in *WHO Expert Committee On Specifications For Pharmaceutical Preparations, 40th report*, Geneva, 2006, pp. 127–135.
- [5] D. Borchert and R. Gomez, '8.B How to validate cleaning procedures', in *GMP Manual - Version Feb 2014*, Maas & Peither AG, 2014.
- [6] World Health Organisation, 'Guidelines On Validation', 2016.
- [7] PIC/S Pharmaceutical Inspection Convention, 'Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, Non-Sterile Process Validation, Cleaning Validation', 2007.
- [8] D. Borchert and R. Gomez, '8.C Cleaning validation master plan', in *GMP Manual - Version Feb 2014*, Maas & Peither AG, 2014.
- [9] D. Borchert and R. Gomez, '8.D Establishing the scope of validation', in *GMP Manual - Version Feb 2014*, Maas & Peither AG, 2014.
- [10] Parenteral Drug Association, 'PDA Letter, Visual Inspection Practices of Cleaned Equipment', pp. 20–24, 2020. [Online]. Available: www.pda.org/pdaletter
- [11] D. Borchert and R. Gomez, '8.E Acceptance criteria and limit calculation', in *GMP Manual - Version Feb 2014*, Maas & Peither AG, 2014.
- [12] European Commission, 'EudraLex, Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Annex 15: Qualification and Validation', Brussels, 2015.

- [13] D. Borchert and R. Gomez, '8.F Sampling procedures', in *GMP Manual - Version Feb 2014* , Maas & Peither AG, 2014.
- [14] D. Borchert and R. Gomez, '8. G Analytical procedures', in *GMP Manual - Version Feb 2014* , Maas & Peither AG, 2014.
- [15] D. Borchert and R. Gomez, '8.I Maintenance of the validated status', in *GMP Manual - Version Feb 2014* , Maas & Peither AG, 2014.