

اعتبارسنجی فرآیندهای آسپتیک واکسن پرکنی با عملیات مدیافیل

سارا زالی*

۱- عضو هیات علمی (استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
* نویسنده مسئول: سارا زالی S.zali@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳-۱۲-۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: ۳۰-۰۲-۱۴۰۲

چکیده

یکی از عناصر کلیدی در صنایع واکسن‌سازی که جزو الزامات جی‌ام‌پی نیز می‌باشد، اعتبارسنجی فرآیند است. فرآیندهای بحرانی و اثرگذار در تولید واکسن باید اعتبارسنجی شوند تا برای تولید کننده اطمینان حاصل شود که این فرآیندها به صورت مستمر قابل اعتماد می‌باشند و نهایتاً منجر به تولید محصول با کیفیت و با ویژگی‌های تعریف شده می‌گردند. یکی از فرآیندهای رایج در صنایع واکسن‌سازی فرآیند فیلینگ یا واکسن پرکنی می‌باشد. اعتبارسنجی عملیات فیلینگ جهت تضمین حفظ استریلیتی فرآیند و بسته‌بندی انجام می‌گردد، تا اثبات گردد در تمام مراحل این فرآیند، با حفظ الزامات مربوط به فضا، تجهیزات و پرسنل امکان انتقال آلودگی به محصول وجود ندارد. اجرای این اعتبارسنجی با عملیات مدیافیل انجام می‌گردد. عملیات مدیافیل نوعی شبیه‌سازی فرآیند با استفاده از محیط کشت مناسب می‌باشد به این صورت که محیط کشت به جای محصول و تحت همان شرایط (شبیه‌سازی) فیلینگ می‌گردد. نهایتاً ظروف پر و بسته‌بندی شده با محیط کشت برای تشخیص آلودگی در انکوباتور قرار می‌گیرند. با تفسیر نتایج به دست آمده مشخص می‌گردد کدام واحد قابلیت آلوده شدن احتمالی را در طول فرایند دارد.

واژگان کلیدی

معتبرسازی، فرایند، فیلینگ، واکسن پرکنی، مدیافیل



بیان مسئله و اهمیت موضوع

اعتبارسنجی فرآیند یکی از الزامات روش‌های بهینه تولید جاری (cGMP) به عنوان یک عنصر اساسی در تضمین کیفیت محصول می‌باشد. معمولاً اعتبارسنجی فرآیند به صورت شواهدی مستند ارائه می‌شود تا با درجه بالایی از اطمینان اثبات گردد که یک فرآیند خاص به طور مداوم، به محصولی با مشخصات و ویژگی‌های کیفی مطلوب و از پیش تعیین شده منتهی می‌گردد. شرکت‌های تولید دارو، واکسن و یا هر نوع فراورده بیولوژیک، باید قبل از تولید اولین دسته تجاری، در مورد ویژگی‌های محصول تولیدی، به دانش کافی دست یابند سپس با کنترل مناسب بر فرآیند تولید، فرآیندهای تولیدی خود را اعتبارسنجی کنند. این رویکرد، ثبات فرآیند تولید را تضمین می‌کند و توانایی فرآیند تولید تجاری را با درجه اطمینان بالایی در به دست آوردن محصولات دارویی با رعایت ویژگی‌های کیفی مورد نیاز و اثربخش به طور مداوم نشان می‌دهد (۱).

به عبارت ساده‌تر باید گفت اعتبارسنجی فرآیند عملیاتی است که در آن با اجرای عملیات آزمایشگاهی و جمع‌آوری داده‌ها، به صورت مستند اثبات می‌شود که کلیه مراحل فرآیند طبق الزامات و تحت کنترل می‌باشد و در نتیجه روند تولید به طور پیوسته و به شکل مطلوب انجام می‌گیرد. در صنایع داروسازی و نیز واکسن‌سازی لازم است که فرآیندهای بحرانی اعتبارسنجی شوند. فرآیند بحرانی به فرآیندی اطلاق می‌شود که عملکرد آن بر روی کیفیت محصول نهایی اثرگذار باشد. یکی از فرآیندهای مهم و بحرانی که تقریباً در تمام شرکت‌های داروسازی مشترک می‌باشد، فرآیند فیلینگ (پر کردن محصول در ظرف) تحت شرایط آسپتیک می‌باشد.

در فرآیند فیلینگ آسپتیک کلیه مراحل شامل پرکردن، اضافه کردن ماده استریل، اتصالات، گذاشتن دربوش، فیلینگ، بسته‌بندی و مهر و موم کردن ویال یا بطری باید تحت شرایط آسپتیک انجام گردد. اعتبارسنجی این فرآیند بحرانی توسط عملیات مدیافیل انجام می‌شود. اعتبارسنجی یا صحت‌گذاری بر یک فرآیند آسپتیک باید شامل سلسله عملیات‌هایی باشد که طی آن اثبات گردد کلیه مراحل و اجزای این فرآیند استریل می‌باشند و قابلیت حفظ استریلیتی را در تمام دوره فرآیند دارند. این عملیات باید به گونه‌ای طراحی شود که تمام فرآیند شامل سیستم فیلتراسیون، محیط، تجهیزات، پرسنل

و ... را از نظر تضمین آسپتیک بودن پردازش نماید. اعتبارسنجی فرآیند آسپتیک پس از اتمام و تأیید مطالعات احراز صلاحیت انجام می‌شود.

نکاتی که در فرآیند آسپتیک باید مورد توجه قرار گیرند، با توجه به مراحل فرآیند و نوع محصول متفاوت هستند. مثلاً خطر آلودگی محصول نهایی، در محصولاتی که دارای مرحله فیلتراسیون نهایی هستند، کمتر است و یا محصولاتی که نمی‌توانند در هر مرحله از فرآیند استریل شوند (واکسن‌هایی مانند MMR، DPT)، بیشترین خطر آلودگی را دارند. به طور کلی می‌توان گفت استراتژی اعتبارسنجی باید فرآیند آسپتیک را در تمام مراحل تولید در نظر بگیرد. صحت فرآیند فیلینگ آسپتیک به وسیله اجرای عملیات مدیافیل اعتبارسنجی می‌شود. در این عملیات، فرآیند آسپتیک از نقطه استریل کردن تا بسته شدن ظرف، با یک محیط کشت مناسب برای رشد میکروبی به جای محصول، شبیه‌سازی می‌گردد. یعنی فرآیند تحت شرایطی تا حد امکان شبیه شرایط واقعی تولید، اجرا می‌گردد با این تفاوت که محیط کشت مناسب به جای محصول در مسیر جایگزین می‌شود و پس از طی مسیر مشابه فرآیند تولید، نهایتاً در بطری یا ویال‌های محصول، فیلینگ و بسته‌بندی می‌شود. پس از اتمام فیلینگ بطری‌های حاوی محیط کشت تحت شرایط انکوباسیون قرار می‌گیرند تا بعد از طی زمان تعریف شده، یک به یک بررسی شوند. به این ترتیب، در صورتی که در مسیر و لوله‌ها، امکان ورود آلودگی به فرآیند فراهم باشد، به شکل رشد آلودگی در محیط کشت درون بطری‌ها، قابل بررسی می‌باشد (۲).

دست‌آورد

به طور کلی تأیید اعتبار فرآیندهای آسپتیک، دشوار می‌باشد زیرا باید برای اثبات اینکه چیزی اتفاق نیفتاده است، تلاش کرد. یکی از اصول روش‌های علمی می‌تواند به این اثبات کمک کند. به این صورت که اگر کسی بخواهد فرضیه‌ای را اثبات کند، می‌تواند برای رد آن تلاش کند. در صورت عدم موفقیت، موضوع اثبات حاصل می‌شود (۲). در اینجا فرضیه این است که فرآیند آسپتیک منجر به محصول استریل می‌شود یا شاید بتوان گفت، منجر به آلودگی میکروبی محصول استریل نخواهد شد. به عبارت دیگر، فرآیند آسپتیک عاری از هرگونه نقص، ضعف و یا متغیرهای جدی است که منجر به آلودگی میکروبی شود. عملیات مدیافیل و یا پر کردن محیط کشت به جای محصول، تلاشی برای به

استفاده در عملیات مدیافیل است. از سایر محیط کشت‌های عمومی در موارد خاص و با ارایه توجه انتخاب آن محیط کشت، می‌توان استفاده کرد. استفاده از محیط کشت‌های بی‌هوازی (به عنوان مثال، محیط تیوگلیکولات مایع) در شرایط خاص و با توجه به ریسک و احتمال نوع آلودگی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (۴). به هر حال محیط کشت انتخاب شده باید شامل این موارد باشد: انتخاب پذیری پایین، شفاف، غلظت مناسب، قابل فیلتر بودن و بازیابی و بازدهی مناسب محیط کشت مورد استفاده باید آزمایش القای رشد میکروبی یا GPT (growth promotion test) را بگذراند. این تست در فارماکوپه USP توضیح داده شده است (۵). با انجام این تست باید اثبات شود که محیط کشت، بازیابی و بازدهی مناسب دارد و رشد حداقل 10^6-10^7 cfu/unit میکروارگانیزم را حمایت می‌کند. میکروارگانیزم‌های کنترلی مورد استفاده در این تست در فارماکوپه USP (۵) ذکر شده‌اند. تست GPT علاوه بر این که بر روی محیط کشت قبل از شروع عملیات مدیافیل انجام می‌گردد، باید در انتهای عملیات و در تکمیل دوره انکوباسیون نیز انجام شود تا نشان دهد که محیط کشت توانایی لازم برای رشد، را حفظ کرده است.

حجم محیط کشت

در مورد حجم محیط کشتی که در ظرف پر می‌شود، برخی از نکات باید در نظر گرفته شوند. به عنوان مثال حجم محیط کشت مایع در هر ظرف باید به قدری باشد که همه سطوح داخلی ظرف و درپوشها خیس شوند و یا امکان رشد میکروبی محیط کشت، باید اثبات گردد. برخی منابع این موضوع را به این معنی تفسیر کرده‌اند که حداقل نیمی از حجم اسمی ظرف باید پر شود (۶). در حالی که برخی منابع نیز استفاده از حجم معمول تولید را به دلیل در نظر گرفتن هر خطری که در اثر پر شدن کامل ایجاد می‌شود، مانند کف کردن و پاشیدن روی سوزن‌ها، پیشنهاد کرده‌اند. در صورتی که حجم کامل یا حجم نزدیک به حجم کامل پر شود، باید واجد شرایط بودن عملیات، از لحاظ حضور اکسیژن کافی، برای حمایت از سطوح پایین رشد میکروبی، از طریق مطالعات القای رشد ($growth$ promotion) تأیید شود. از سوی دیگر پیش شرط‌های فیزیولوژیکی میکروارگانیزم‌ها را نیز باید در نظر گرفت (شرایط هوازی: نیمی از حجم اسمی، شرایط بی‌هوازی: کل حجم اسمی). بطور کلی می‌توان گفت حجم محیط کشتی که در ظرف ریخته می‌شود به عوامل مختلفی در آن فرایند بستگی دارد که این عوامل با توجه به خطرهای (ریسک) آلودگی آن فرایند تعریف می‌شوند. مقدار حجم محیط کشت که در ظرف پر می‌شود با در نظر گرفتن نوع محصول، نوع آلودگی که احتمال حضور بیشتری دارد و همچنین حجم ظرف، تعریف می‌گردد. برخی از تولیدکنندگان از حجم‌های کامل

چالش کشیدن فرآیند و یافتن آن نقاط ضعف است. اگر نقص یا ضعفی در فرآیند وجود داشته باشد که بتواند منجر به آلودگی محصول شود، احتمال این که این آلودگی در یک محیط کشت پیدا شود، بسیار بیشتر از محصول است، بنابراین ضعف‌ها و معایب فرآیند آشکار می‌شود. از لحاظ آماری تکرار عملیات مدیافیل احتمال کشف عیوب، ضعف یا متغیرهای فرآیند را افزایش می‌دهد. بنابراین، حداقل باید سه بار متناوب این عملیات با موفقیت اجرا گردد تا بتوان فرایند را معتبر اعلام نمود (۲). در اجرای عملیات مدیافیل باید نکات متعددی را در نظر داشت. به طور مثال این عملیات باید تا جای ممکن شبیه به فرایند باشد. این تشابه شامل مواردی مانند طول مدت فرایند بسته‌بندی، زمان اجرای فرایند بسته‌بندی، تعداد پرسنل درگیر، الگوی رفت و آمد پرسنل، شارژ درپوش‌ها و ظروف، مداخلات و حوادث غیر معمول مثل تعمیر یا تنظیم تجهیزات، تغییرات شیفت، نوع اتصال یا عدم اتصال تجهیزات آسپتیک، وضعیت و سرعت خطوط و ... می‌باشد (۲). تمامی فرآورده‌های بیولوژیک که به شکل مایع و یا پودر در موسسه رازی تولید و عرضه می‌شوند مرحله پرکنی را دارند و از این رو اعتبارسنجی این فرایند از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. در ادامه جزییات و الزامات عملیات مدیافیل که در موسسه رازی اجرا می‌شوند، شرح داده می‌شود.

آماده‌سازی محیط کشت

به طور کلی محیط کشت مورد استفاده در عملیات مدیافیل باید انتخاب‌پذیری کمی داشته باشد تا قادر به حمایت از طیف وسیعی از میکروارگانیزم‌ها که ممکن است با آن مواجه شود، باشد. همچنین برای اینکه کدورت احتمالی به راحتی قابل مشاهده باشد، باید محیط کشت شفاف باشد. معمولاً محیط کشت در غلظت‌های پیشنهاد شده توسط سازنده ساخته می‌شود. اگر در فرایند تولید، فیلتر استفاده شود، محیط باید قابلیت فیلتر شدن (همان‌طور که در تولید استفاده می‌شود) را داشته باشد. معمولی‌ترین محیط رشد مورد استفاده در عملیات مدیافیل، محیط هضم کازئین سویا ($Soybean$ casein digest medium) است که به صورت تجاری با نام‌های مختلفی مانند تربیتیک سوی برات ($Trypticase$ soy broth) در دسترس است. برای این محیط کشت در فارماکوپه USP (۳) دستورالعملی ذکر شده است. البته سایر دستورالعمل‌ها هم با تغییراتی جزئی قابل قبول هستند. همان‌طور که ذکر شد تربیتیک سوی برات رایج‌ترین محیط کشت مورد



ترین شبیه‌سازی به حالت واقعی است) اما سایر مدل‌های مناسب هم می‌توانند تنظیم گردند. زمان اجرای مدیافیل باید به وسیله زمان لازم برای دستکاری‌ها و مداخلات و همچنین در نظر گرفتن زمان مناسب عملیات فرآیند آسپتیک حقیقی تعیین شود. مداخلاتی که معمولاً اتفاق می‌افتند باید شبیه‌سازی شوند، ولیکن مداخلاتی که به ندرت اتفاق می‌افتند، می‌توانند به صورت دوره‌ای شبیه‌سازی شوند.

هنگامی که خطوط تولید به صورت خودکار است، برای محدود کردن مداخله اپراتور، سرعت نسبتاً بالا طراحی و به کار می‌رود ولی بعضی فرایندها هنوز هم شامل مداخله قابل توجه اپراتور است. زمانی که فرآیند آسپتیک برای فیلینگ بسته‌بندی دستی به کار می‌رود، بهترین مدت زمان شبیه‌سازی نباید کمتر از مدت واقعی فرآیند باشد تا بهترین حالت ریسک آلودگی به وسیله اپراتور شبیه‌سازی گردد. برای عملیات لیوفیلیزاسیون، FDA توصیه می‌کند که ظروف بسته نشده به طور جزئی در معرض خلاء قرار گیرند، که این فرآیند را شبیه‌سازی کند. ویال‌ها نباید منجمد شوند و باید اقدامات احتیاطی انجام شود تا اطمینان حاصل شود که محیط در حالت هوازی باقی می‌ماند تا از مهار بالقوه رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری شود (۴).

شرایط انکوباسیون

ویال‌ها / بطری‌های واحد‌های پر شده با محیط کشت پس از بسته‌بندی باید در شرایط مناسب برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها، انکوبه شوند. دمای انکوباسیون باید برای بازیافت و رشد بار میکروبی مناسب باشد. این دما معمولاً در محدوده ۲۰-۳۵ با اختلاف ۲/۵+ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. زمان انکوباسیون نباید کمتر از ۱۴ روز باشد. اگر از دو درجه حرارت برای انکوباسیون واحد‌های پر شده با محیط استفاده می‌شود، واحد‌ها باید حداقل به مدت ۷ روز در هر دما (شروع از دمای پایین تر) انکوبه شوند. معمولاً انکوباسیون ۷ روز در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و بلافاصله پس از آن ۷ روز دیگر در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گردد (۷). برنامه‌های انکوباسیون دیگر باید بر اساس داده‌های اعتبارسنجی تعیین شوند. قبل از انکوباسیون ظروف پر شده با محیط کشت میکروبی باید معکوس گردند و یا به صورت دستی سروته شوند تا اطمینان حاصل شود تمام سطوح از جمله سطوح داخلی درپوش بسته‌بندی به طور کامل با محیط کشت مرطوب شده است. ظروف نباید به طور کامل با محیط کشت پر شوند تا اکسیژن کافی برای رشد میکروارگانیسم‌های هوازی موجود باشد.

برای پر کردن ظرف‌های کوچک استفاده می‌کنند، اما برای ظرف‌های بزرگ‌تر، حجم کامل پر نمی‌شود و در عوض سرعت پر کردن به گونه‌ای تنظیم می‌شود که ظروف زیر نازل پرکننده‌ها برای همان زمانی که در پر کردن معمولی هستند باز بماند (۷)، که راه حل مناسبی برای کاهش مصرف حجم زیاد محیط کشت می‌باشد.

تعداد اجراها

تعداد اجرای شبیه‌سازی یا به عبارتی تعداد واحد پر شده (ویال، بطری، آمپول و یا ...) باید به اندازه‌ای باشد که شرایط تولید تجاری را کاملاً تقلید کند و ارزیابی دقیقی از پتانسیل آلودگی بچ داشته باشد. تعداد واحد‌های پر شده در طول شبیه‌سازی فرآیند باید براساس خطر آلودگی برای فرآیند مد نظر باشد. بر طبق مرجع PIC/S (۸) اگر بچ سائز کمتر از ۳۰۰۰ واحد تولید باشد، حداقل تعداد ظروف مورد استفاده برای شبیه‌سازی فرآیند باید برابر با تعداد بچ تجاری باشد. در حالی که بعضی منابع (۴) نقطه شروع را در محدوده ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ واحد دانسته‌اند و اگر بچ سائز کمتر از ۵۰۰۰ واحد باشد، عملیات مدیافیل حداقل به اندازه بچ سائز تجاری شبیه‌سازی می‌گردد.

به طور کلی نتایج ارزیابی ریسک یا خطر در این مورد بسیار مهم می‌باشند و هنگامی که احتمال آلودگی در بخشی از فرآیند بیشتر است، تعداد اجراها معمولاً برابر یا نزدیک با تعداد بچ تولیدی باید باشد و در مقابل اگر فرآیند می‌تواند در یک ایزولاتور که خطر آلودگی کمی به دلیل عدم مداخله مستقیم انسان دارد، صورت گیرد، تعداد اجراها با تعداد کمتری واحد نسبت به عملکرد کلی، شبیه‌سازی می‌شود (۹). گاهی تعداد زیادی واحد در چندین شیفت کاری پر می‌شود، این عوامل باید در هنگام طراحی شبیه‌سازی به دقت ارزیابی شوند تا شرایط هر گونه خطر بالقوه آلودگی را در بر گیرد.

سرعت خط

عملیات مدیافیل باید در محدوده سرعتی که در خط تولید به کار برده می‌شود، اجرا گردد. باید سرعت هر خط ارزیابی گردد و سرعت انتخابی توجه شود. مثلاً استفاده از سرعت بالا اغلب در ارزیابی فرآیندهای تولیدی که با مداخلات مکرر یا دستکاری‌های زیاد همراه است، مناسب‌تر است. استفاده از سرعت پایین خط معمولاً برای ارزیابی فرآیندهای تولیدی که به مدت طولانی در معرض تولید استریل و یا بسته‌بندی در محیط آسپتیک هستند، استفاده می‌شود (۴).

مدت زمان اجراها

مدت زمان عملکرد فرآیند آسپتیک، در طراحی مدیافیل بسیار مورد توجه است. اگرچه دقیق‌ترین مدل شبیه‌سازی می‌تواند یک دوره و سائز بچ کامل باشد (زیرا نزدیک



تصویر شماره ۱- مقایسه کدورت در ویال آلوده (سمت راست) و غیر آلوده (سمت چپ) (۴).

شبهه‌سازی فرآیند با شکست مواجه شود، باید محصولات پر شده بین آخرین عملیات موفق و عملیاتی که با شکست مواجه شده است، در نظر گرفته شوند. باید بچ‌هایی که می‌توانند در طول این دوره زمانی تحت تاثیر قرار گرفته باشند شناسایی، و وضعیت تحت تاثیر قرار گرفتن آنها ارزیابی گردد. نهایتاً تهیه گزارش انحراف در عملیات شبهه‌سازی برای ردیابی منابع آلودگی و برای ارزیابی نتیجه‌ای منطقی، بسیار مهم است.

تناوب و تکرار اجراها

موفق تکرار گردد. پس از سه نتیجه موفق پی‌درپی این عملیات هر شش ماه تکرار می‌گردد تا آسپتیک بودن مسیر ارزیابی گردد. کلیه پرسنلی که در حین تولید مجاز به ورود به اتاق آسپتیک هستند، از جمله تکنسین‌ها و پرسنل تعمیر و نگهداری، باید حداقل سالی یک بار در عملیات مدیافیل شرکت کنند. این مشارکت باید مطابق وظایف هر اپراتور در طول تولید معمول باشد. در صورتی که نتایج مدیافیل نشان دهد که فرایند ممکن است کنترل نشده باشد، باید برای تعیین علت آلودگی، بررسی انجام گردد. هنگامی که اصلاحات انجام شد، برای اثبات این که نواقص برطرف شده‌اند و فرایند به حالت کنترل برگشته است، باید اجرای شبهه‌سازی فرایند، مجدداً صورت گیرد. همانند اعتبارسنجی سایر فرایندها، هر تغییر در محصول یا خط تولید باید با استفاده از سیستم کنترل تغییرات ارزیابی شود، و در صورتی که پتانسیل تحت تاثیر قرار دادن استریلیتی محصول را داشته باشد،

قرائت آزمایش

پس از طی زمان انکوباسیون کلیه واحدهای پر شده به صورت تک‌تک به وسیله پرسنل آموزش دیده و باتجربه، جهت تشخیص آلودگی یا عدم آلودگی بررسی می‌شوند. برای بررسی صحیح واحدهای پر شده، باید با واحدی که به عنوان استریل شناخته شده است، مقایسه شوند. برخی میکروب‌ها رشد را به صورت تیرگی ضعیف که تشخیص آنها دشوار است نشان می‌دهند، که در این حالت مقایسه با ظرف یا واحد کنترلی می‌تواند به این تشخیص کمک نماید (تصویر شماره ۱) (۴). پرسنل باید برای این کار آموزش داده شوند. نماینده کنترل کیفی در تولید باید در سرتاسر هر بررسی نظارت داشته باشد و تمام واحدهایی که مشکوک شناخته شده‌اند باید توسط میکروبیولوژیست‌ها بررسی و شناسایی شوند. برای سهولت در تشخیص چشمی رشد میکروبی، توصیه می‌شود از ویال یا بطری یا ظروف روشن استفاده گردد.

تفسیر داده‌ها

پس از پایان دوره انکوباسیون، واحدها یا ظروف پر شده با محیط‌کشت برای بررسی رشد میکروبی به صورت چشمی تک‌تک بررسی می‌شوند. ظروف آلوده شده باید جهت اثبات عدم آسیب درب ظرف یا درپوش آن بررسی شوند. در صورتی که ظرف آلوده، شکسته یا دارای نقص باشد این ظرف در بررسی نتایج در نظر گرفته نمی‌شود. تفسیر نتایج تعداد ظروف آلوده بستگی به تعداد اجرا یا تعداد واحد پر شده دارد: هنگامی که کمتر از ۵۰۰۰ واحد فیلینگ شده باشد یا به عبارتی کمتر از ۵۰۰۰ ظرف با محیط‌کشت پر شده باشد، هیچ آلودگی نباید مشاهده گردد یعنی در هیچ کدام از ۵۰۰۰ ظرف پر شده نباید آلودگی رشد کرده باشد. در صورتی که تعداد فیلینگ بین ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ واحد باشد، اگر یک مورد آلوده باشد همان یک دفعه از سه تکرار شبهه‌سازی تکرار می‌گردد و در ضمن علت آلودگی بررسی می‌شود. اگر دو مورد آلودگی مشاهده گردد اعتبارسنجی مجدد انجام می‌گیرد و در ضمن علت آلودگی هم بررسی می‌گردد. زمانی که فیلینگ بیش از ۱۰۰۰۰ واحد باشد، اگر یک مورد آلودگی مشاهده گردد فقط علت بررسی می‌گردد. اگر دو مورد آلودگی مشاهده شود اعتبارسنجی مجدد انجام می‌شود و علت آلودگی هم بررسی می‌شود (۸). در صورتی که نتایج مناسب فوق حاصل گردد اجرای مدیافیل موفقیت‌آمیز گزارش می‌گردد. عملیات اعتبارسنجی فرایند فیلینگ، در صورتی که سه اجرا پی‌درپی مدیافیل موفقیت‌آمیز باشد، معتبر اعلام می‌گردد. در صورت مشاهده آلودگی باید حداقل جنس و ترجیحاً گونه میکروارگانیسم رشد کرده شناسایی شود. این موضوع به شناخت علل و منبع ایجاد آلودگی کمک می‌کند. اگر مدیافیل یا عملیات



هستند. بنابراین در عملیات شبیه‌سازی، باید مداخلات مختلف که در طول اجرای تولید طبیعی اتفاق می‌افتند، را در نظر داشت، مانند اصلاح یا تعویض سوزن‌ها، لوله‌ها، تعویض فیلترهای خط، نمونه‌برداری میکروبی توسط پرسنل، ابزار نمونه‌برداری، مدت زمان توقف در خط، پرکردن و یا دست‌کاری سرپوش‌ها و... در مورد نحوه اجرا مداخلات در عملیات مدیافیل، می‌توان کلیه مداخلات ممکن و بدترین حالت‌ها را که ممکن است شامل چندین حالت نامطلوب که در طول فرآیند معمول اتفاق می‌افتند را شامل باشد، در نظر گرفت اما بهتر است یک رویکرد مبتنی بر ریسک برای ارزیابی مداخلات و تصمیم‌گیری در مورد نحوه گنجاندن مداخلات در شبیه‌سازی‌های فرآیند آسپتیک و مدیافیل استفاده شود. ارزیابی ریسک می‌تواند به افرادی که در طراحی مطالعه مشارکت دارند کمک کند تا در مورد مواردی مانند انتخاب مداخله در عملیات مدیافیل، خطر نسبی یک مداخله، زمان و تناوب اجرا مداخله، مراحل مورد نیاز برای کاهش یا رسیدگی به خطر ناشی از مداخله، تصمیم بگیرند (۲).

توصیه ترویجی

تولیدکنندگان محصولات آسپتیک باید معتبر بودن فرایند فیلینگ و بسته‌بندی را در قالب سند اثبات و گزارش نمایند. بنابراین تولیدکنندگان واکسن، دارو، سرم و... در راستای اجرای قوانین روش‌های بهینه تولید (GMP) ملزم به اعتبارسنجی فرایند فیلینگ و اجرای عملیات مدیافیل می‌باشند زیرا در فرآیندهای آسپتیک، نمی‌توان تنها از طریق کنترل محصول نهایی، از استریل بودن مطمئن شد و اعتبارسنجی فرآیند با اجرا عملیات مدیافیل تنها راه اثبات ایمنی محصول است. کلیات نحوه اجرای عملیات مدیافیل در مراجعی مانند ISO ۱۳۴۰۸، PICS, WHO, ... بیان شده است اما جزییات آن برای هر تولیدکننده‌ای بسته به موضوعاتی مانند بچ‌سایز محصول، خودکار یا دستی بودن سیستم‌ها، نوع ظرف، حجم محصول در ظرف و خطرهای ویژه هر فرایند، متفاوت است. پیشنهاد می‌گردد تولیدکنندگان و نمایندگان تضمین کیفیت قبل از اجرای این عملیات مقدمات آن مانند پایش محیط و پرسنل، مداخلات، احراز صلاحیت دستگاه‌ها و هواسازها، آموزش پرسنل، مدت زمان اجرا عملیات، مخاطرات فرایند و... را در نظر گرفته و نهایتاً عملیات را با بیشترین تشابه به شرایط واقعی تولید طراحی نمایند. عملیات مدیافیل باید حداقل دو بار در سال اجرا گردد و ممکن است در صورت هرگونه تغییر در تجهیزات، سیستم یا تجهیزات بسته‌بندی ظروف، براساس فرآیند

منجر به اعتبارسنجی مجدد فرایند آسپتیک می‌گردد. مثلاً تغییرات در تجهیزات یا تسهیلات، تغییرات وضعیت خط، تغییرات قابل توجه در پرسنل، غیر متعارف بودن نتایج تست محیطی، تغییرات سیستم بسته‌بندی ظروف، خاموش شدن ناگهانی دستگاه و یا تست استریلیتی محصول نهایی که آلودگی محصول را نشان می‌دهد؛ ممکن است باعث اعتبارسنجی مجدد سیستم شوند.

پایش محیط و پرسنل

پرسنل می‌توانند به طور قابل توجهی بر کیفیت محیطی که محصول استریل در آن پردازش می‌شود تأثیر بگذارند. بنابراین باید یک برنامه نظارتی در این مورد وجود داشته باشد. این برنامه باید شامل به دست آوردن نمونه‌های سطحی از دستکش‌های هر اپراتور باشد. نمونه‌برداری باید با فرکانس مناسب برای هر مکان خاص همراه باشد (۱۰) و برای کارکنانی که درگیری و دست‌کاری آنها با محصول آسپتیک بیشتر است، سخت‌گیرانه‌تر اجرا گردد. همچنین پایش محیطی از لحاظ سنجش تعداد ذرات موجود در محیط و نیز پایش میکروبی باید در زمان‌های تعریف شده انجام شوند. نقاطی که بحرانی‌تر می‌باشند (مانند مکان‌هایی که در آنها بیشترین فعالیت اپراتور وجود دارد) به عنوان بدترین نقاط انتخاب می‌شوند. برای محیط فیلینگ، شمارش باید از مجاور ناحیه فیلینگ و جایی که در آن اجزا در حالتی باشند که فعالیت پرسنل با این اجزا را نشان دهند، انجام شود. شمارش ذرات قبل از اجرای عملیات شبیه‌سازی اطلاعات مفیدی در مورد وضعیت محیط ارایه می‌دهد. ممکن است در طول عملیات شبیه‌سازی نیز شمارش ذرات دوباره تکرار شود. پایش میکروبی باید در داخل و اطراف سطوحی که اپراتورها فعالیت بیشتری دارند انجام شود. البته پلتهای می‌توانند در مکان‌هایی دور از این‌گونه مکان‌ها هم قرار گیرند (به‌طور مثال در مکان‌هایی مثل پشت ماشین بسته‌بندی که عدم فعالیت یا فعالیت کم اپراتورها را داریم). این مساله در مورد نمونه‌برداری هوا هم مشابه می‌باشد.

پایش مداخلات

مداخلات معمولاً دست‌کاری یا فعالیت‌های انسانی هستند که در طول فرآیند آسپتیک در مجاورت سطوح استریل یا در تماس با محصول رخ می‌دهند و به این ترتیب ممکن است خطری برای کیفیت محصول و عملکرد فرآیند آسپتیک ایجاد کنند. مداخلات باید در طراحی و عملکرد مطالعه شبیه‌سازی عملیات مدیافیل گنجانده شود، زیرا آنها بخش مهمی از فرآیند آسپتیک

۵) The United States pharmacopeia. National formulary. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; >۲۰۲۰. ۶۱>; microbiological examination of nonsterile products: microbial Enumeration tests.

۶) Greger G. Basic Requirements for Aseptic Manufacturing of Sterile Medicinal Products a Comparison between Europe and USA (Doctoral dissertation, master's thesis, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn, Germany).

۷) Sandle T, Sterilisation and sterility assurance for pharmaceuticals. Elsevier, Incorporated; ۲۴۳-۲۲۷: ۲۰۱۳. Media simulation trials. DOI: ۹۷۸۱۹۰۸۸۱۸۶۳۸/۲۲۷/۱۰/۱۵۳۳.

۸) Scheme PI. PIC/S Recommendation on the Validation of Aseptic Processes. PI (۲۰۱۱) ۵-۰۰۷).

۹) Uratani B, Friedman RL. The Development of FDA's Guidance on Aseptic Processing. Pharmaceutical Technology North America. ۲۰۰۳: ۸.

۱۰) Levchuk JW, Lord AG. Personnel issues in aseptic processing. Biopharm. ۱۹۸۹ Sep ۴۰-۸۹: ۳۴.

کنترل تغییرات مربوطه، یک مطالعه مديافیل تکرار گردد. نتایج حاصل از مديافیل باید به صورت مستند ثبت گردد و در پروتکل‌های اعتبارسنجی یا سایر اسناد مانند پرونده جامع دارویی قابل ردگیری باشد. در صورت مشاهده آلودگی باید عدم انطباق ثبت گردد و علل رخداد آن بررسی، پیگیری و اصلاح شود.

فهرست منابع

۱) Kaghazian H, Doroud D, Overview of the validation procedures for a vaccine production: from R&D level to the pre-qualification stage, Vaccine Research ۴۴-۳۸ (۱) ۲۰۱۵.

۲) Baseman HS, Aseptic Process Validation: Aseptic Process Simulation Design. In Principles of Parenteral Solution Validation, Academic Press ۲۰۲۰ Jan ۵۹-۳۳; ۱.

۳) The United States pharmacopeia. National formulary. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; >۲۰۲۰. ۷۱>; Sterility test.

۴) Maddirala TS, Kumar SH, Shailesh T, Gowrav MP. Designing and quality aspects of aseptic process simulation. International Journal of Applied Pharmaceutics Vol. ۱۲. Issue ۲۳-۱۷: ۲۰۲۰. ۴.

