



MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA LÉČIV PŘÍKLADY Z PRAXE

Ing. Ivana Kohoutová

Mikrobiologická kvalita léčiv – proč se sleduje

- Znehodnocení léčivého produktu (neúčinnost, toxicita)
- Nebezpečí infekce nebo jiné reakce u pacienta (otok, teplota, anafylaktický šok), zdroj endotoxinu (viz pyrogeny)

👁 **Infekce** – průnik mikroorganismu (viru, bakterie, houby, případně parazita) do těla jeho hostitele a nepříznivé působení na něj

👁 **Povrchové, orgánové, celkové (sepe)**

👁 **Kolonizace** – normální osídlení bez známek infekce

👁 **Nejohroženější pacienti** – malé děti, staří lidé, ostatní imunokompromitovaní pacienti (po transplantaci, s autoimunitní chorobou – Crohnova nemoc, s cystickou fibrózou, po úrazu, onkologičtí pacienti, diabetici)

👁 **Antibiotická rezistence** – vzrůstající riziko

Zdroje kontaminace ve výrobě:

- Člověk
- Prostředí: voda, částice
- Vstupní suroviny (včetně vody a obalů)
- Biofilmy v technologických zařízeních

 **Mikroorganismy z výrobního prostředí** jsou změněné vlivem nepříznivých životních podmínek, nemusí být kultivovatelné běžnými metodami

Zabránění kontaminaci:

- Režimová opatření (včetně monitoringu prostředí)
- Kontrola surovin
- Sterilizace (pokud je předepsaná a možná), sterilní filtrace, aseptická výroba/příprava

Kritéria přijatelnosti mikrobiologické kvality konečných léčivých produktů

☞ Stanovena **podle cesty podání**

- různé cesty podání, různá rizika, různé patogeny (kdo kde bydlí)

☞ Kritéria lékopisu (články lékových forem, čl. 5.1.4, některé monografie) jsou nepodkročitelná, **ale dostačující?**

☞ Sám výrobce nebo regulátor (SÚKL, EMA, žádající lékař u připravovaných LP) může stanovit přísnější kritéria na základě charakteru LP a jeho výroby (biotechnologická výroba, látka biologického původu, indikace, populace pacientů....)

☞ **Sterilita** je vyžadována u parenterálních a očních produktů, pro kožní, ušní a nosní produkty pokud je narušena kůže nebo sliznice

Kritéria a laboratorní metody kontroly konečných produktů

- 🕒 Lékopisné laboratorní metody jsou založené na růstu (školní jídelna)
- 🕒 Lze používat alternativy, ale je nutno je validovat
- 🕒 Každá metoda má omezení (viry, mykobakterie, mykoplazmata, striktní anaeroby, změněné enviromentální kmeny, vliv matrice léku...)

Kritéria a laboratorní metody kontroly prostředí:

- 🕒 Nejsou v ČL/EP
- 🕒 Kritéria – záležitost GMP a norem
- 🕒 Metody – stěry, otisky, aktivní monitoring vzduchu
- 🕒 Rychlé moderní metody – nutno validovat

Všeobecné zásady

- 👁 Mikrobiologická kvalita je důležitou součástí bezpečnosti a účinnosti LP
- 👁 Zkouška na sterilitu a MB nezávadnost jsou propouštěcí zkoušky
- 👁 Bez ohledu na lékopisná kritéria MK je třeba uvažovat v kontextu s použitím LP
- 👁 Identifikace mikrobů přispívá k odhalení zdroje kontaminace
- 👁 Pro běžné rutinní testování jsou dostačující lékopisné metody, ale pro některé LP a podrobné vyšetřování je vhodné použít i alternativní odůvodněné postupy, je třeba uvažovat v kontextu konkrétní výroby a situace a bez předsudků (tam nic nemůže růst...)
- 👁 Rutinní použití alternativních rychlých moderních metod je třeba podložit validací
- 👁 Dezinfekce, protimikrobní přísady a ATB nezajistí automaticky sterilitu

Příklady z praxe

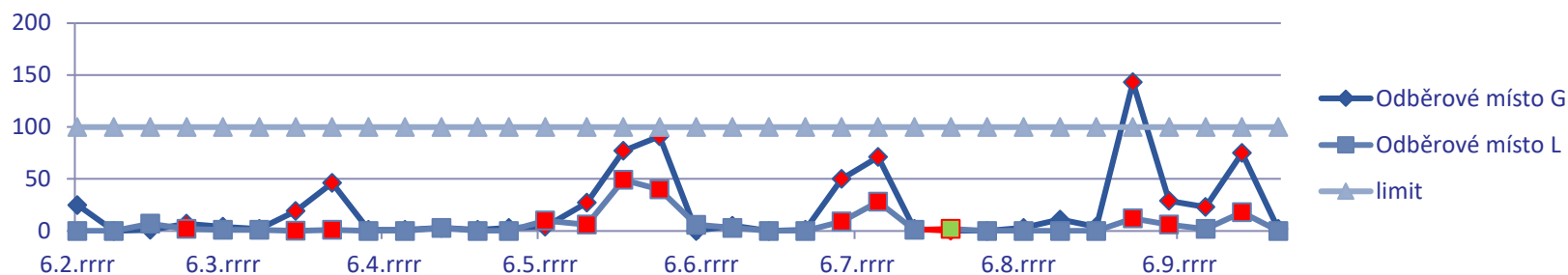
Vzorkování a jeho vliv na výsledky:

Kdy – na začátku, uprostřed a na konci výrobního cyklu šarže, případně při nenadálé situaci nebo diskontinuitě

Kolik – pro sterilitu v tab. 2.6.1-2 a 3 (množství v obalu a počet jednotek z šarže), pro mikrobiologickou nezávadnost kap. 5-2 v článku 2.6.12, pro buněčné LP kap. 3-1-3 v článku 2.6.27

Kde – důležité hlavně u monitoringu prostředí a vody

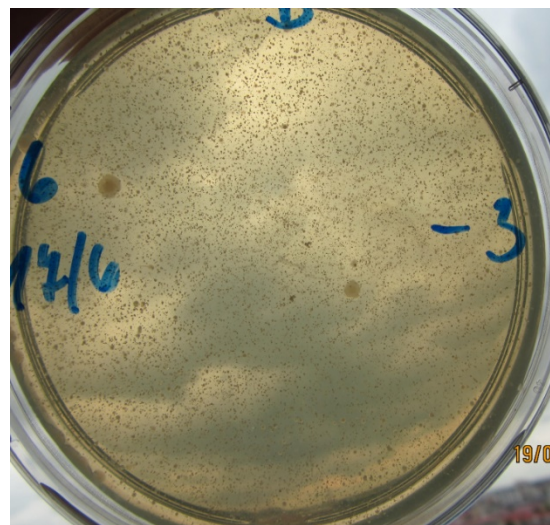
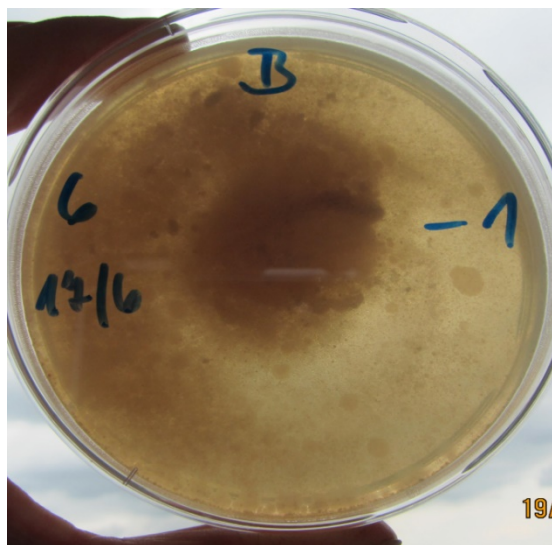
Technika **odběru** provozních **kapalin a plynů** – příklad vlivu na výsledek MB kontrola vody čištěné, stejný filtrovaný objem, 2 různé osoby provádějící odběr a zkoušku:



Příklady z praxe

Rozpustnost

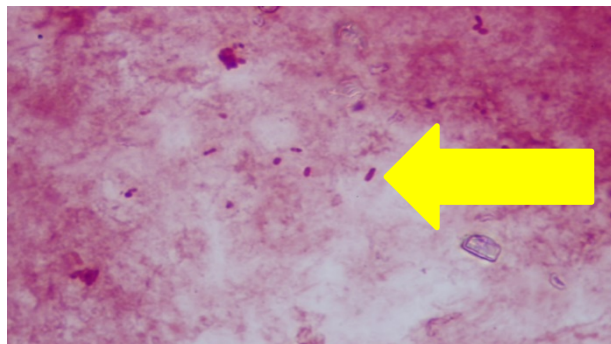
- Lékopis dává přednost při zkoušení technice membránové filtrace před přímou inokulací – odstraní se lépe protimikrobní účinky
- Co když je LP nerozpustný ve vodě?



pozor na vyředění mimo kritéria přijatelnosti!

MO náročné na kultivaci: kazuistika – anaeroby

- LP prášek na injekci, filtrovatelný, ale zkoušený přímou inokulací, sterilní LP vyráběný asepticky bez konečné sterilizace, poslední krok výroby je lyofilizace
- Vzorek od zahraniční autority, aktivní látka původem z místa výroby s nevyhovující SVP (GMP non-compliance, varování EMA, členské státy stahují LP)



- Část vzorků zkoušená MF byla vyhovující → i krátká expozice O₂ zabránila přežití MO
- **Poučení** – pozor na vliv vzorku na kultivační medium, lyofilizace jako poslední krok aseptické výroby je riziková, při možné kontaminaci zkusit vedle validovaných metod i jinou (za současného provedení zkoušky vhodnosti nebo aspoň pozitivní kontroly)

MO náročné na kultivaci: kazuistika – mykobakterie v buněčném LP

- Mykobakterie – netuberkulózní jsou běžné v prostředí, dobře tvoří biofilm, většinou rostou pomalu, ale existují i rychle rostoucí
- Informace z terénu o 1 kultivačně potvrzeném nálezu v buněčném LP, zdroj zřejmě CO₂ v inkubátoru → pozor na kvalitu provozních plynů a kapalin
- V té době u nás vzorek buněčné kultury na sterilitu, nález kultivačně negativní, i když mikroskopicky byla patrná přítomnost tyček → možná také mykobakterie
- Proč nepoužít jako mezioperační nebo předběžnou kontrolu mikroskopii?

 Proč nestačí kultivace média u buněčných LP?

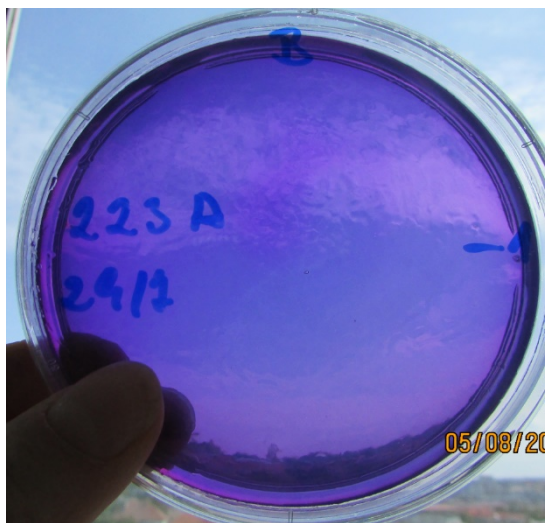


-  MO nerostou jen nad buněčnou kulturou, při separaci odstředěním se samozřejmě usadí dole a nejsou v supernatantu, mohou přímo adherovat na buňky nebo být i uvnitř buněk

☞ MO náročné na kultivaci: kazuistiky – antiseptika

☞ Tam, kde se jednomu nedaří, tak někdo úspěšně žije

☞ Kontaminace Methylrosalini chloridi solutio 0,5% / 0,5% genciána
(*Bulkholderia fungorum*)



- 🕒 **Kontaminace 20% chlorhexidine glukonátu rezistentní bakterií *Serratia marcescens* (Španělsko)**
- 🕒 *Serratia marcescens* je G-tyčka, oportunní patogen, častá nozokomiální infekce
- 🕒 Výrobce zjistil kontaminaci → vyšetřování → stahování → identifikace zdroje → metoda stanovení tohoto kmene jiná než lékopisná → doporučení autority – mechanické odstranění biofilmů ve výrobě, ošetření sterilní filtrací, zkoušení novou validovanou metodou
- 🕒 Většina dotčených šarží vyhověla na TAMC, tento kmen *S. marcescens* byl na rozdíl od sbírkového kmene úspěšně kultivován jen s předkultivací v tekutém TSB na ceftrimidovém agaru nebo MacConkey agaru – **kmeny z výroby mohou mít jiné vlastnosti než kmeny běžné v populaci**

☉ Kontaminace antibiotika multirezistentním kmenem *Enterobacter hormaechei* (Dánsko)

- ☉ *E. hormaechei* je G-tyčka, přirozeně rezistentní k některým ATB
- ☉ Infekce pacientů → vyšetřování → stahování → zjištěna povrchová kontaminace kapslí z výroby u smluvního výrobce
- ☉ Lékopisná metoda kontaminaci nezachytila, dotčené šarže vyhověly TAMC, TYMC i na nepřítomnost *E. coli*
- ☉ Kmen *E. hormaechei* byl vykultivován pouze na krevním agaru



Řešení podobných situací?

- 👁 Má smysl rozšířit zkoušení v rámci lékopisných metod?
- 👁 Spíše ne nebo jen v určitých případech
- 👁 Sledování enviromentálních kmenů, jejich použití ve zkouškách vhodnosti metody
- 👁 Ano rozhodně
- 👁 Dodržování GMP – správná sanitace, monitoring prostředí,
- 👁 Samozřejmě ano



MÁTE ZKUŠENOSTI SE SÚKL?

Podělte se o ně s námi!

SÚKL se jako každá organizace snaží zlepšovat a rozvíjet poskytované služby.

Budeme proto rádi, když nám dáte zpětnou vazbu vyplněním následujícího dotazníku.

DOTAZNÍK SPOKOJENOSTI



Předem děkujeme za spolupráci a za čas věnovaný odpovědím.



Děkujeme za pozornost.

STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV

Šrobárova 48, 100 41 Praha 10

tel.: +420 272 185 111

fax: +420 271 732 377

e-mail: posta@sukl.cz