

اصول فنی استریلیزاسیون



دکتر فرزانه لطفی پور
استاد دانشکده ی داروسازی
تبریز

تعریف

■ **استریل** به معنای عدم وجود هر شکل قابل زیست (viable) می باشد.

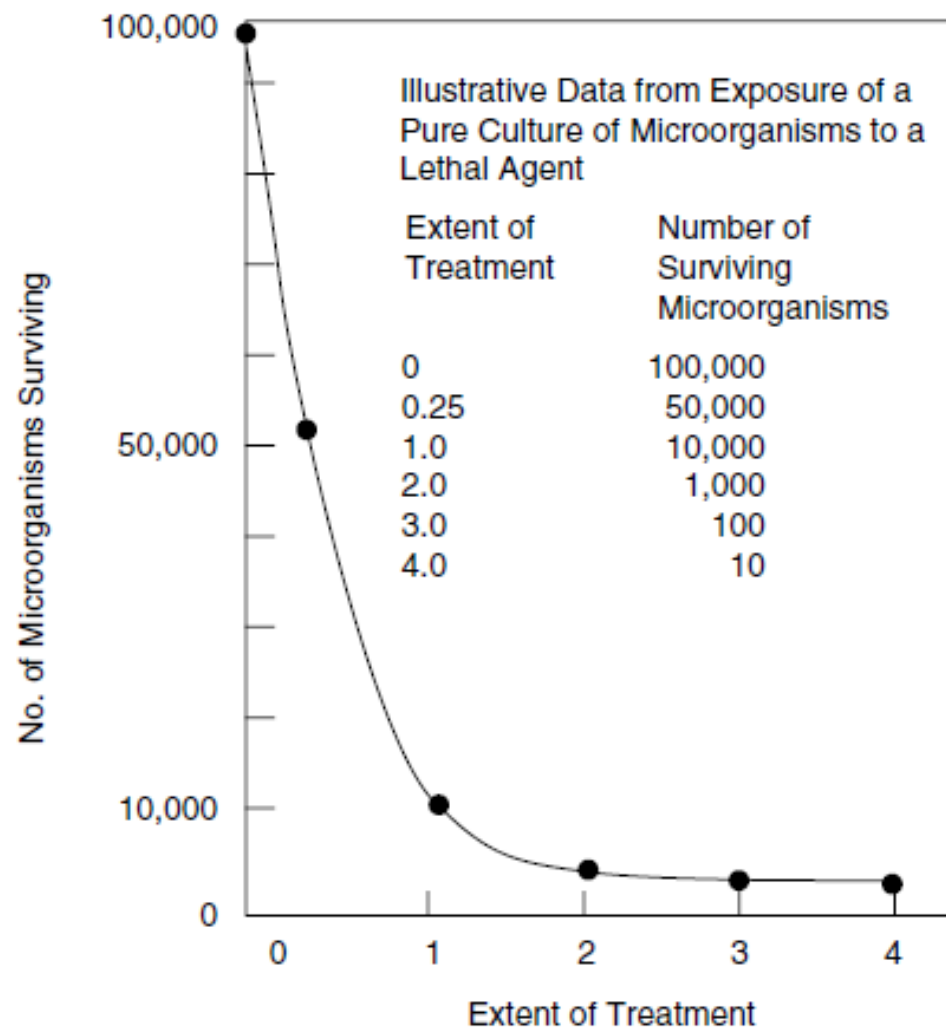
■ استریلیته یک واژه ی مطلق بوده و مفاهیمی مانند درجه ی استریلیزاسیون فاقد ارزش است.

چه ایتمی هایی باید استریل باشند؟

- هر ایتمی که قرار است از سد دفاع طبیعی بدن عبور نماید:
- فراورده های تزریقی
- مایعات شستشوی استریل غیر تزریقی
- فراورده های چشمی
- پانسمان ها
- ایمپلنت ها
- هموستاز ها
- نخ های بخیه و باند
- وسایل جراحی سرنگ ها، ابزار های فلزی، قطعات تنفسی، دستگاه های پزشکی، آندوسکوپ ها

مشکل عملی تعریف مطلق

- عدم امکان تشخیص همه ی میکرو ارگانیسم ها
 - محیط کشت ساپورتیو برای همه میکرو ارگانیسم ها وجود ندارد.
 - میکرو ارگانیسم های آسیب دیده ممکن است با روش های موجود رشد نکنند.
- مرگ میکروب ها در برابر عامل کشنده با کینتیک درجه ی اول (لگاریتمی)
 - تعداد در بی نهایت به صفر می رسد و هرگز در زمان واقعی به صفر نمی رسد.



اصطلاح عملی: سطح تضمین استریلیتی Sterility Assurance Level (SAL)

- در عمل استریلیتی به صورت احتمال ریاضی الوده باقی ماندن یک ایتم بعد از پروسه ی استریلیزاسیون تعریف می شود.
- ایتمی استریل تعریف می شود که احتمال حضور و زنده ماندن یک میکرو ارگانیسم در آن ایتم به 10^{-6} برسد.

Sterility assurance level

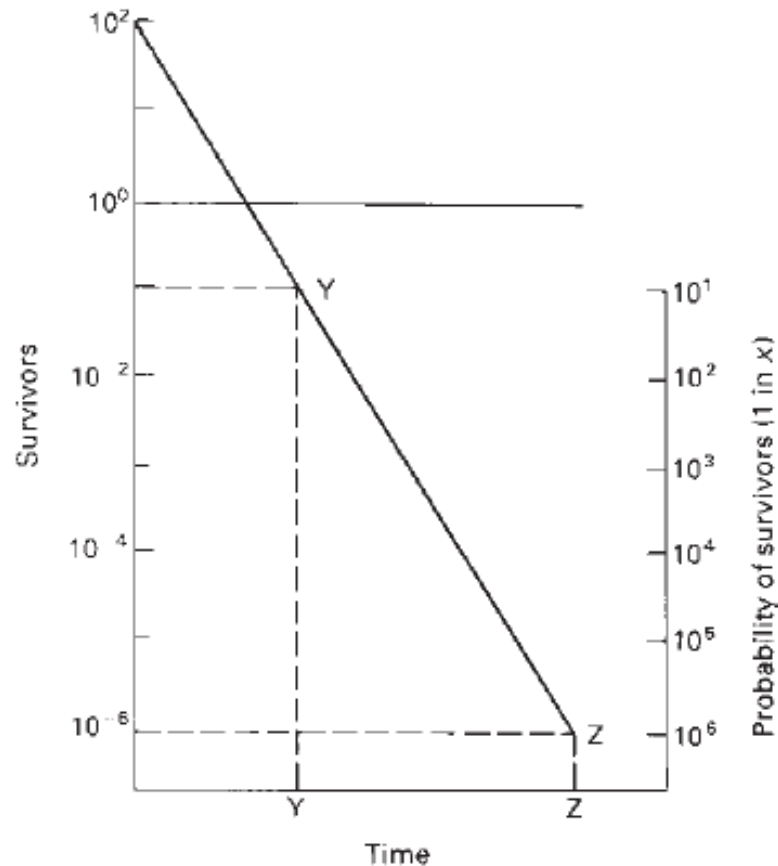


Fig. 20.3 Sterility assurance. At Y, there is (literally) 10^{-1} bacterium in one bottle, i.e. in 10 loads of single containers, there would be one chance in 10 that one load would be positive. Likewise, at Z, there is (literally) 10^{-6} bacterium in one bottle, i.e. in 1 million (10^6) loads of single containers, there is one chance in 1 million that one load would be positive.

عوامل موثر در رسیدن به SAL در پروسه ی استریلیزاسیون

- تعداد و نوع میکرو ارگانیسم
- قدرت میکروب کشی پروسه

حساسیت میکروارگانیسم ها

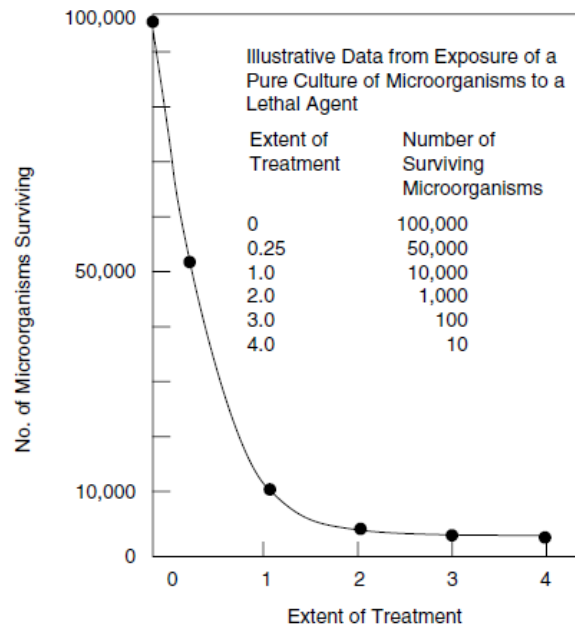
Types of organisms		Level
Resistant ↓ Susceptible	Prions (e.g., Creutzfeldt-Jakob Disease)	- Sodium Hydroxide soap for one hour - 18 min prevacuum steam sterilization (134-137C)
	Bacterial spores (e.g. Clostridium tetani, Clostridium difficile)	Sterilization
	Coccidia (Cryptosporidium)	
	Some spores generated by spore forming bacteria	High Disinfection
	Mycobacterium tuberculosis	Intermediate Disinfection
	Nonlipid or small viruses (polio, coxsackie)	
	Fungi (e.g., Aspergillus, Candida)	Low Disinfection
	Vegetative bacteria (S. aureus, P. aeruginosa)	
	Lipid viruses (HIV, HBV, HCV, herpes, myxoviruses)	

Worse case condition

TABLE 12.4
Bioindicators for Sterilization Procedures

Procedure	Species	Strain	Proposed by
Steam	<i>Bacillus</i> <i>stearothermophilus</i>	ATCC 7953 ATCC 12980 NCTC 10007, NCIMB 8157, CIP 52.81	USP 2004, EP 2006 USP 2004 EP 2006
Dry heat	<i>B. subtilis</i> var. <i>niger</i>	ATCC 9372 NCIMB 8058, CIP 77.18	USP 2004, EP 2006 EP 2006
Gas (EO)	<i>B. subtilis</i> var. <i>niger</i>	ATCC 9372	USP 2004, EP 2006
Radiation	<i>B. pumilus</i>	ATCC 27.124, NCTC 10327, NCIMB 10692, CIP 77.52	EP 2006
Membrane filtration	<i>Pseudomonas diminuta</i>	ATCC 19146 NCIMB 11091, CIP 103020	USP 2004, EP 2006 EP 2006

ضریب میکروب کشی (k)

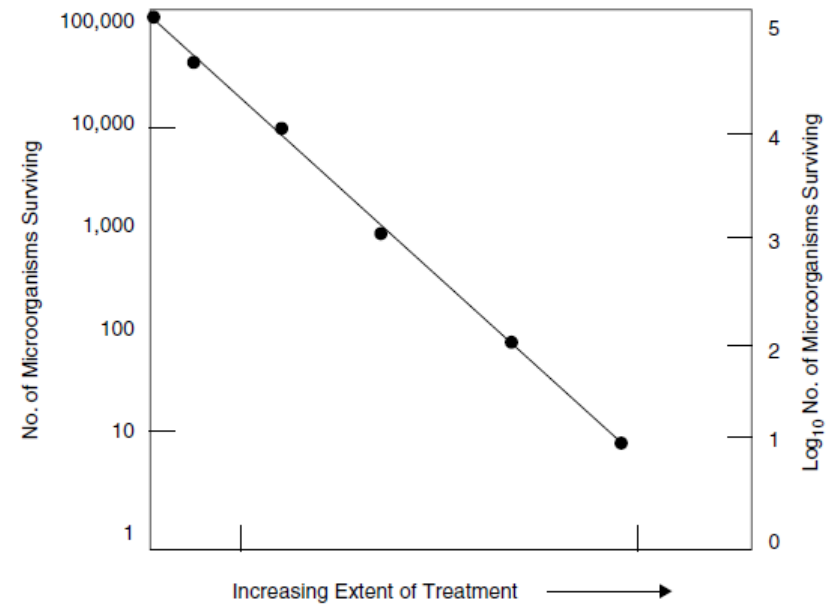


$$N_t = N_0 e^{-kt}$$

N_t : the number of surviving organisms

t : time

N_0 : the number of organisms at time zero



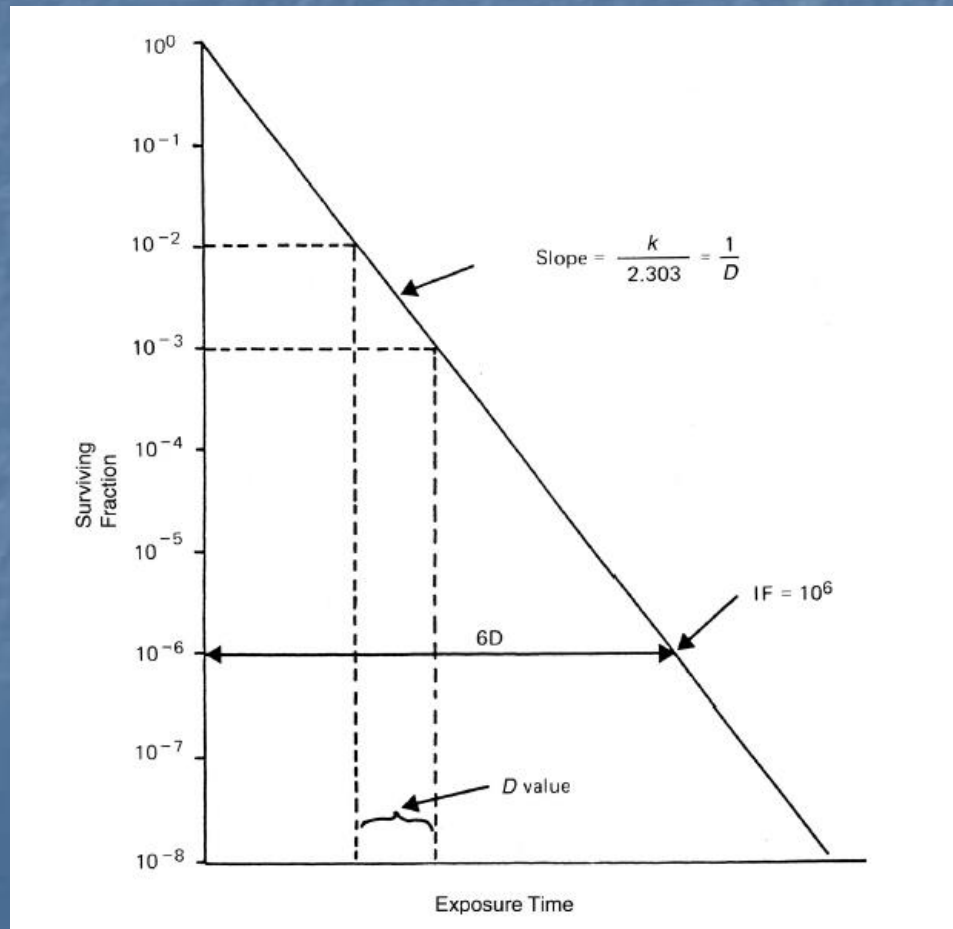
Expressions of resistance

D-value

The exposure time required for the number of survivors to change by a factor of 10

$$D = \frac{t}{\log N_0 - \log N_t}$$

$$D = \frac{2.303}{k}$$



فاكتور غير فعال سازى

- The reduction in the number of viable organisms brought about by the process.

$$IF = 10^{t/D}$$

ارزش F

- مقیاسی از کشندگی کل یک فرآیند سترون سازی حرارتی یک میکروارگانیزم خاص است و برای مقایسه کشندگی فرآیندهای سترون سازی حرارتی مختلف استفاده می شود.
- Expresses heat treatment at any temperature as equal to that of a certain number of minutes at 121°C.

استریلیزاسیون:

پروسه ایی که با آن به حالت استریل در یک
ایتم می رسد:

انتخاب روش استریلیزاسیون

- عوامل استریل کننده باعث آسیب برگشت ناپذیر به میکروب ها می شوند همچنین می توانند اثرات مخربی روی ایتیم استریل شونده ایجاد کنند.
- عامل استریل کننده نبایستی در کارایی، کیفیت و بی خطری دارو و همچنین عملکرد وسیله ی پزشکی اختلال ایجاد کند.
- بنابراین باید از روشی استفاده نمود که بدون آسیب رساندن به محصول به SAL مورد نظر رسید.

اصول کلیدی در انتخاب روش استریلیزاسیون

- استریلیزاسیون نهایی در ظرف نهایی فرآورده بر پروسه ی اسپتیک ارجح است.

- روش استریلیزاسیونی که در آن متغیرهای پروسه به طور مستقیم قابل اندازه گیری است ارجح است.

Moist or dry heat, Irradiation, Gaseous sterilants, and liquid sterilants.

- روش با کمترین خطرات برای اپراتور و باقیمانده ارجح است.

- روش هایی منطبق بر قوانین مصوب ارجح است.

انواع روش های استریلیزاسیون

- **روند تخریبی:** که شامل استفاده از عوامل فیزیکی یا شیمیایی با زمان مشخص برای انهدام میکروب هاست:
elevated temperature, ionizing radiation,
or chemicals either as a gas, or a liquid.
- **حذف فیزیکی:** Filtration
- Prevent recontamination

Table 17.2 Sterilization technologies (for pharmaceutical preparations and medical devices)

Type	Principle	Examples
Terminal sterilization		
Physical	Heat	Steam Dry heat
	Radiation	γ -radiation Accelerated electrons (particle radiation)
Chemical	Gaseous	Ethylene oxide Low-temperature steam formaldehyde Gas plasma
	Liquid	Glutaraldehyde, <i>o</i> -phthalaldehyde, formaldehyde, peracetic acid, hydrogen peroxide
Nonterminal sterilization		
Filtration	Aseptic procedure	

سترون سازی حرارتی

Heat sterilization

- از زمان های قدیم حرارت به عنوان عامل پاک کننده به کار گرفته شده و در حال حاضر در سراسر جهان در سترون سازی استفاده می شود.
- محدوده دمایی:
- اسپورهای باکتریایی در مقابل فرم های رویشی و ویروس

مکانیسم و اهداف متعدد

- آسیب به غشاء خارجی (باکتری های گرم منفی)، غشای سیتوپلاسمی، تجزیه RNA و انعقاد، آسیب به DNA و انعقاد پروتئین ها
- برای سلول های هیدراته شده (سترون سازی با بخار)، احتمال دارد واکنش های مرگ و میر شیمیایی در حضور آب، سریعتر رخ دهد.
- در حالت خشک کشته شدن سلول ها احتمالاً در نتیجه فرآیند اکسیداسیون باشد.

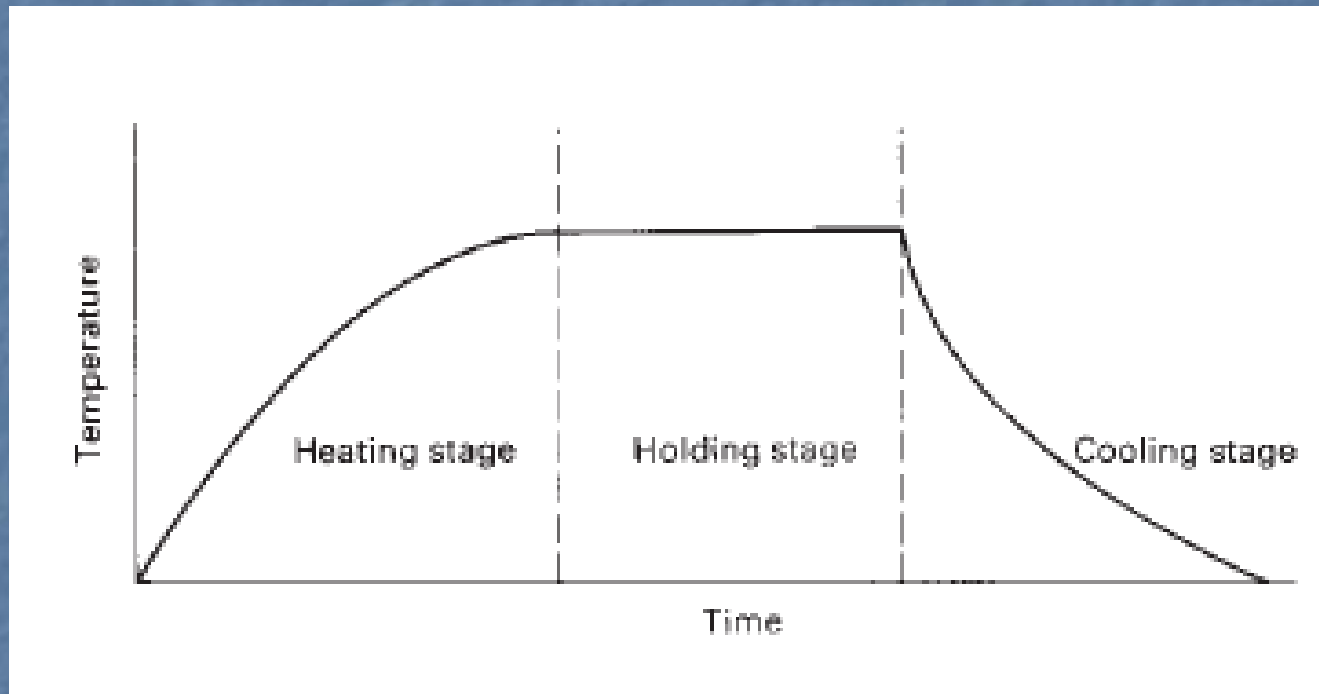
Mechanism

- **Death** is probably due to an accumulation of irreparable damage to all metabolic functions through the action of **water or oxygen**.
- In high humidity: **Denaturation** and **hydrolysis reactions predominant (121-134°C)**.
- In dry state: Oxidative processes **(160-180°C)**.
- Heat-induced microbial inactivation follow **first-order kinetics** and result in linear survivor curves when the logarithm of the fraction of surviving organisms is plotted against exposure time.

فرایندهای سترون سازی حرارتی در سه مرحله اتفاق می افتد:

- مرحله گرم شدن که در آن درجه حرارت در داخل محفظه سترون کننده به سطح مناسب می رسد.
- مرحله نگهداری - زمانی که درجه حرارت مطلوب به دست آمد، زمان نگهداری برای مدت مورد نیاز حفظ می شود (به عنوان مثال ۱۵ دقیقه در 121°C)
- مرحله خنک کننده، درجه حرارت محفظه قبل از خروج ماده / محصول به طور سالم از آن پایین می آید.

Temperature profile of a heat sterilization process

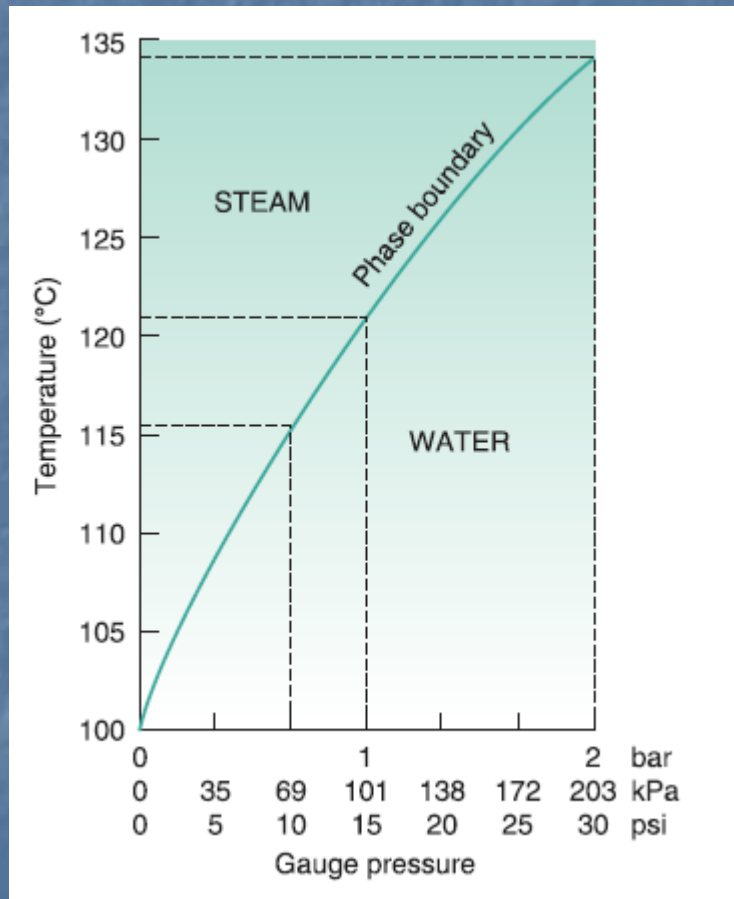


اصول سترون سازی با بخار

■ استریلیزاسیون بخار قابل اطمینان و رایج‌ترین روش استریلیزاسیون بلا کاربردهای متنوع است.

■ استریلیزاسیون با بخار متکی بر ترکیبی از بخار، دما و فشار است. بخار برای رساندن گرما به محصولی که قرار است سترون شود، استفاده می‌شود.

- بخار در فاز مرزی بین خود و میعان یافته ی خود، همان دمای آب جوش را دارد، اما حرارت نهفته ی بیشتری را نگه می دارد.



اجتناب از هوا در استریلیزاسیون با بخار

- بخار تنها در صورتیکه تماس مستقیم برقرار شود می‌تواند میکروارگانیسم‌ها را از بین ببرد، بنابراین اجتناب از هوا در استریلیزاسیون در طول فرآیند بسیار مهم است. علاوه بر این، هوا می‌تواند فشار نسبی را کاهش دهد لذا دمای ایجاد شده در سطح کمتر از دمای مورد انتظار در آن فشار خواهد بود، از این رو، حذف هوا برای اطمینان از استریلیزاسیون، یک بخش ضروری است.

حذف هوای موجود یک اتوکلاو

■ برای حذف هوای موجود، زمانی که یک اتوکلاو بارگذاری می‌شود، اتوکلاوها به یک سیستم جابجایی / حذف هوا مجهز می‌شوند (به عنوان مثال اتوکلاوهای تحت خلاء و جابجایی).

■ برای بارهای متخلخل، سیستم‌های جابجایی گرانشی (اتوکلاو های جابجایی پایین) کافی نیستند و روش انتخابی آنها اتوکلاوهای تحت خلاء و پالس فشاری هستند

انواع اتوکلاو ها

- آزمایشگاهی یا بزرگ: منبع بخار
- bottle fluid or porous load
- aqueous preparations
- surgical materials

مثال هایی از ترکیب دما و فشار استفاده شده برای استریلیزاسیون با بخار

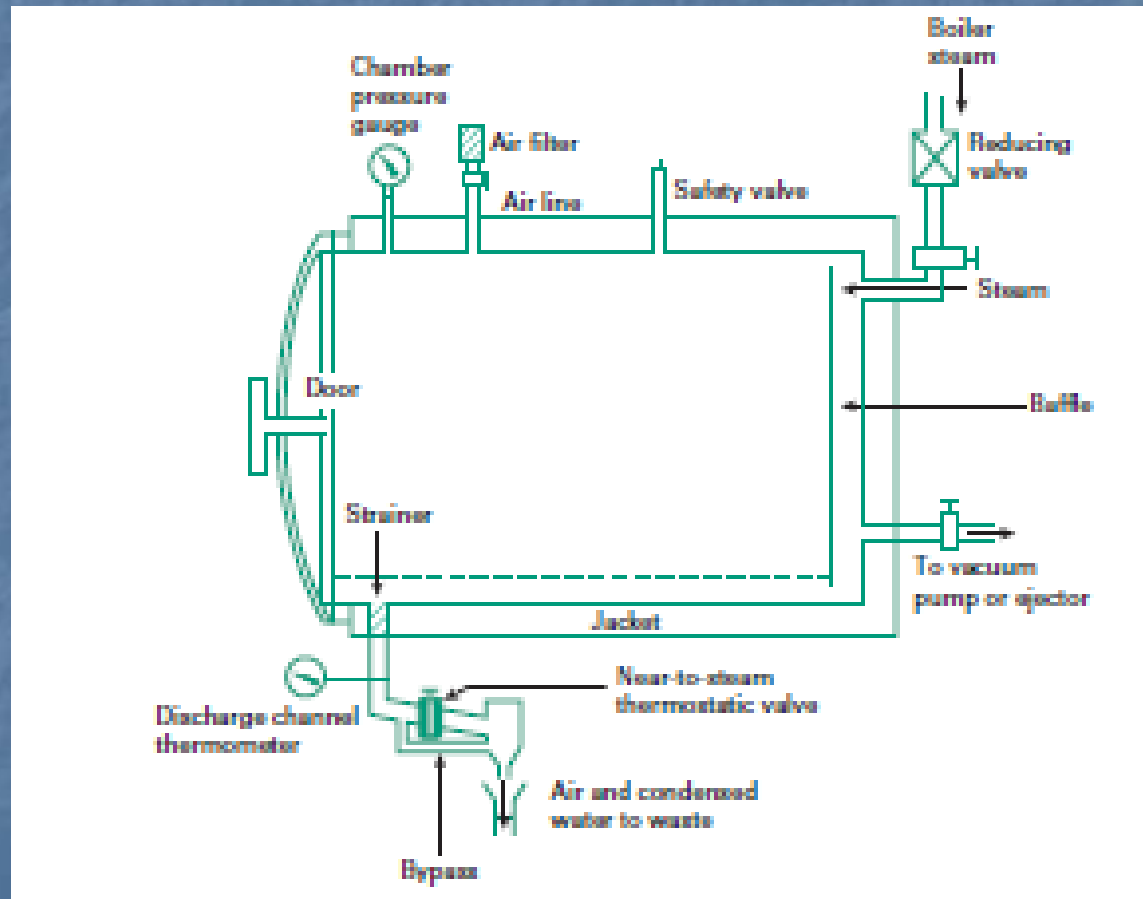
Table 21.2 Pressure–temperature relationships and antimicrobial efficacies of alternative steam sterilization cycles

Temperature	Holding time	Steam pressure		Inactivation factor ^a
(°C)	(min)	(kPa)	(psi)	(decimal reductions)
115	30	69	10	5
121	15	103	15	10
126	10	138	20	21
134	3	207	30	40

^aCalculated for a spore suspension having a D_{121} of 1.5 min and a Z-value of 10°C.



Main constructional features of a large-scale steam sterilizer (autoclave).



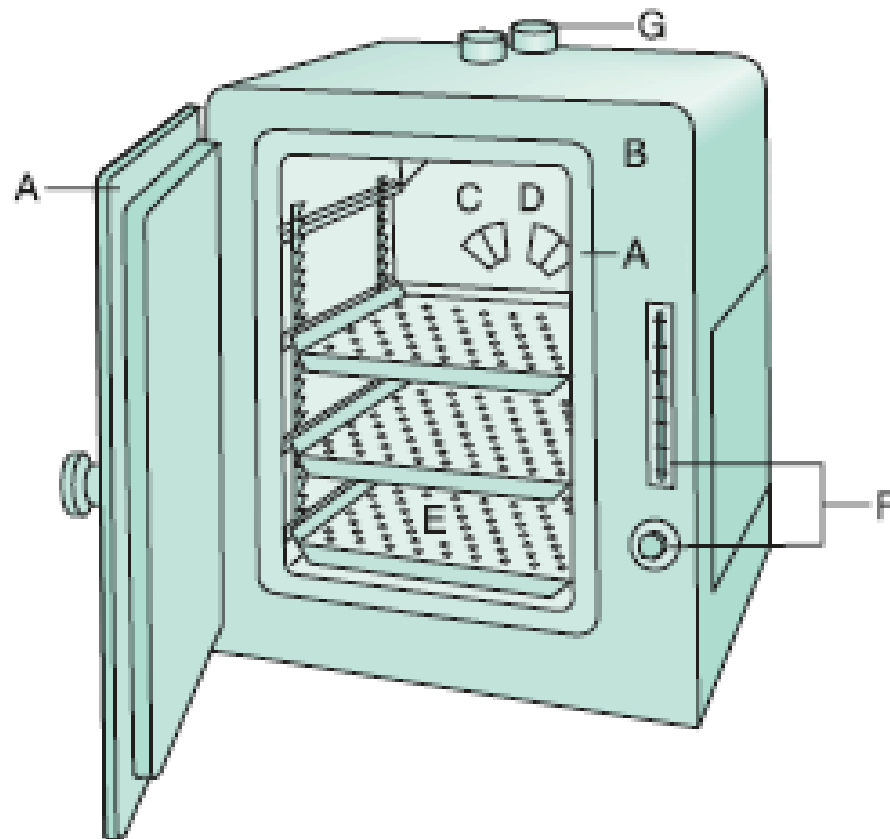
سترون سازی با استفاده از حرارت خشک

- سترون سازی با استفاده از حرارت خشک کمتر از سترون سازی حرارت مرطوب موثر است
- با این حال روش ترجیحی برای مواردی است که پایدار به گرما بوده اما حساس به رطوبت و غیر قابل نفوذ به بخار هستند.
- این موارد شامل برخی از دستگاه های فلزی، ظروف شیشه ای، روغن ها /تزریق های روغنی و برخی از پودرها هستند

Dry heat sterilization

- مزیت اصلی حرارت خشک بر سترون سازی بخار، توانایی آن در نفوذ به مواد و کشتن میکروارگانیسم ها از طریق اکسیداسیون است.
- این فرایند به طور کلی آهسته تر است و زمان های نگهداری برای سترون سازی حرارت خشک بسیار طولانی تر از موارد مورد نیاز برای سترون سازی بخار است

Fig. 17.3 • Hot air oven. *A*, Heat-resistant gasket; *B*, outer case containing glass-fibre insulation, and heaters in chamber wall; *C*, false wall; *D*, fan; *E*, perforated shelf; *F*, regulator; *G*, vents.



ترکیب های دما- زمان مورد استفاده برای سترون سازی گرمای مرطوب و خشک

روند	حداقل دما (° C)	حداقل زمان نگهداری (دقیقه)
سترون سازی با بخار (اتوکلاو)	۱۱۵	۳۰
	۱۲۱	۱۵
	۱۲۶	۱۰
	۱۳۴	۳
گرمای خشک	۱۴۰	۱۸۰
	۱۵۰	۱۵۰
	۱۶۰	۱۲۰
	۱۷۰	۶۰
	۱۸۰	۳۰

سترون سازی گازی

■ وقتی سترون سازی توسط گرما امکان پذیر نیست، یک جایگزین استفاده از یک گاز سترون کننده است.

■ استریلیزاسیون گازی معمولاً در ابعاد تجاری برای استریلیزاسیون سوندها، ست‌های تزریق، سرنگ‌ها، پروتزها و برخی ظروف پلاستیکی و سطح پودرهای حساس به حرارت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

انواع استریل کننده های گازی

■ میکروب کش های شیمیایی به طور کلی بر اساس شیوه عمل شان به مواد آلیله کننده و اکسید کننده تقسیم می شوند.

■ مواد آلیله کننده:

- Ethylene oxide $[(CH_2)_2O]$
- Formaldehyde [(methanal, $H.CHO$)]

■ مواد اکسیده کننده:

- Hydrogen peroxide (H_2O_2), 30 – 35%w/v, and peracetic acid (CH_3CO_3H), 3.5%w/v,

- Mechanism: Alkylation of the amino, sulphhydryl and hydroxyl groups in proteins or the purine bases of nucleic acids

- اتم های هیدروژن واکنشی روی هیدروکسیل، کربوکسیل، سولفیدریل و گروه های آمین می توانند با گروه های هیدروکسی اتیل جایگزین شوند، بنابراین طیف گسترده ای از فعالیت های متابولیکی را مانع شوند. اتیلن اکسید تمام میکروارگانیسم ها از جمله آندوسپورها و ویروس ها را غیرفعال می کند.

گازهای آلکیل کننده

اتیلن اکسید

- اتیلن اکسید می تواند از بسیاری از مواد پلیمری نفوذ کند و بنابراین کاربرد آن به سطوح محدود نمی شوند.
- اکسید اتیلن به طور گسترده ای در صنایع دارویی، اما کمتر در بیمارستان ها استفاده می شود.
- در دمای اتاق (نقطه جوش $10/7^{\circ}\text{C}$) در فاز گازی است و به خوبی از فضاها و باریک نفوذ می کند.
- نشان داده شده است که اتیلن اکسید دارای ویژگی های کشنده باکتری، قارچ ، ویروس، اسپور و پروتوزوا است

نکات مهم

■ اکسید اتیلن بسیار آتش زا بوده و میتواند در هوا ترکیب‌های قابل انفجار تشکیل دهد. به همین دلیل با گازهای بی-اثر (مانند دی اکسید کربن یا نیتروژن) ترکیب میشود.

■ اکسید اتیلن سمی و جهش‌زا بوده و ممکن است برای انسان سرطانزا باشد. لازم است که محصولات استریل شده بعد از فرایند، قرنطینه شوند تا گاز شده در سطح آنها جذب بتواند خارج شود. د

■ گاز استفاده شده در چمبر

عوامل موثر بر فعالیت اکسید اتیلن

- فعالیت ضد باکتری اکسید اتیلن متناسب با فشار نسبی گاز در محیط واکنش، زمان مواجهه، دمای تیمار، رطوبت و سطح و نوع آلودگی میکروبی است.
- دمای بالای ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد
- غلظت اکسید اتیلن معمولاً بین ۴۰۰ و ۱۲۰۰ میلی گرم در لیتر
- رطوبت نسبی بین ۴۰ تا ۷۰ درصد



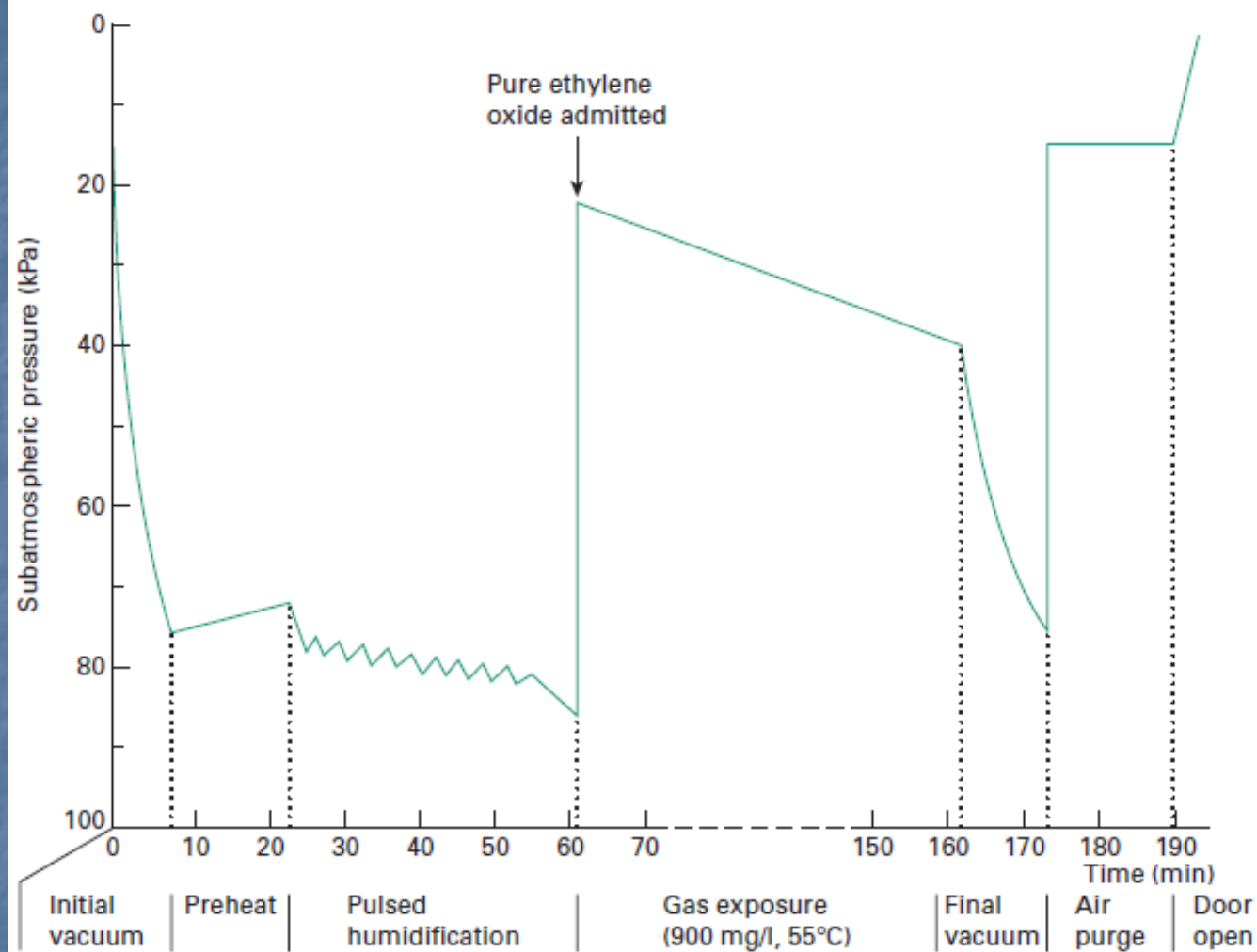


Figure 21.7 Typical operating cycle for pure ethylene oxide gas.

فرمالدئید

- فرمالدئید (HCHO) به فرم خالص، در دمای اتاق به حالت گاز بوده و نقطه جوش آن ۱۹- درجه سانتی گراد است
- بخار آن، می تواند از پلیمرهای جامد مانند پارا فرمالدئید یا از محلول ۳۷٪ فرمالدئید در آب (فرمالین) ایجاد شود.
- به راحتی در دمای زیر ۸۰ درجه سانتیگراد پلیمریزه می شود تا ماده جامد سفید ایجاد کند.
- معمولاً فرمالین حاوی ۱۰٪ متانول برای جلوگیری از پلیمریزاسیون است.

نکات مهم

■ قدرت ضد باکتری آن نسبت به اتیلن اکسید بیشتر است اما قدرت نفوذ کمی دارد و در واقع یک باکتری کش سطحی است.

■ 15–100 mg/L for formaldehyde 70–75°C

■ 30 -70 % humidity

■ برای سطوح و برای بسته بندی های کاغذی یا کتان کاربرد دارد

■ به آسانی توسط مواد آلی غیر فعال می شود.

■ حذف گاز جذب شده بسیار دشوار است و نیاز به زمان طولانی دارد.

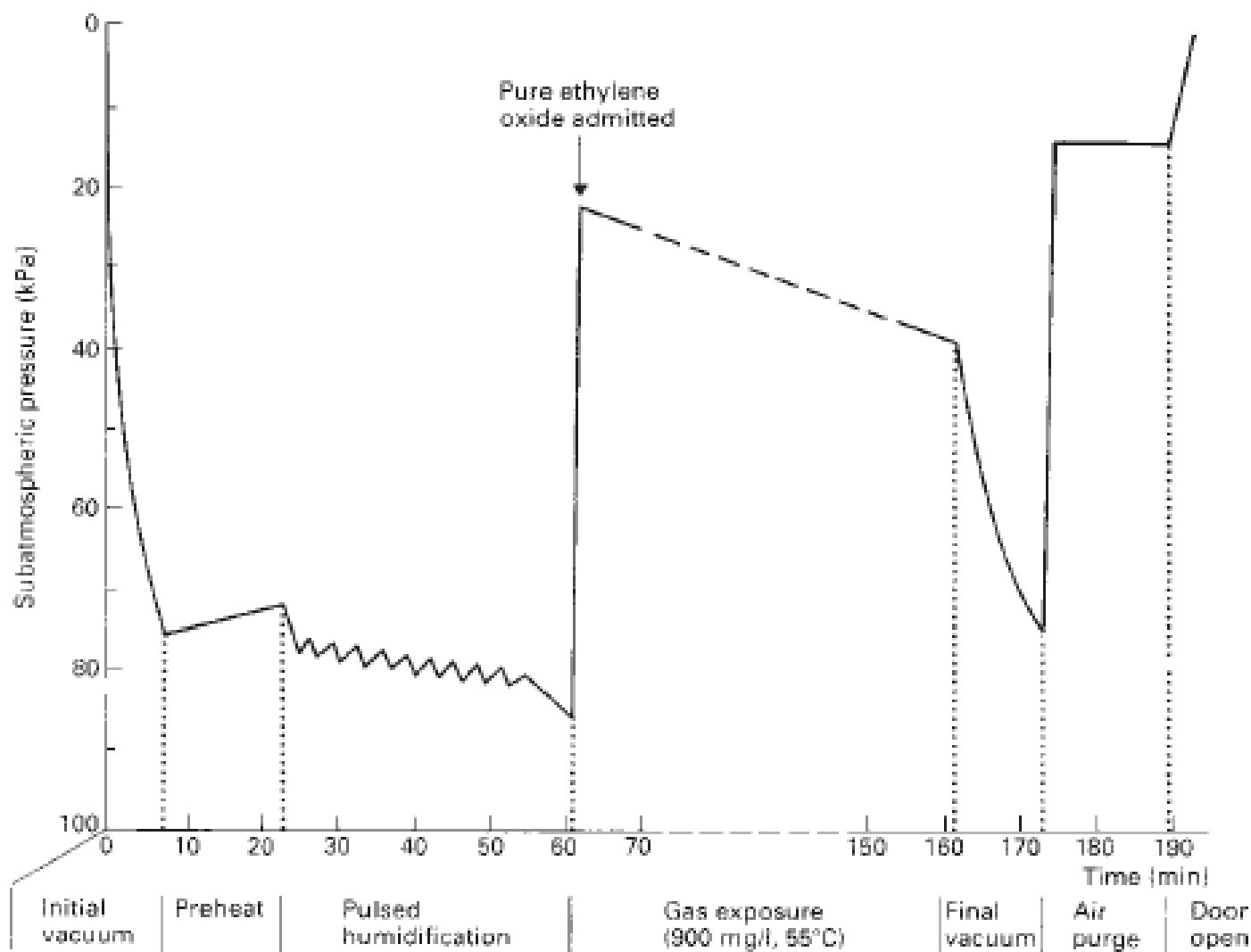


Fig. 20.7 Typical operating cycle for pure ethylene oxide gas.

Table 21.3 Relative merits of ethylene oxide and low-temperature steam and formaldehyde (LTSF) processes

Advantages of ethylene oxide over LTSF	Advantages of LTSF over ethylene oxide
Wider international regulatory acceptance	Less hazardous because formaldehyde is not flammable and is more readily detected by smell
Better gas penetration into plastics and rubber	The gas is obtained readily from aqueous solution (formalin) which is a more convenient source than gas in cylinders
Cycle times may be shorter	
Relatively slow to form solid polymers (with the potential to block pipes, etc.)	
With long exposure times it is possible to sterilize at ambient temperatures	
Very low incidence of product deterioration	

تعاريف

■ دز انفكتانت

■ آنتى سپٲىك

Table 19.1 Levels of disinfection attainable when products are used according to manufacturer's instructions

	Low	Disinfection level Intermediate	High
Microorganisms killed	Most vegetative bacteria Some viruses Some fungi	Vegetative bacteria including <i>M. tuberculosis</i> Most viruses including hepatitis B virus (HBV), Most fungi	All microorganisms unless extreme challenge or resistance exhibited
Microorganisms surviving	<i>M. tuberculosis</i> Bacterial spores prions	Bacterial spores Prions	Extreme challenge of resistant bacterial spores Prions

Patient Contact	Examples	Device Classification	Minimum Inactivation Level
Intact skin		Non-Critical	Low Level or Intermediate Level Disinfection
Mucous membranes or non-intact skin		Semi-Critical	High Level Disinfection
Sterile areas of the body, including blood contact		Critical	Sterilization

Table 19.2 Antibacterial activity of commonly used disinfectants and antiseptics

Class of compound	Activity against		General level ^a of antibacterial activity
	Mycobacteria	Bacterial spores	
Alcohols			
Ethanol/isopropyl	+	–	Intermediate
Aldehydes			
Glutaraldehyde	+	+	High
o-Phthalaldehyde	+	+	High
Formaldehyde	+	+	High
Biguanides			
Chlorhexidine	–	–	Intermediate
Halogens			
Hypochlorite/chloramines	+	+	High
Iodine/iodophor	+	+	Intermediate, problems with <i>Ps. aeruginosa</i>
Peroxygens			
Peracetic acid	+	+	High
Hydrogen peroxide	+	+	High
Phenolics			
Clear soluble fluids	+	–	Intermediate
Chloroxylenol	–	–	Low
Bisphenols	–	–	Low, poor against <i>Ps. aeruginosa</i>
Quaternary ammonium compounds			
Benzalkonium	–	–	Intermediate
Cetrimide	–	–	Intermediate

^aActivity expected per manufacturer's instructions and will depend on environmental conditions and bioburden.

Table 19.6 Examples of the main antimicrobial groups as antiseptics, disinfectants and preservatives

Antimicrobial agent	Antiseptic activity		Disinfectant activity		Preservative activity	
	Concentration	Typical formulation/ application	Concentration	Typical formulation/ application	Concentration	Typical formulation/ application
Acids and esters e.g. benzoic acid, parabens					0.05–0.1% 0.25%	For oral and topical formulations
Alcohols ^a e.g. ethyl or isopropyl	50–90% in water	Skin preparation	50–90% in water	Clean surface preparation		
Aldehydes e.g. glutaraldehyde	10%	Gel for warts	2.0%	Solution for instruments		
Biguanides e.g. chlorhexidine ^b (gluconate, acetate, etc.)	0.02%	Bladder irrigation	0.05%	Storage of instruments, clean instrument disinfection (30 min)	0.0025%	Solution for hard contact lenses
	0.2%	Mouthwash			0.01%	Eye drops
	0.5% (in 70% alcohol)	Skin preparation				
	1.0%	Dusting powder, cream, dental gel	0.5% (in 70% alcohol)	Emergency instrument disinfection (2 min)		
	4.0%	Preoperative scrub in surfactant				
Chlorine e.g. hypochlorite	≤0.5%avCl ₂	Solution for skin and wounds	1–10%	Solution for surfaces and instruments		
Hydrogen peroxide	1.5%	Stabilized cream	3.0%	Disinfection of soft contact lenses		
	3–6%	Solution for wounds and ulcers, mouthwash				

Iodine compounds e.g. free iodine, povidone- iodine	1.0%	Aqueous or alcoholic(70%) solution	10.0%	Aqueous or alcoholic solution		
	1.0%	Mouthwash				
	2.5%	Dry powder spray				
	7.5%	Scalp and skin cleanser				
	10%	Preoperative scrub, fabric dressing				
Phenolics e.g. clear soluble phenolics, chloroxylonol	0.5%	Dusting powder	1–2%	Solution		
	1.3%	Solution				
	2.0%	Skin cleanser				
QACs e.g. cetyltrimethyl ammonium bromide (cetrimide)	0.1%	Solution for wounds and burns	0.1%	Storage of Instruments	0.01%	Eye drops
			1.0%	Instruments (1h)		
	0.5%	Cream				
	1.0%	Skin solution				

^a Also used in combination with other agents, e.g. chlorhexidine, iodine.

^b Several forms available having x% chlorhexidine and 10x% cetrimide.

QAC, quaternary ammonium compound.

Table 19.4 Properties of commonly used disinfectants and antiseptics

Class of compound	Effect of organic matter	pH optimum	Toxicity and OES ^a	Other factors
Alcohols				
Ethanol	Slight		Avoid broken skin, eyes OES: 1000 ppm/1900 mg/m ³ , 8 h only	Poor penetration, good cleansing properties, flammable
Isopropanol	Slight		OES: 500 ppm/1225 mg/m ³ , 10 min; 400 ppm/980 mg m ³ , 8 h	
Aldehydes				
Glutaraldehyde	Slight	pH 8	Respiratory complaints and contact dermatitis reported Eyes, sensitivity OES: 0.2 ppm/0.7 mg/m ³ , 10 min only	Non-corrosive, useful for heat-sensitive instruments Use in well-ventilated area. Gloves, goggles and apron worn for preparation
Formaldehyde	Moderate		Respiratory distress, dermatitis MEL: 2 ppm/2.5 mg/m ³ , 10 min and 8 h	
Biguanides				
Chlorhexidine	Severe	pH 7–8	Avoid contact with eyes and mucous membranes Sensitivity may develop	Incompatible with soap and anionic detergents Inactivated by hard water, some materials and plastic
Chlorine compounds				
Hypochlorite	Severe	Acid/neutral pH	Irritation of skin, eyes and lungs OES: 1 ppm/3 mg/m ³ , 10 min; 0.5 ppm/1.5 mg/m ³ , 8 h	Corrosive to metals Dichloroisocyanurate likely to produce Cl gas when used to disinfect acidic urines
Hydrogen peroxide	Slight/moderate	Acid/neutral pH	May irritate skin and mucous membranes	May develop high pressure in container

(continued)

Table 19.4 (continued)

Class of compound	Effect of organic matter	pH optimum	Toxicity and OES*	Other factors
Iodine preparations	Severe	Acid pH	OES: 2 ppm/3 mg/m ³ , 10 min; 1 ppm, 8 h Eye irritation. Tincture or KI (Lugol's iodine)	May corrode metals
Phenolics			OES: 0.1 ppm/1 mg/m ³ , 10 min only	
Clear soluble fluids	Slight	Acid pH	Protect skin and eyes	Absorbed by rubber/plastic
Black/white fluids	Moderate/severe		Very irritant. Greatly reduced by dilution May irritate skin	
Chloroxylenol	Severe		OES: 10 ppm/38 mg/m ³ , 10 min; 5 ppm/19 mg/m ³ , 8 h	Absorbed by rubber/plastic
QACs	Severe	Alkaline pH	Avoid contact with eyes	Incompatible with soap and anionic detergents
Cetrimide				Absorbed by fabrics
Benzalkonium chloride				

MEL, maximum exposure limit; OES: occupational exposure standard; QAC, quaternary ammonium compound.

MELs are the time-weighted average upper limits of a substance permitted in the breathing zone of a person. OES levels are the maximum concentrations of a substance in air to which individuals may be exposed during their working life and at which present knowledge indicates there will be no ill effects. Often similar to 8 h MEL levels. (MELs have now been replaced by workplace exposure limits, WELs.)

Source: HSE (2007).

Table 19.3 Antifungal activity of disinfectants and antiseptics

Antimicrobial agent	Time (min) to give >99.99% kill ^a of		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Candida albicans</i>
Phenolic (0.36%)	<2	<2	<2
Chlorhexidine gluconate (0.02%, alcoholic)	<2	<2	<2
Iodine (1%, alcoholic)	<2	<2	<2
Povidone-iodine (10%, alcoholic and aqueous)	10	<2	<2
Hypochlorite (0.2%)	10	<2	5
Cetrimide (1%)	<2	20	<2
Chlorhexidine gluconate (0.05%) + cetrimide (0.5%)	20	>20	>2
Chlorhexidine gluconate (0.5%, aqueous)	20	>20	>2

^aInitial viable counts $c.1 \times 10^6$ /ml in suspension test.

Sterilization control and sterility assurance

- Bioburden determinations
- Environmental monitoring
- Validation and in-process monitoring of sterilization procedures
- Sterility testing

Parametric release

- In well-characterized sterilization processes (e.g. heat and irradiation), where physical measurements may be accurately made, sterility can be assured by ensuring that the manufacturing process as a whole conforms to the established protocols for the first three of the above headings (i.e. release based upon process data) of the product **without recourse to a sterility test**

1-Bioburden determinations

- The term 'bioburden' is used to describe the concentration of microorganisms in a material (a total number of organisms per millilitre or per gram, regardless of type).
- undertaken by the supplier of the raw material, also be checked by the recipient.

The level

- The maximum permitted concentrations of contaminants may be those specified in various pharmacopoeias or the levels established by the manufacturer during product development.

- It is necessary to ensure that the opportunities for microbial contamination during manufacture are restricted.
- utilize adverse temperatures, extreme pH values and organic solvent exposures in order to prevent an increase in the microbial load.

2-Environmental monitoring

- The levels of microbial contamination in the manufacturing areas are monitored on a regular basis to confirm that the numbers do not exceed specified limits.

'settle plates'

- Petri dishes of suitable media exposed for fixed periods, on which the colonies are counted after incubation

air samplers

- which cause a known volume of air to be passed over an agar surface.
- swabs or contact plates: (Rodac—replicate organism detection and counting):
specially designed Petri dishes slightly overfilled with agar, which, when set, projects very slightly above the plastic wall of the dish.

Operators check

- operators in the manufacturing area whose clothing, e.g. gloves or face masks, may be sampled in order to estimate the levels and types of organisms that may arise as product contaminants from those sources.

Validation and in-process monitoring of sterilization procedures

- Validation means that a process will consistently produce the results that it is intended to.

validation procedure for a steam sterilization process

- The calibration and testing of all the physical instruments used to monitor the process, e.g. thermocouples, pressure gauges and timers.
- Production of evidence that the steam is of the desired quality (e.g. that the chamber temperature is that expected for pure steam at the measured pressure).

- The conduct of leak tests and steam penetration tests using both an empty chamber and a chamber filled with the product to be sterilized in the intended load conformation.
- The use of biological indicators either alone or in combination with bioburden organisms to demonstrate that the sterilization cycle is capable of producing an acceptable level of sterility assurance under 'worst case' conditions.

- The production of data to demonstrate repeatability of the above (typically for three runs).
- Comprehensive documentation of all of these aspects.

Process Validation and Testing

- Measurement and recording of the required **physical or chemical conditions** reached throughout the sterilization cycle within every part of the load.
- Observation of the effect exhibited by a chosen sterilization cycle on **indicator organisms** or indicator substances.

PHYSICAL and chemical METHODS FOR VALIDATION

- **Measuring Devices for Heat**
- **Measuring Devices for Pressure**
- **Physical Methods for Determining Filter Integrity**
- **Dosimeters for Radiation Sterilization**

Biological indicators

Table 21.7 Biological indicators (BIs) recommended by the *European Pharmacopoeia* (2009) for monitoring sterilization processes

Sterilization process	Species	Inoculum size	D-value
Steam sterilization (121 °C)	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	$>5 \times 10^5$	>1.5 min
Dry heat (160 °C)	<i>Bacillus subtilis</i> var <i>niger</i>	$>1 \times 10^6$	1–3 min
Hydrogen peroxide and peracetic acid	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	$>5 \times 10^5$	–
Ethylene oxide (EO)	<i>Bacillus subtilis</i> var <i>niger</i>	$>5 \times 10^5$	>2.5 min at 54 °C, 60% relative humidity and 600 mg/L EO
Formaldehyde	<i>Bacillus subtilis</i> var <i>niger</i>	$>5 \times 10^5$	–
Ionizing radiation	<i>Bacillus pumilus</i>	$>1 \times 10^7$	1.9 kGy

Sterility testing

- The principle
- The limitations
- The procedure:
 - The direct inoculation procedure
 - Membrane filtration
 - A sensitive method for detecting low levels of contamination in intravenous infusion fluids

The considerations

- Inactivation
- Positive control
 - strains of *S. aureus*, *B. subtilis*
 - and *P. aeruginosa* as appropriate aerobic
 - organisms, *Clostridium sporogenes* as an anaerobe
 - and *C. albicans* or *A. niger* as fungi.
- Negative control

Table 20.7 Inactivating agents*

<i>Inhibitory agents</i>	<i>Inactivating agents</i>
Phenols, cresols	None (dilution)
Alcohols	None (dilution)
Parabens	Dilution and Tween
Mercury compounds	-SH compounds
Quaternary ammonium compounds	Lecithin + Lubrol W; Lecithin + Tween (Letheen)
Benzylpenicillin†	β-Lactamase from <i>Bacillus cereus</i>
Ampicillin	
Other antibiotics†	None (membrane filtration)
Sulphonamides	p-Aminobenzoic acid

* Neutralizing agents.

† See text.

TABLE 8.4

Probability of Rejecting a Batch of Parenteral Product as Nonsterile According to Sample Size (Based on One EP Sterility Test)

Batch Size	Sample Size	Probability of Rejection According to Frequency (%) of Contamination in Batch				
		0.1	1.0	5.0	10	50
40	4	0.004	0.039	0.185	0.344	0.937
101–500	10	0.010	0.096	0.401	0.653	0.999
1,000	20	0.020	0.180	0.640	0.878	0.999

موفق باشید