



Obecné statě a články, které se týkají mikrobiologické problematiky, jejich zařazení v ČL/Ph. Eur. a probíhající revize

- Revize textů probíhá v důsledku harmonizace Evropského lékopisu s USP a Japonským lékopisem.
- Platnost harmonizovaných textů uvedených v ČL 2009 (skupina B) je:
 - v Evropě závazná od 1. 1. 2009
 - pro USA a ostatní regiony od r. 2012.
- Platnost textů uvedených v ČL v Doplněku 2010 bude pravděpodobně od 1. 7. 2010.

Přehled mikrobiologických statí

Obecná stať	ČL 2009	Dopl. 2010
2.6.1 Zkouška na sterilitu	bez revize (6.0)	revize (6.3)
2.6.8 Zkouška na pyrogenní látky	bez revize (6.0)	
2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (zkouška na celkový počet)	bez revize (6.0)	revize (6.3 a 6.5)
2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (zkouška na specifické mikroorganismy)	malá změna (6.0) (přidání sbírky kmenů)	revize (6.3 a 6.5)
2.6.14 Bakteriální endotoxiny	bez revize (6.0)	
2.6.27 Mikrobiologická kontrola buněčných přípravků	bez revize (6.0)	

Přehled mikrobiologických statí

Obecná stať	ČL 2009 Dopl. 2010
2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik	revize (6.0) (přidán erythromycin-estolát) revize (6.3) (přidán teikoplanin)
5.1.1 Metody přípravy sterilních přípravků	bez revize (6.0)
5.1.2 Biologické indikátory pro sterilizaci	bez revize (6.0)
5.1.3 Účinnost protimikrobních konzervačních látek	bez revize (6.0)

Přehled mikrobiologických statí

Obecná stať	ČL 2009	Dopl. 2010
5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití	revize (6.0) (dodatek pro kvantitativní stanovení <i>E. coli</i>)	revize (6.3)
5.1.5 Používání pojmu F0 při sterilizaci vodných přípravků parou	bez revize (6.0)	revize (6.3)
5.1.6 Alternativní metody kontroly mikrobiologické jakosti farmaceutických přípravků	bez revize (6.0)	
5.1.9 Pokyny k použití zkoušky na sterilitu	není uveden (součást 2.6.1)	nová stať (6.3)

Přehled monografií

Monografie	ČL 2009	Dopl. 2010
Aqua purificata	bez revize (6.0)	revize (6.3)
Aqua valde purificata	bez revize (6.0)	revize (6.3)
Aqua pro injectione	bez revize (6.0)	revize (6.3)
dalších asi 100 článků (látky přírodního původu a pro parenterální použití)	bez revize (6.0)	revize (6.3)

2.6.1 Zkouška na sterilitu – revize Dopl. 2010

V části Opatření proti mikrobiálnímu znečištění se vynechává odkaz pro monitorování pracovního prostředí na směrnice ES a navazující pokyny pro SVP.

V části Živné půdy a inkubační teploty se přidává text:

- Pro výrobky obsahující rtuťové protimikrobní konzervační látky, které se nemohou zkoušet membránovou filtrací, se může použít thioglykolátová půda inkubovaná při 20 °C až 25 °C místo půdy s hydrolyzátů sóji a kaseinu za předpokladu, že vyhoví růstové a validační zkoušce.
- Kde je to předepsáno nebo zdůvodněno a schváleno, může se použít alternativní thioglykolátová půda, ale vypustí se agar a roztok sodné soli resazurinu a sterilizuje se, jak popsáno výše. Hodnota pH po sterilizaci je $7,1 \pm 0,2$. Před použitím se zahřeje ve vodní lázni a inkubuje se při teplotě 30 °C až 35 °C za anaerobních podmínek.

2.6.1 Zkouška na sterilitu – revize Dopl. 2010

- V části ověření zkoušky se mění označení validační zkouška na zkouška vhodnosti (způsobilosti) – je to ověření metody za přítomnosti a nepřítomnosti vzorku. S touto změnou označení se setkáváme průběžně i v ostatních textech (2.6.12 a 2.6.13). Termín validace je ponechán pro zkoušky, které lze validovat ve smyslu statistických metod (např. správnost, přesnost, specifita, detekční limit, robustnost), jako tomu je např. při použití alternativních metod kontroly mikrobiologické jakosti.
- V části – zkouška pomocí membránové filtrace se mění promývací cyklus za použití vybraného sterilního rozpouštědla z 5x200 ml na 5x100 ml.

2.6.1 Zkouška na sterilitu – revize Dopl. 2010

- Z tab. 2.6.1 – 2 Minimální množství zkoušené látky, které se použije pro každou půdu se vypouští: jiné přípravky rozpustné ve vodě nebo v isopropyl-myristátu.
- Z tab. 2.6.1 – 3 Minimální zkoušený počet jednotek se přidává:
 - pro parenterální přípravky (více než 500 obalů v šarži) místo 2% nebo 20 obalů zkoušet 10 obalů pro velkoobjemové parenterální přípravky, podle toho, co je méně.
 - u nerozplněných pevných přípravků se vypouští: nerozplněná léková balení antibiotik
 - u Vysvětlivek pod tabulkou se přidává text: jestliže není známa velikost šarže, použije se nejvyšší předepsaný počet jednotek.

2.6.1 Zkouška na sterilitu – revize Dopl. 2010

Vynechává se text:

- Pokyny k použití zkoušky na sterilitu.
- Pokyny pro výrobce.
- Odečítání a hodnocení výsledků.

Znění tohoto textu bez úprav se přesouvá a tvoří novou obecnou stať 5.1.9 Pokyny k použití zkoušky na sterilitu.

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Vypouští se úvodní část, která umožňovala použití dvou skupin zkoušek:

- skupinu A – oficiální metody Evropského lékopisu

- skupinu B – harmonizované metody s USP a Japonským lékopisem.

- Nadále platí pouze skupina B – harmonizované metody, ale toto označení se již vypouští. Harmonizované metody platí v Ph. Eur. Již od 1. 1. 2009, v ČL budou platit až od zveřejnění v Doplněku 2010 (zřejmě 1. 7. 2010).

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

- V části 4 Zkouška růstových vlastností půd, vhodnosti (způsobilosti) metody na stanovení počtu a negativní kontroly – přidává se: negativní kontroly
- V části 4 – 3 Negativní kontrola se ke stávajícímu textu přidává ještě:
- K ověření podmínek zkoušky se místo zkoušeného přípravku použije jako negativní kontrola zvolené ředidlo. Musí se porovnat růst mikroorganismů. Negativní kontrola se také použije, jestliže se provádí zkoušení podle odstavce 5. Selžou-li negativní kontroly, požaduje se prošetření
- Ostatní text je beze změny.

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Rozdíly v základních parametrech harmonizované metody (skupina B)

plán vzorkování

není uveden trojúrovňový vzorkovací plán

množství vzorku použité pro zkoušku – 10 g/10 ml

aerosoly - 10 nádob

transdermální náplasti - 10 kusů

snížené množství pro:

množství účinné látky na lékovou formu (tbl., inj.) je menší nebo rovno 1 mg – 10 lékových forem

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

pro účinné látky, kde je množství vzorku omezeno:

- pro malé šarže (méně než 1000 ml/1000 g) 1% z šarže
- šarže menší než 200 jednotek 2 jednotky
- šarže menší než 100 jednotek 1 jednotka

Příprava vzorku – tlumivý roztok s chloridem sodným o pH 7,0 nahrazen fosfátovým tlumivým roztokem o pH 7,2 a uvedena i půda s hydrolyzáty sóji a kaseinu.

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Používané metody – stejné druhy

- ☉ Metoda MF – neuvádí se množství promývacího roztoku
 - rozdíl ve složení Sabouraudova agaru
 - teplota doba kultivace – stejná, rozdíl v prodloužení doby kultivace hub na 7 dnů
 - není uveden maximální počet CFU na membránovém filtru
- ☉ Metoda počítání na pevných půdách
 - rozdíl v maximálním počtu CFU na Petriho miskou, ze kterého lze provést výpočet (250 CFU pro bakterie, 50 CFU pro houby) = snížení počtu, zpřísnění požadavků
- ☉ Metoda nejpravděpodobnějšího počtu MPN
 - rozšířená tabulka o další typy kombinací v použité sérii ředění

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Účinnost kultivačních půd a validita metody

- ☉ kladen velký důraz na provedení
- ☉ změna u vybraných specifických mikroorganismů, nezkouší se *E. coli*, ale *Pseudomonas aeruginosa*
- ☉ zdůrazněno použití systemu jednotné inokulace – ne více než 5x pasážování
- ☉ množství použité suspenze standardizované, ale i připravené, počet CFU max. 100

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Teplota a doba kultivace:

- teplota stejná
- změna doby kultivace pro růstové vlastnosti půd a validaci zkoušky
- změna faktoru z 5 na 2, o který se může lišit počet kolonií při zkoušce na růstové vlastnosti od inokula

Neutralizace a odstranění protimikrobních účinků:

- pokud je faktor inhibice růstu větší než 2
- rozšířená nabídka neutralizačních činidel v Tab. 2.6.12-3

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Stanovení počtu mikroorganismů – revize Dopl. 2010

Interpretace výsledků

- ☉ počet CFU nalezený na agarové půdě s hydrolyzáty sóji a kaseinu bakterie včetně hub
- ☉ počet CFU nalezený na Sabouraudově agaru je počet hub včetně nalezených bakterií
- ☉ pokud je stanoven limit: změna, zpřísnění požadavků!

10^1 – nejvýše 2×10^1 (20)

10^2 – nejvýše 2×10^2 (200)

10^3 – nejvýše 2×10^3 (2000) atd.

Doporučené půdy a roztoky - uvedeny 2.6.13-B

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Vypouští se úvodní část, která umožňovala použití dvou skupin zkoušek:

• skupinu A – oficiální metody Evropského lékopisu

• skupinu B – harmonizované metody s USP a JP.

Nadále platí pouze skupina B – harmonizované metody, ale toto označení se již vypouští. Harmonizované metody platí v Ph. Eur. již od 1. 1. 2009, v ČL budou platit až od zveřejnění v Doplněku 2010 (zřejmě 1. 7. 2010).

U označených zkušebních kmenů, pokud bylo použito označení sérotyp se bude používat sérovar (taxonomicky správnější).

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

V části 3 Zkouška růstových vlastností půd, vhodnosti (způsobilosti) metody na stanovení počtu a negativní kontroly – přidává se : negativní kontroly

V části 3 – 2 Negativní kontrola se ke stávajícímu textu přidává ještě:

K ověření podmínek zkoušky se místo zkoušeného přípravku použije jako negativní kontrola zvolené ředidlo. Musí se porovnat růst mikroorganismů. Negativní kontrola se také použije, jestliže se provádí zkoušení podle odstavce 5. Selžou-li negativní kontroly, požaduje se prošetření

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

V části 4. 6 Klostridium se přidává k textu:

4.6.2 Výběr a přeočkování

- inkubace na Columbia agaru prodloužena z 48 h na 72 h.
- Vyhodnocení: pro ověření kolonií popsaného typu se přidávají ještě identifikační zkoušky

Ostatní text je beze změny.

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Příprava kmenů za stejných podmínek jak uvedeno v 2.6.12

- Druhy aerobních mikroorganismů zůstávají stejné, navíc se stanovuje *Candida albicans*.
- U anaerobních mikroorganismů se nestanovuje přítomnost *Clostridia perfringens*.
- Odstranění protimikrobních účinků za stejných podmínek jak uvedeno v 2.6.12
- Potvrzení vhodnosti –validace-zkoušky požadované.

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Zkouška na enterobakterie a jiné gramnegativní bakterie se
název mění na: Zkouška na bakterie tolerující žluč.

- mění se zde ředící roztok
- mění se kultivační teplota pro předinkubaci z 35 °C až 37 °C
na 20 °C až 25 °C
- mění se kultivační teplota ve všech krocích z 35 °C až 37 °C
na 30 °C až 35 °C

Zkouška na *E.coli*

- mění se kultivační teplota pro inkubaci z 35 °C až 37 °C na 30 °C až
35 °C a teplota inkubace v MacConkey půdě ze 43 °C až 45 °C na
42 °C až 44 °C

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Zkouška na *Salmonella*

- Mění se kultivační teplota inkubace 35 °C až 37 °C na 30 °C až 35 °C.
- Mění se použitá půda na selekci, používá se půda podle Rappaporta a Vasiliadise místo tekuté půdy I a kultivační teplota pro selekci se mění z 41 °C až 43 °C na 30 °C až 35 °C.
- Pro vyočkování se ruší půdy J,K,L a jsou nahrazeny půdou s deoxycholátovým agarem s xylosou a lysinem a kultivační teplotou 30 °C až 35 °C .

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků. Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Zkouška na *Pseudomonas aeruginosa*

- ☉ Mění se kultivační teplota pro inkubaci ze 35 °C až 37 °C na 30 °C až 35 °C pro inkubaci i selekci.
- ☉ Ostatní zůstává stejné.

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Staphylococcus aureus

- mění se kultivační teplota z 35 °C až 37 °C na 30 °C až 35 °C pro inkubaci i selekci.
- mění se půda pro selekci a pro subkultivaci z půdy O (Bairdův-Parkerův agar) na agarovou půdu s mannitolem.

Klostridie

- pouze změna kultivační teploty z 35 °C až 37 °C na 30 °C až 35 °C.
- neprovádí se stanovení počtu *Cl. perfringens*.

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Candida albicans

- Tato zkouška je v Doplněku 2007 nově zařazena, protože nepřítomnost *Candidy albicans* je požadována u vaginálních přípravků. Základní parametry zkoušky jsou uvedeny v tabulce. Důležitá je teplota ve všech krocích stanovení, která je i zde 30 °C až 35 °C , tedy jako pro aerobní mikroby.
- Běžně pro houby je kultivační teplota 20 °C až 25 °C.

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Doporučené živné půdy a roztoky

- Dochází ke změnám v doporučených živných půdách a roztocích.
- Uvedeno 15 druhů živných půd z dříve používaných vyřazeno 8 druhů:
 - tekutá půda D (laktosová půda)
 - tekutá půda I (tetrathionanová půda se žlučí a zelení brilantní)
 - agarová půda J (deoxycholáto-citrátový agar)
 - agarová půda L (agar se zelení brilantní, červení fenolovou, laktosou a sacharosou)
 - agarová půda M (agarová půda se třemi cukry a železem)
 - agarová půda O (Bairdův-Parkerův agar)
 - tekutá půda R (laktoso-siřičitanová půda)
 - půda S (R2A) pro zkoušku čištěné vody, je na ni odkaz v člancích

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků.

Zkoušky na specifické mikroorganismy – revize Dopl. 2010

Doporučené živné půdy a roztoky

navíc jsou uvedeny 4 půdy:

- ☉ Bramborovo-glukosový agar
- ☉ Sabouraudova glukosová tekutá půda
- ☉ Rappaportova-Vassiliadisova obohacená půda pro *Salmonella*
- ☉ Mannitolový agar se solí

2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik – revize Dopl. 2010

Difuzní metoda - Tab. 2.7.2 -1:

- vypouští se u Dihydrostreptomycini sulfas a Erythromycini estolas
- přidává se nový článek Teicoplaninum

Uvedené podmínky pro zkoušku v tab.:

- referenční látka: *teikoplanin CRL*
- rozpouštědlo k přípravě základního roztoku pH 6,0 (0,05 mol/l)
- tlumivý roztok pH 6,0 (0,5 mol/l)
- mikroorganismus *Bacillus subtilis CCM 1999* (a další sbírky)
- půda a konečné pH ($\pm 0,1$ pH jednotek) = půda H pH 7,9 až 8,0
- inkubační teplota 35 °C až 37 °C

2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik – revize Dopl. 2010

Difuzní metoda:

V části Živné půdy se přidává složení půdy H, které se používá pro stanovení účinnosti Teikoplaninu.

Půda H – složení

Pepton	5,0 g
Agar	15,0 g
Hovězí výtažek práškový	3,0 g
Voda	do 1000 ml

pH se upraví hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS na hodnotu pH 7,8 až 8,0.

2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik – revize Dopl. 2010

Turbidimetrická metoda - Tab. 2.7.2 – 2:

vypouští se:

- ☉ Dihydrostreptomycini sulfas
- ☉ Erythromycini estolas
- ☉ Erythromycini succinas

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize ČL 2009

Dodatek

- Zvláštní ustanovení EL pro přípravky z rostlin složené jen z jedné nebo více rostlinných drog: kvantitativní stanovení pro *E. coli* skupiny A - oficiální kritéria (i metody) Evropského lékopisu.

Použije se následující postup:

- Příprava vzorku a předinkubace.

Připraví se vzorky za použití desetinasobných ředění z nejméně 1 g zkoušeného výrobku, jak je popsáno v obecné stati 2.6.12 (v části B Harmonizovaná metoda) a použije se množství odpovídající 0,1 g, 0,01 g nebo 0,001 g (nebo 0,1 ml, 0,001 ml nebo 0,001 ml) k naočkování vhodného množství (určeného, jak je předepsáno v odstavci 3-4 obecné stati 2.6.13, část B Harmonizovaná metoda) půdy s hydrolyzáty sóji a kaseinu, promíchá se a inkubuje se 18 h až 48 h při 30 °C až 35 °C.

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize ČL 2009

Dodatek

Výběr a přeočkování

- obsah nádoby se protřepe
- 1 ml půdy s hydrolyzáty sóji a kaseinu se přenese do 100 ml MacConkeyovy tekuté půdy
- inkubuje se 24 h až 48 h při 42 °C až 44 °C
- vyočkuje se na misky s MacConkeyovou agarovou půdou
- inkubuje se 18 h až 72 h při 30 °C až 35 °C

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize ČL 2009

Dodatek

Vyhodnocení

- Růst kolonií znamená možnou přítomnost *E. coli*. To se potvrzuje identifikačními zkouškami.
- Zaznamená se nejmenší množství výrobku, které dává pozitivní výsledek a největší množství výrobku, které dává negativní výsledek.
- Z následující tabulky se stanoví pravděpodobný počet bakterií.
- Tab. 2.6.13 – 1.
- Výsledky pro uvedené množství výrobku/Pravděpodobný počet bakterií.
- Tabulka je stejná jako v případě kvantitativního stanovení žluč tolerujících bakterií.

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

- Vypouští se úvodní část, která umožňovala použití dvou skupin doporučených kritérií přijatelnosti pro mikrobiologickou jakost (které odpovídaly použití dvou skupin metod zkoušek podle 2.6.12 a 2.6.13):
 - skupiny A – oficiální kritéria (i metody) Evropského lékopisu
 - skupiny B – harmonizovaná kritéria (i metody) s USP a JP.
- Nadále platí pouze harmonizovaná kritéria, ale označení se vypouští.
- Harmonizovaná kritéria platí v Ph. Eur. Již od 1. 1. 2009, v ČL budou platit až po uveřejnění Doplněku 2010 (překlad 1. 7. 2010).

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

V současně platné verzi (metoda A) není text ve formě tabulky.

☉ Kategorie jsou označeny čísly – Kategorie 1 až 4 a seřazeny podle klesajících nároků na mikrobiologickou jakost.

☉ 1. kategorie – sterilní přípravky

☉ 2. kategorie – přípravky k ústnímu použití a použití v dýchacím ústrojí (u kterých není předepsaná sterilita) a transdermální náplasti.

☉ 3. kategorie

A – přípravky k perorálnímu a rektálnímu podání

B – přípravky k perorálnímu a rektálnímu podání obsahující suroviny přírodního původu, které nelze protimikrobně ošetřit a pro něž oprávněná autorita připouští zmírněné požadavky.

☉ 4. kategorie

A – přípravky z rostlin, ke kterým se před použitím přidává vroucí voda

B – přípravky z rostlin, ke kterým se před použitím vroucí voda nepřidává.

☉ Pro suroviny není uvedena žádná další kategorie, pouze se uvádí, že při výrobě se použijí vhodné prostředky k zajištění mikrobiologické jakosti.

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

V nově platné harmonizované verzi (metoda B)

je uvedena tabulka Přijaté požadavky mikrobiologické jakosti nesterilních lékových forem. V tabulce nejsou přípravky označeny jako kategorie čísla, ale jsou řazeny podle místa podání.

- sterilní přípravky nejsou součástí tabulky
- přípravky nejsou seřazeny podle nároků na mikrobiologickou jakost, ale podle místa podání a přípravky pro které platí zvláštní výhrada Evropského lékopisu

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

- přípravky perorální se dělí na dvě skupiny:
 - přípravky pro perorální podání, které neobsahují vodu (zde jsou požadavky na celkový počet aerobních mikroorganismů a hub a nepřítomnost *E. coli* totožné jako u současné 3 A kategorie pro perorální přípravky)
 - přípravky pro perorální podání s obsahem vody (zde je rozdíl ve vyšších nárocích na celkový počet mikrobů i na celkový počet hub – celkově o jeden řád, požadavek na nepřítomnost *E. coli* je totožný)
- přípravky rektální tvoří další skupinu (zde jsou požadavky na celkový počet aerobních mikroorganismů a hub totožné jako dosud pro 3. kategorii, nepřítomnost *E. coli* se nezjišťuje)

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

• přípravky k místnímu použití se dělí na 4 skupiny:

- přípravky pro použití na dásně
- na kůži
- do nosu
- do ucha

Zde je rozdíl v nárocích na celkový počet aerobních mikroorganismů a hub, který se v současné době sčítá (celkově 10^2), zatímco v nově platné verzi se počet bakterií a hub počítá zvlášť (10^2 bakterií a 10^1 hub). Požadavek na nepřítomnost specifických mikroorganismů *St. aureus* a *Ps. aeruginosa* zůstává stejný, nezkouší se na přítomnost enterobakterií a jiných gramnegativních bakterií.

• přípravky pro vaginální použití

Opět se nesčítá celkový počet aerobních mikroorganismů a hub (10^2 bakterií a 10^1 hub), požadavek na nepřítomnost specifických mikroorganismů *St. aureus* a *Ps. aeruginosa* zůstává stejný, nový požadavek je na nepřítomnost *Candida albicans*.

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

transdermální náplasti

Opět se nesčítá celkový počet aerobních mikroorganismů a hub (10^2 bakterií a 10^1 hub), požadavek na nepřítomnost specifických mikroorganismů *St. aureus* a *Ps. aeruginosa* zůstává stejný, nezkouší se na přítomnost enterobakterií a jiných gramnegativních bakterií jako dosud.

přípravky k inhalaci (zvláštní požadavky na tekuté nebulizované přípravky)

Opět se nesčítá celkový počet aerobních mikroorganismů a hub (10^2 bakterií a 10^1 hub), požadavek na nepřítomnost specifických mikroorganismů *St. aureus* a *Ps. aeruginosa* zůstává stejný, nový požadavek je na nepřítomnost žluč tolerujících gramnegativních bakterií.

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

Zvláštní výhrada Evropského lékopisu

☉ pro perorální lékové formy obsahující suroviny přírodního původu, které nelze protimikrobně ošetřit a pro něž oprávněná autorita připouští TAMC suroviny přesahující 10^3 CFU v gramu nebo mililitru.

☉ přípravky z rostlin

☉ k nimž se před použitím přidává vroucí voda

☉ k nimž se před použitím vroucí voda nepřidává

Požadavky na celkový počet aerobních mikroorganismů, celkový počet hub i na nepřítomnost specifických mikrobů se neliší od současně uvedených požadavků pro kategorii 4A a 4B.

Od doplňku 6.7 bude řešeno v samostatných statích 2.6.31 a 5.1.8.

☉ pro suroviny jsou nově přijaté požadavky uvedené v Tab. 2.1.4-2

5.1.4 Mikrobiologická jakost nesterilních léčivých přípravků a látek pro farmaceutické použití – revize Dopl. 2010

Interpretace výsledků: Důležitý rozdíl! (který vyplývá ze statí 2.6.12 a 2.6.13 a dále zvyšuje požadavky na mikrobiologickou jakost)

Pokud jsou přijaté požadavky mikrobiologické jakosti uvedeny, interpretují se takto:

- ☉ 10^1 CFU: nejvyšší přijatelný počet = 20
- ☉ 10^2 CFU : nejvyšší přijatelný počet = 200
- ☉ 10^3 CFU: nejvyšší přijatelný počet = 2000 atd.

V ČL 2009 (podle metody A) je to 50, 500, 5000 atd.

5.1.5 Používání pojmu F_0 při sterilizaci vodných přípravků parou – revize Dopl. 2010

Drobná změna textu prvního odstavce. Současné znění:

Hodnota F_0 sterilizačního postupu využívajícího nasycenou páru je letalita vyjádřená jako odpovídající čas v minutách při teplotě 121 °C ve vztahu k mikroorganismům, které mají při sterilizaci výrobku v jeho konečném obalu teoretickou hodnotu $z = 10$

Ostatní text zůstává beze změny.

5.1.9 Pokyny k použití zkoušky na sterilitu – nová stať Dopl. 2010

Týká se pokynů pro výrobce

- účel zkoušky na sterilitu (ověření požadavku ČL)
- opatření proti mikrobiálnímu znečištění – podmínky laminární box o třídě čistoty A na pozadí třídy B
- stupeň jistoty zkoušky
- vyšší záruka fyzikálních zkoušek, které dokumentují sterilizaci výrobků v konečných obalech
- podmínky parametrického uvolňování
- aseptická výroba – zkouška na sterilitu jediná možná zkouška
- vhodný plán odběru vzorků
- odečítání a hodnocení výsledků
- možnosti opakování zkoušky na sterilitu podle podmínky uvedené v 2.6.1

Celý obsah textu je beze změny převzat z obecné statě 2.6.1 Zkouška na sterilitu.

Aqua purificata Voda čištěná – revize Dopl. 2010

V části Čištěná voda nerozplněná

se do odstavce Výroba přidává část označená jako

Mikrobiologické monitorování

Text, který byl uveden pro mikrobiologickou kontrolu čištěné vody během výroby zůstává, ale rozšiřuje se dále o uvedené složení půdy R2A, provedení zkoušky růstových vlastností půdy R2A a přípravu zkušebních mikroorganismů použitých pro růstovou zkoušku a uvedení podmínek pro inkubaci.

Složení půdy R2A v předešlém vydání ČL označované jako půda S se tak z původního zařazení ve statí 2.6.13 přesouvá přímo do monografie.

Vzhledem k tomu, že celá metodika je uvedena přímo v článku se tak pro provedení zkušební metody nevyužívá odkaz na metody uvedené v 2.6.12.

Aqua purificata Voda čištěná – revize Dopl. 2010

V části Čištěná voda rozplněná

Zůstává text

Mikrobiální znečištění

beze změny, jen u půdy se nepoužívá označení B, ale půda s hydrolyzáty sóji a kaseinu. Zde zůstává odkaz na 2.6.12.

Doporučení SÚKL pro použití uvedených metod

- Zkoušky na mikrobiologickou čistotu nesterilních přípravků jsou dány platným lékopisem (v Ph. Eur. Suppl. 6.3, který platí od 1. 1. 2009). Byly revidovány obecné statě 2.6.12 a 2.6.13, 5.1.4 a celá řada s nimi souvisejících článků látek, u kterých se zkouška na mikrobiologickou jakost provádí. Podle těchto uvedených materiálů se pro uvedené mikrobiologické zkoušky v evropském teritoriu používá pouze harmonizovaná metoda (v ostatních teritoriích to bude platit od r. 2012).
- V platném Českém lékopise, který je překladem Evropského lékopisu, jsou ještě uveřejněny dvě metody, tradiční oficiální metoda (metoda A) a metoda harmonizovaná s USP a JP (metoda B).
- V ČL-Dopl. 2010 bude uvedena pouze metoda harmonizovaná (Ph. Eur. Suppl. 6.3), neboť se jedná o překlad (překlady do národního jazyka vykazují určitý časový posun oproti vydání Ph. Eur.).
- Zákon o léčivech (zákon 378/2007 Sb., par. 23 odst. 1a) nařizuje „při zacházení s léčivy používat postupy a dodržovat požadavky Evropského lékopisu a Českého lékopisu“, lze tedy již v současné době postupovat podle výše citovaného Ph. Eur. Suppl. 6.3.

Doporučení SÚKL pro použití uvedených metod

- Revize zkušebních metod a specifikací má malý regulační vliv pro země EMEA a USP.
- Nejsou proto požadovány nové žádosti o změnu v registraci pouze pro tuto revizi. Zařazení těchto nových požadavků do specifikace produktu se předpokládá až při podání žádosti o změnu z jiného důvodu.
- Při podávání žádosti o registraci se požaduje použití nových harmonizovaných metod.

Děkuji za pozornost

