

CONVALIDA MICROBIOLOGICA
MEDIA FILL

1 SCOPO

La seguente procedura ha lo scopo di illustrare le modalità operative necessarie per effettuare il test Media Fill nella simulazione di marcatura, frazionamento e somministrazione in asepsi delle preparazioni radiofarmaceutiche ottenute a mezzo Kit, mediante l'utilizzo di un idoneo terreno colturale sterile in sostituzione del prodotto.

2 APPLICAZIONE

La presente istruzione operativa si applica in fase di convalida e riconvalida periodica nel processo di preparazione e frazionamento delle preparazioni radiofarmaceutiche ottenute a mezzo kit liofilizzati o pronte all'uso ed a completamento del programma di addestramento sulle procedure di marcatura e/o frazionamento del personale neoassunto o neoinserto.

3 RESPONSABILITÀ

È responsabilità del Responsabile di Produzione (o di suo delegato) la corretta applicazione della seguente procedura.

4 MODALITÀ OPERATIVE

4.1 Condizioni Generali

La simulazione, oggetto della presente istruzione, deve avvenire negli stessi ambienti, con gli stessi strumenti (tutti) e con il medesimo personale impiegato nella routine di preparazione del prodotto marcato.

È importante, prima della simulazione, etichettare il materiale per evitare errori e consentire la rintracciabilità di tutto ciò che verrà successivamente utilizzato.

Il terreno sterile da utilizzare deve essere fertile per un'ampia gamma di microrganismi (funghi, lieviti e batteri aerobi) e corrisponde al terreno idrolizzato di Soia e Caseina: Idrolizzato Pancreatico di caseina 17,0 g. Idrolizzato Papaico di farina di soia 3,0 g, Sodio cloruro 5,0 g, Potassio fosfato dibasico 2,5 g, Glucosio monoidrato 2,5 g, Acqua R 1000 ml, pH dopo sterilizzazione: 7,3 +/- 0,2.

Il terreno descritto viene anche chiamato: TSB (Tryptic Soy Broth), CSB o SCD (Casein Soy Bean Digest Broth), Broth Medium A (in Eur Pharm). La formulazione è sempre la stessa.

Sebbene, durante la simulazione, non vengano utilizzate soluzioni contenenti isotopi radioattivi, è tassativo utilizzare guanti, vestizioni, materiali e metodologie secondo la normativa radioprotezionistica abitualmente adottata nella normale pratica preparativa, in quanto è necessario riprodurre integralmente e senza nessuna eccezione le modalità utilizzate nella routine.

Verificare al termine della simulazione l'assenza di contaminazione radioattiva dei flaconi, prima della spedizione al laboratorio per l'incubazione.

4.2 Procedura Media fill Cipharma

4.2.1 Materiale da utilizzare

Fase Eluizione

- N.1 Generatore $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ usato, completamente decaduto
- N.3 Flacons contenenti 10 ml di soluzione fisiologica sterile (F1, F2, F3)
- N.3 Flacons contenenti 4 ml di terreno colturale sterile concentrato (1:3) (E1, E2, E3)
- N.1 contenitore schermato per i flacons del tipo E

Fase Marcatura

- N.1 Flacone contenente 5 ml di terreno sterile SCD (E4)
- N.1 Calibratore di dose; N.1 piastra riscaldante
- N.3 Siringhe monouso sterili
- N.1 Flacone contenente 5 ml di terreno sterile SCD (F4)
- N.3 Flacons vuoti da 5 o 10 ml (A, B, C)
- N.1 contenitore schermato (per i flacons A, B, C)

Fase Frazionamento

- N.3 Flacons contenenti 6 ml di terreno sterile SCD (D, G, H)
- N.1 Calibratore di dose
- N.36 Siringhe monouso sterili
- N.6 Flacons vuoti da 5 o 10 ml (D1, D2, G1, G2, H1, H2) per la raccolta del terreno contenuto nelle siringhe
- N.3 contenitori schermati per i flacons D, G, H
- N.1 sistema di trasporto schermato (qualora in uso)

4.2.2 Simulazione eluizione Generatore

Prima di procedere alla simulazione eseguire un'eluizione, come da prassi, con soluzione fisiologica (eseguire il test di sterilità anche su questa soluzione)

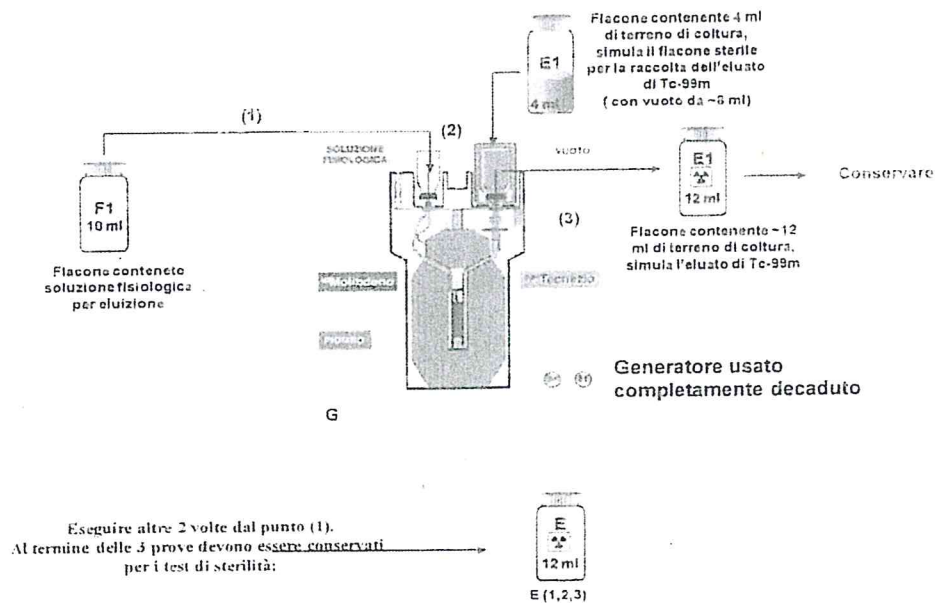


Figura 1

Simulare 3 eluizioni successive seguendo le istruzioni fornite dal produttore del generatore e dalla SRC-004 (operazioni (1), (2), (3)).

Utilizzando:

- flaconi (F1, F2, F3) contenenti ciascuno 10 ml di fisiologica sterile
- flaconi (E1, E2, E3) contenenti 4 ml di terreno colturale sterile ad ampio spettro di crescita microbica come Soybean Casein Digest (SCD), per eluizione opportunamente schermati
- 1 generatore $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (usato e completamente decaduto)

Al termine delle 3 sedute di simulazione si ottengono 3 flaconi che vanno conservati per il successivo test di sterilità:

E1, E2, E3: contenenti ~12 ml di terreno ciascuno (simulazione di un eluato di $^{99\text{m}}\text{Tc}$)

Note:

- Eseguire un test di sterilità sul campione di fisiologica utilizzato nell'eluizione che precede l'esecuzione del test media fill.
- Se si utilizzano più tipi di generatori utilizzarli a rotazione nelle sedute di media fill successive.
- La presenza di terreno concentrato nei flaconi sotto vuoto consente l'eluizione con soluzione fisiologica di tutti i tipi di generatore (sia a secco che a umido).

4.2.3 Simulazione Marcatura

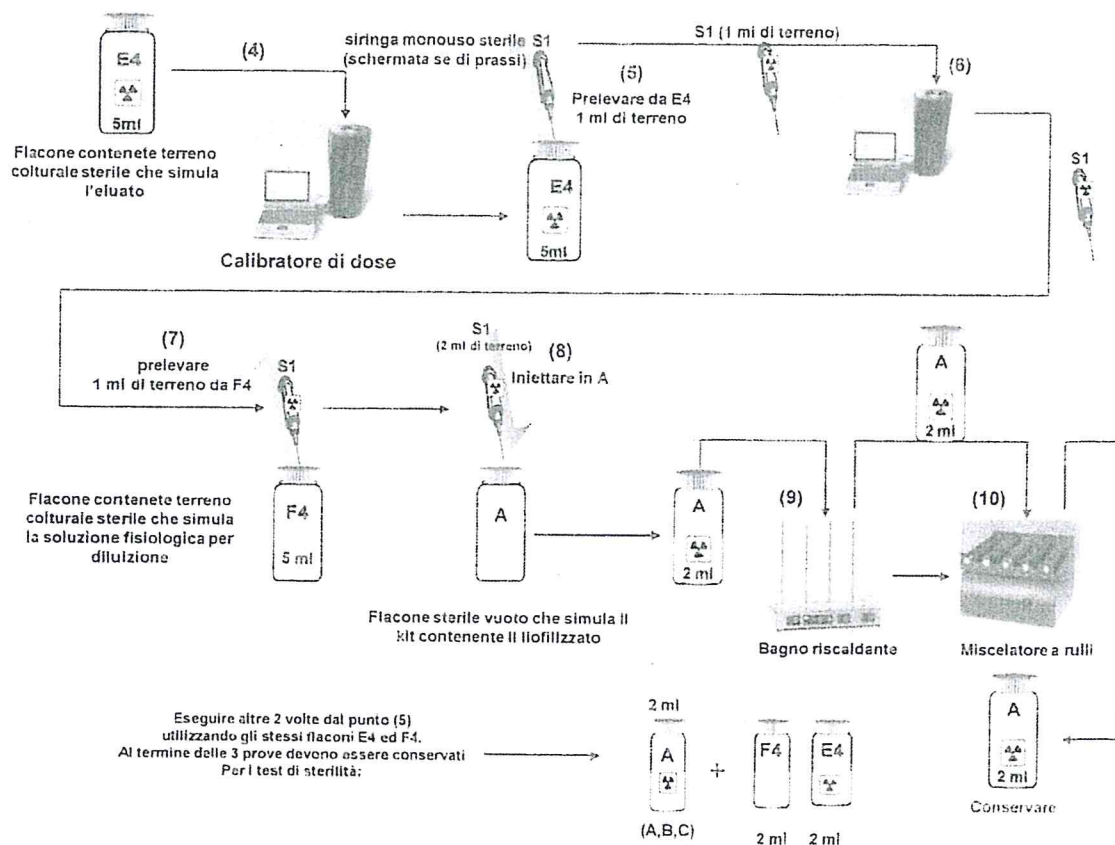


Figura 2

- (4) Utilizzando un nuovo flacone E4 (che simula l'eluato di Tc-99m), contenente SCD quale terreno colturale sterile, simulare il conteggio dell'attività.
- (5) Utilizzando una siringa (S1) sterile monouso da 2,5 o 5 ml (opportunamente schermata, se di prassi) prelevare 1ml di terreno dal flacone E4.
- (6) Simulare il conteggio dell'attività della siringa S1
- (7) Prelevare, con S1, 1 ml di terreno contenuto in F4 simulando così la diluizione dell'eluato. Ora il volume totale di S1 è 2 ml.
- (8) Porre il flacone A in un contenitore schermato e dopo aver rimosso il dischetto di plastica (o di metallo), disinfettare il tappo in gomma ed attendere la completa evaporazione dell'agente disinfettante, prima di introdurre l'ago della siringa S1. Simulare la ricostituzione del flacone A, utilizzando la soluzione contenuta nella siringa S1(2ml).
- (9) Porre il flacone A, nel sistema di riscaldamento utilizzato nella pratica clinica quotidiana (riscaldatore ad acqua, a secco, etc.) per 10', senza accenderlo (simulazione preparazioni a

caldo). Qualora vengano utilizzate particolari modalità di raffreddamento (es: uso di acqua corrente) applicarle ora per 5-10".

(10) Porre il flacone A nell'agitatore (a rulli o altro) per altri 10 min (simulazione preparazioni macroaggregati)

Eseguire il ciclo altre due volte partendo dal punto (5).

Al termine delle 3 sedute di simulazione si ottengono 5 flaconi che vanno conservati per il successivo test di sterilità:

A,B,C: contenenti 2ml di residuo di terreno ciascuno

E4,F4: contenenti 2 ml di terreno ciascuno

4.2.4 Simulazione Frazionamento e Somministrazione

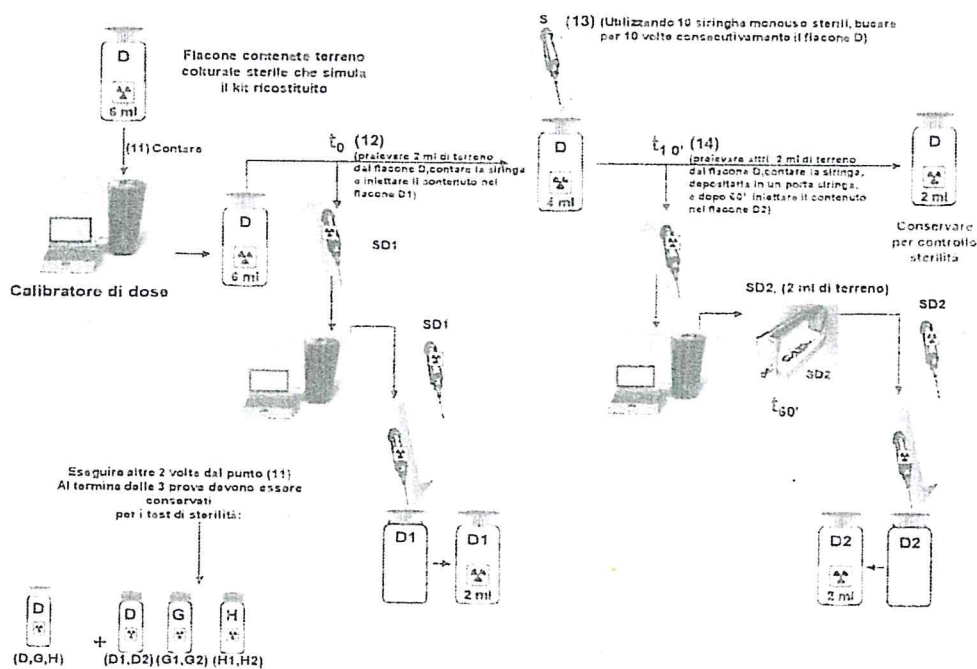


Figura 3

(11) Utilizzando un nuovo flacone D (che simula il kit ricostituito), contenente SCD quale terreno colturale sterile, simulare il conteggio dell'attività. Immediatamente dopo il conteggio riporre il flacone D in un contenitore schermato.

(12) Disinfettare il tappo in gomma del flacone D ed utilizzando una siringa (SD1) sterile monouso da 2,5 o 5 ml (opportunamente schermata, se di prassi) prelevare 2ml di terreno. Simulare il conteggio dell'attività della siringa SD1. Trasferire la siringa SD1 in sala di somministrazione ed iniettare il contenuto della siringa SD1 nel flacone D1 (vuoto) dopo averne disinfettato il tappo in gomma (simulazione paziente).

(13) Utilizzando 10 siringhe monouso sterili simulare 10 prelievi, semplicemente bucando il tappo in gomma opportunamente disinfettato senza eseguire alcun prelievo.

(14) al termine di questa fase disinfettare il tappo in gomma del flacone D ed utilizzando una siringa (SD2) sterile monouso da 2.5 o 5 ml (opportunamente schermata, se di prassi) prelevare 2ml di terreno. Simulare il conteggio dell'attività della siringa SD2. Riporre la siringa nel sistema di trasporto, normalmente utilizzato per il trasferimento in sala iniezione delle dosi da

iniettare e lasciare per 1h (simulazione trasporto e conservazione della dose prima dell'iniezione nel paziente).

Al termine di questa fase iniettare il contenuto della siringa (SD2) nel flacone D2 (vuoto) dopo averne disinfettato il tappo in gomma (simulazione paziente).

Al termine delle 3 sedute di simulazione si ottengono 9 flaconi che vanno conservati per il successivo test di sterilità:

D,G,H: contenenti 2ml di residuo di terreno ciascuno

D1,D2,G1,G2,H1,H2: contenenti 2 ml di terreno ciascuno

4.3 Procedura Mediafill-PK3 EUROFINs

Il kit di Mediafill-PK consente di convalidare il processo asettico per quanto concerne la manualità dell'operatore e le procedure lavorative adottate attraverso la simulazione della preparazione radiofarmaceutica sterile.

4.3.1 Materiale da utilizzare

- N.4 flaconi contenenti 100 ml di terreno colturale TSB (TrypcaseSoy Broth)
- N.15 flaconi da 10 ml sotto vuoto, sterili e apirogeni
- etichette identificativa per flaconi
- foglietto illustrativo
- certificato di conformità dei materiali presenti nel Kit

Le condizioni di stoccaggio del suddetto materiale prevedono una temperatura compresa tra i 2°C e i 24°C.

4.3.2 Modalità di esecuzione del test

1)Etichettare i flaconi come di seguito riportato (figura4):

T1: Flacone contenente 100 ml di terreno TSB – Simula la soluzione fisiologica utilizzata per diluire il radionuclide alla concentrazione richiesta per la ricostituzione del farmaco liofilo.

A1: Flacone contenente 100 ml di terreno TSB utilizzato nella simulazione n.1

A2: Flacone contenente 100 ml di terreno TSB utilizzato nella simulazione n.2 (Presente nel kit PK3)

A3: Flacone contenente 100 ml di terreno TSB utilizzato nella simulazione n.3 (Presente nel kit PK3)

B1: Flacone 10 ml – Simula il flacone contenente il farmaco liofilizzato da marcare nella simulazione n.1

B2: Flacone 10 ml – Simula il flacone contenente il farmaco liofilizzato da marcare nella simulazione n.2 (Presente nel kit PK3)

B3: Flacone 10 ml – Simula il flacone contenente il farmaco liofilizzato da marcare nella simulazione n.3 (Presente nel kit PK3)

C1: Flacone 10 ml- Simula la dose n.1 nella simulazione n.1

C2: Flacone 10 ml- Simula la dose n.2 nella simulazione n.1
 C3: Flacone 10 ml- Simula la dose n.3 nella simulazione n.1
 C4: Flacone 10 ml- Simula la dose n.4 nella simulazione n.1
 Etichettare i restanti 8 flaconi da 10 ml che verranno utilizzati per simulare 4 dosi nella simulazione 2 (C2.1, C2.2, C2.3, C2.4) e 4 dosi nella simulazione 3 (C3.1, C3.2, C3.3, C3.4).

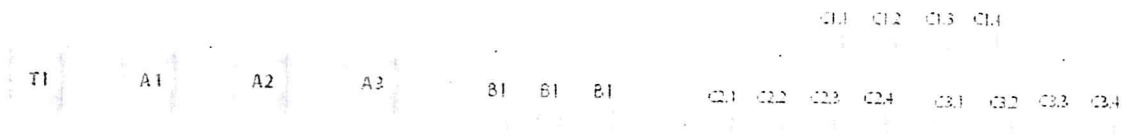


Figura 4

- 2) Introdurre all'interno dell'attrezzatura di lavoro il materiale necessario per eseguire la prima simulazione T1, A1, B1, C1.1, C1.2, C1.3, C1.4.
- 3) Eluire un volume compreso tra 3-5 ml dal generatore decaduto utilizzando un flacone sterile in uso presso la Medicina Nucleare: questo flacone non è compreso nel kit.
- 4) Inserire il flacone di eluato all'interno del calibratore di dose per simulare la fase di misura dell'attività.
- 5) Prelevare con una siringa da 10 ml l'intero volume eluito al punto 4 e misurarla con il calibratore di dose (figura 5).

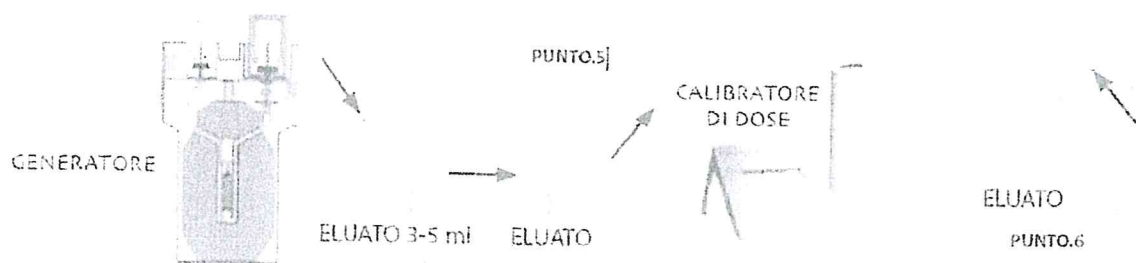


Figura 5

6) Trasferire il volume prelevato (eluato) all'interno del flacone contenente il terreno di coltura precedentemente etichettato come A1 e agitarlo delicatamente al fine di omogeneizzare il contenuto.

7) Con una siringa da 10 ml prelevare circa 5 ml di aria ed inserirli all'interno del flacone A1. Prelevare dallo stesso flacone, senza estrarre l'ago, 5 ml di terreno colturale; simulare la misura di attività inserendo la siringa all'interno del calibratore di dose.

Simulare la diluizione del radionuclide prelevando ulteriori 5 ml di terreno colturale dal flacone T1 portando la siringa a volume di 10 ml.

Viene così simulato il prelievo della quantità di radionuclide necessaria alla preparazione del radiofarmaco dal flacone contenente l'eluato; la quantità prelevata viene portata al volume richiesto dalla preparazione mediante l'utilizzo di soluzione fisiologica qui sostituita dal terreno T1.

8) Trasferire 10 ml di terreno contenuti all'interno della siringa nel flacone B1.

Così si simula la ricostituzione del radiofarmaco liofilizzato contenuto ipoteticamente nel flacone B1 utilizzando il radionuclide a una determinata concentrazione attiva ipoteticamente contenuto all'interno della siringa.

9). Simulare la fase di riscaldamento per non meno di 10 minuti mantenendo l'apparecchiatura ad una temperatura di 20-25°. Simulare la fase di raffreddamento per non meno di 10 minuti senza far scendere la temperatura del terreno colturale al di sotto di 2°C. Simulare la fase di mescolamento per non meno di 10 minuti.

La simulazione di tutte le condizioni richieste per la marcatura del farmaco consente di riscontrare eventuali contaminazioni dovute a procedure di manipolazione non corretta.

10) Frazionare il contenuto del flacone B1 come segue:

- Prelevare 2 ml di terreno dal flacone B1 con una siringa sterile e monouso.
- Misurare l'attività nel calibratore di dose.
- Trasferire il contenuto della siringa nel flacone C1.1.

Ripetere il frazionamento riempiendo così i flaconi C1.2, C1.3, C1.4.

11. Estrarre dall'attrezzatura di lavoro tutto il materiale utilizzato durante la prima simulazione a eccezione del flacone T1 comune alle tre simulazioni.

FINE PRIMA SIMULAZIONE

12) Introdurre all'interno dell'attrezzatura di lavoro il materiale necessario per eseguire la seconda simulazione A2, B2, C2.1, C2.2, C2.3, C2.4.

13) Ripetere le operazioni dal punto 3 al punto 11 per eseguire la seconda simulazione.

14) Introdurre all'interno dell'attrezzatura di lavoro il materiale necessario per la terza simulazione A3, B3, C3.1, C3.2, C3.3, C3.4.

FINE SECONDA SIMULAZIONE

15) Ripetere le operazioni dal punto 3 al punto 11 per eseguire la terza simulazione.

FINE TERZA SIMULAZIONE

4.4 Procedura Mediafill-PE EUROFINS

MEDIAFILL-PE consente di convalidare i processi in asepsi di frazionamento automatico delle dosi di un radiofarmaco (tipicamente FDG). Il kit

4.4.1 Materiale da utilizzare

- N. 1 flacone contenente 100 ml di terreno colturale TSB
 - N. 1 flacone contenente 10 ml di terreno colturale TSB
 - N. 1 flacone vuoto da 10 ml, per consentire la regolazione dell' ago di prelievo
 - N.10 flaconi vuoti da 10 ml sotto vuoto, sterili e apirogeni
 - Etichette identificative per flaconi
 - Foglietto illustrativo
 - Certificato di conformità dei materiali presenti nel Kit
- Le condizioni di stoccaggio del suddetto materiale prevedono una temperatura compresa tra i 2°C e i 24°C.

4.4.2 Modalità di esecuzione del test

1)Etichettare i flaconi come di seguito riportato:

F: Flacone contenente 100 mL di Terreno TSB – Simula la soluzione fisiologica utilizzata per portare a volume la dose di radiofarmaco frazionato

RF: Flacone contenente 10 mL di Terreno TSB - Simula il radiofarmaco da frazionare

D1: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 1

D2: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 2

D3: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 3

D4: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 4

D5: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 5

D6: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 6

D7: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 7

D8: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 8

D9: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n. 9

D10: Flacone vuoto da 10 ml – Simula la dose frazionata n.10

2)Predisporre il frazionatore come nella routine di preparazione, quindi procedere all'installazione del kit monouso. Utilizzare al posto della soluzione fisiologica il flacone di TSB da 100 ml denominato flacone F; lasciare il flacone F agganciato al kit sino al termine della simulazione.

3) Se necessario procedere alla regolazione dell'altezza dell'ago del gruppo di prelievo; a tal fine utilizzare il flacone da 10 ml tappato e ghierato (ghiera rossa) in dotazione con il kit. Per la procedura di regolazione dell'altezza dell'ago si rimanda al manuale d'uso della macchina.

- 4) Predispore il materiale necessario per eseguire la simulazione all'interno del frazionatore di dosi: siringhe monouso e i flaconi D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9 e D10 e dare inizio alla simulazione.
- 5) Introdurre il flacone RF all'interno del contenitore schermante in piombo in cui viene generalmente fornito il radio farmaco e inserirlo all'interno della cella.
- 7) Svitare il contenitore in piombo e inserire la vial RF all'interno del calibratore.
- 8) Inserire la siringa da riempire all'interno della schermatura in piombo ed agganciarla al kit.
- 9) Inserire sul software i dati richiesti (per esempio nome e cognome del paziente, dose ed ora di iniezione) e dare il comando start.
- 10) La siringa da riempire è introdotta nel calibratore di dose.
- 11) Operando con il software in modalità manuale trasferire 1 ml di terreno colturale dal flacone che simula il radiofarmaco (flacone RF o vial madre) alla siringa da riempire mediante pompa peristaltica.
- 12) Procedere simulando la procedura di diluizione della dose trasferita al volume desiderato utilizzando terreno TSB (Flacone F) in sostituzione della soluzione fisiologica, sino al raggiungimento di un volume finale di 2 ml all'interno della siringa.
- 14) Al termine del riempimento la siringa contenente 2 ml di terreno nutritivo può essere sganciata dal kit.
- 15) Procedere all'inserimento dell'ago sulla siringa.
- 16) Trasferire i 2 ml di soluzione (simula la dose per il paziente 1) all'interno del flacone D1.
- 17) Ripetere le operazioni dal punto 8 al 15. Trasferire i 2 ml di soluzione (simula la dose per il paziente 2) all'interno del flacone D2.
- 18) Trasferire i 2 ml di soluzione (simula la dose per il paziente 2) all'interno del flacone D2.
- 19) Si procede così come indicato al punto 17 riempiendo i flaconi D3, D4, D5, D7, D8, D9 e D10.
- 20) Estrarre dall'area di lavoro tutto il materiale utilizzato durante la simulazione.

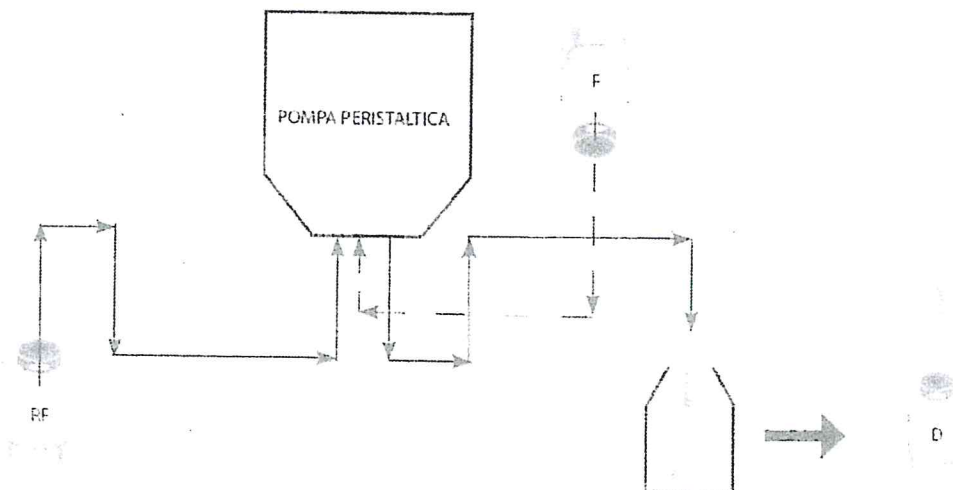


Figura 5

5 **DEFINIZIONI E ACRONIMI**

Non applicabile

6 **RIFERIMENTI**

Norme di Buona Preparazione dei Radiofarmaci per Medicina Nucleare (GU 21 luglio 2005)

Simulazione del processo di produzione dei prodotti sterili ripartiti in asepsi (Media Fill), pag 56-79, cap 3, Buone pratiche di fabbricazione

FDA Guidance for Industry, Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – September 2004

Farmacopea Italiana XII edizione cap.2.6. – Saggi biologici

Manufacture of Sterile Medicinal Products – Annex 1 – 01 March 2009

Procedura di convalida microbiologica delle preparazioni radio farmaceutiche

7 **ALLEGATI**

MOS-012

MOS-013

MOS-014

8 **LISTA DI DISTRIBUZIONE**

Responsabile generale, TSRM.