

16. Phan Thị Hòa (2007), “Hiệu quả giảm đau sản khoa bằng gây tê ngoài màng cứng tại khoa sản bệnh viện đa khoa Bình Dương”, *Luận văn chuyên khoa II*, Chuyên ngành Sản Phụ Khoa, Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.
17. Rahm V. A., Hallgren A., et al. (2002), “Plasma oxytocin levels in women during labor with or without epidural analgesia: a prospective study.”, *Acta Obstet Gynecol Scand*, 81(11), pp. 1033 - 1039.
18. Ranta P. (1996), “The intensity of labor pain in grand multiparas”, *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 75(3), pp 250 - 254: 250 - 254.
19. Sartore A., Pregazzi R., et al. (2003), “Effects of epidural analgesia during labor on pelvic floor function after vaginal delivery.”, *Acta Obstet Gynecol Scand*, 82(2), pp. 143 - 146.
20. Smiley R. M., Stephenson L. (2007), “Patient-controlled epidural analgesia for labor.”, *Int Anesthesiol Clin*, 45(1), pp. 83 - 98.
21. Tô Văn Thịnh, Champagne C. (1992), *Gây mê và hồi sức sản khoa*, Nhà xuất bản Lao động, Thành phố Hồ Chí Minh.
22. Trần Thanh Sang (2008), “Ảnh hưởng của thuốc giảm đau bằng phương pháp gây tê ngoài màng cứng trong chuyển dạ trên tình trạng sức khỏe của trẻ sơ sinh”, *Luận văn chuyên khoa II*, Chuyên ngành Nhi sơ sinh, Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.
23. Wang F., Shen X., et al. (2009), “Epidural analgesia in the latent phase of labor and the risk of cesarean delivery: a five-year randomized controlled trial.”, *Anesthesiology*, 111(4), pp. 871 - 880.

## NGHIÊN CỨU CÁC THÔNG SỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH THẨM ĐỊNH HIỆU LỰC PHƯƠNG PHÁP TIẾT KHUẨN

*Trương Văn Đạt, Đỗ Quang Dương, Huỳnh Văn Hóa*  
*Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh*

### Tóm tắt:

**Đặt vấn đề:** Vô khuẩn là yêu cầu bắt buộc cho tất cả các sản phẩm thuốc vô khuẩn vì vậy chúng phải được tiết khuẩn bằng những quy trình đã được thẩm định. Chứng minh hiệu lực của một quy trình tiết khuẩn không chỉ dựa vào kết quả của phép thử vô khuẩn trên sản phẩm mà còn phải tính toán nhiều thông số khác. Tính được giá trị SAL sẽ giúp đảm bảo hiệu lực của quy trình tiết khuẩn và tiết kiệm thời gian thực hiện. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu các thông số ảnh hưởng đến quá trình thẩm định hiệu lực phương pháp tiết khuẩn. Dựa vào kết quả khảo sát quy trình thẩm định tại 13 nhà máy có sản xuất thuốc vô khuẩn để đưa ra các thông số ảnh hưởng đến kết quả thẩm định, đối chiếu với các tiêu chuẩn của ISO, dược điển Mỹ,... để tìm ra công thức tính toán. **Kết quả:** Đã xác định được các thông số ảnh hưởng đến quá trình thẩm định hiệu lực phương pháp tiết khuẩn và công thức tính toán các thông số này. **Kết luận:** Giá trị D, F, Z, SLR, SAL là những thông số quan trọng cần phải được xác định trong quá trình thẩm định hiệu lực phương pháp tiết khuẩn.

**Từ khóa:** Giá trị D, giá trị F, giá trị Z, thuốc vô khuẩn, tiết khuẩn, chỉ thị sinh học, thẩm định quy trình.

## Abstract:

# STUDYING THE PARAMETERS THAT AFFECT THE EFFICIENCY OF THE STERILIZATION PROCESS VALIDATION

Truong Van Dat, Do Quang Duong, Huynh Van Hoa  
Faculty of Pharmacy, Ho Chi Minh City University of Medicine and Pharmacy

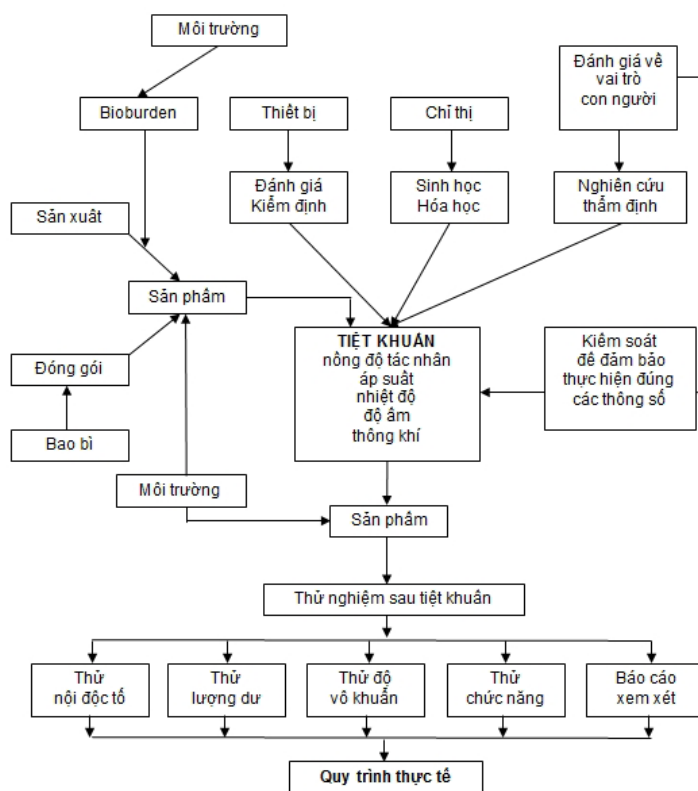
**Background:** Sterility is required for sterile drug products so they must be sterilized by the sterilization process has been validated. Demonstrating the efficiency of the sterilization process can not only base on the results of sterility tests but also must calculate many other parameters. Calculating SAL will increase the assurance, the efficiency of the sterilization process and save execution time. **Materials and methods:** Studying the parameters that affect the efficiency of the sterilization process validation. Basing on survey results process validation at 13 pharmaceutical factories having chains of sterile drugs to identify the parameters that affect the result validation and compare with ISO standards, USP,... to find the calculation formula. **Results:** Identified the parameters that affect the efficiency of the sterilization process validation and fomular to calculate these parameters. **Conclusion:** D, F, Z, SLR, SAL values are the important parameters that are determined in the efficiency of the sterilization process validation.

**Keywords:** D value, F value, Z value, Sterile drug, Sterilization, Biological indicator, process validation.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sản xuất các dạng thuốc vô khuẩn qua rất nhiều công đoạn và mỗi một quá trình đều phải được kiểm soát bằng các thông số chặt chẽ, mỗi thiết bị phải được thẩm định để chứng hiệu năng hoạt động (Hình 1). Trong tất cả các yêu cầu của thẩm định thì yêu cầu vô khuẩn là tiêu chí quan trọng và khó thực hiện nhất. Vô khuẩn là giá trị mang tính tuyệt đối bởi vì chỉ có thể kết luận sản phẩm thuốc hoặc là vô khuẩn hoặc là không. Trong sản xuất, người ta yêu cầu cấp độ đảm bảo vô khuẩn (Sterile Assurance Level)  $SAL = 10^{-6}$ , tức là trong  $10^6$  sản phẩm được tiệt khuẩn chỉ cho phép tối đa 01 sản phẩm bị nhiễm khuẩn [1, 8].

Bài báo này giới thiệu ý nghĩa, vai trò của các thông số quan trọng trong quá trình thẩm định hiệu lực quy trình tiệt khuẩn: hệ số tiệt khuẩn D, giá trị Z, giá trị F, giá trị SLR và giá trị SAL.



Hình 1. Hệ thống thẩm định quy trình tiệt khuẩn [2]

## 2. PHƯƠNG PHÁP VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Tiến hành khảo sát trên 13 nhà máy có dây chuyền sản xuất thuốc vô khuẩn để tìm

ra những quy trình thẩm định chưa được triển khai hoặc chỉ mới được triển khai ở mức cơ bản, từ đó tìm ra các thông số ảnh hưởng đến quá trình thẩm định hiệu lực quy trình tiệt khuẩn. Dựa vào các tài liệu đã công bố, các tiêu chuẩn ISO, được điển Mỹ,... nghiên cứu xây dựng công thức tính toán các thông số trong quá trình thẩm định hiệu lực quy trình tiệt khuẩn: hệ số tiệt khuẩn D, giá trị Z, giá trị F, giá trị SLR và giá trị SAL [3].

### 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Hệ số tiệt khuẩn D

Hiệu quả của mỗi phương pháp tiệt khuẩn đối với một chủng vi sinh vật đặc hiệu có thể được đánh giá qua tỷ lệ chết của vi sinh vật hay bằng đường cong sống sót, biểu diễn bằng logarit số vi sinh vật theo thời gian tiệt khuẩn.

Hệ số tiệt khuẩn D biểu thị tỷ lệ giết chết vi khuẩn của một phương pháp tiệt khuẩn cụ thể. D được định nghĩa là thời gian tiệt khuẩn cần thiết (tính bằng phút) ở một nhiệt độ xác định để làm giảm 90% số lượng vi khuẩn ban đầu  $N_0$  hay nói theo cách khác là đem tỷ lệ vi khuẩn sống sót còn 1/10 số lượng ban đầu hoặc là làm giảm một đơn vị logarit của lượng vi khuẩn hiện diện [1,7].

D thay đổi theo: chủng vi khuẩn sử dụng làm chỉ thị sinh học (CTSH), thành phần công thức và đặc tính của thuốc; bề mặt trên đó vi khuẩn chịu tác động và nhiệt độ tiệt khuẩn [1,7].

Giá trị D quan trọng vì đó là một thông số động học đặc biệt cho mỗi loại vi khuẩn trong môi trường tiệt khuẩn, D cho phép dự đoán số đơn vị logarit sẽ giảm của một lượng vi khuẩn ban đầu đến một giá trị thu gọn xác định tương ứng với một thời gian tiệt khuẩn nhất định và từ D có thể tính được giá trị Z, tiếp theo tính F và xác suất không vô khuẩn [1,4,5,6,7].

Việc tính toán giá trị D dựa vào 2 phương pháp: phương pháp đường cong sống sót hoặc phương pháp tính tỷ lệ vi sinh vật không tăng trưởng (fraction - negative) [1,7].

Phương pháp tính tỷ lệ vi sinh vật không tăng trưởng thường được áp dụng nhất: cho các CTSH vào mẫu sản phẩm chứa trong bao bì đã kiểm tra tính vô khuẩn, đem hấp tiệt

khuẩn ở nhiệt độ xác định trong các khoảng thời gian khác nhau, tính tỷ lệ của các mẫu không có sự tăng trưởng. Tính hệ số tiệt khuẩn D theo công thức: [1,6]

$$D_T = \frac{U}{\log A - \log B}$$

Trong đó: U = thời gian chịu nhiệt ở nhiệt độ quy định.

A = số vi sinh vật ban đầu trong mỗi mẫu tự tạo

$$B = 2,303 \log(n/r)$$

Với n = tổng số mẫu tự tạo

r = số mẫu tự tạo không có sự tăng trưởng

Giá trị D là trung bình của các giá trị  $D_T$  tại các khoảng thời gian tiệt khuẩn khác nhau.

Việc thẩm định tính vô khuẩn đối với một thuốc phải ghi kèm theo giá trị D đặc trưng đối với vi sinh vật gần giống với vi sinh vật có thể nhiễm vào thuốc hay đối với loại vi sinh vật đề kháng nhất đối với phương pháp tiệt khuẩn được chọn.

#### 3.2. Giá trị Z

Giá trị Z là giá trị gia tăng nhiệt độ để làm giảm được 1/10 trị số D tức 01 đơn vị logarit của giá trị D [1,7].

Ví dụ, đối với CTSH là bào tử *Bacillus stearothermophilus*, khi tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm từ 100-130°C, giá trị của Z bằng khoảng 10°C [4,5,6].

Để tính toán giá trị Z phải tính 3 giá trị D ở 3 nhiệt độ khác nhau. Trong thực nghiệm thường xác định D ở 3 nhiệt độ là 108°C, 115°C, và 121°C [1,7].

Giá trị Z được tính theo công thức sau [1,7]:

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

Trong đó  $T_1$  = nhiệt độ lúc đầu

$T_2$  = nhiệt độ gia tăng lúc sau

$D_1$  = giá trị D ở nhiệt độ  $T_1$

$D_2$  = giá trị D ở nhiệt độ  $T_2$

Giá trị Z và giá trị D cho phép tính F và xác suất không vô khuẩn để biết ngưỡng an toàn của sản phẩm về mặt vi sinh.

#### 3.3. Giá trị $F_0$ và F

Giá trị F biểu thị hiệu quả gây chết của quy trình tiệt khuẩn ở một nhiệt độ thay đổi T khi so sánh với quy trình tiệt khuẩn lý

thuyết được tiến hành ở một nhiệt độ hằng định  $T_0$  (thường chọn  $T_0 = 121^\circ\text{C}$ ) trong thời gian  $t_0$  phút [1,7].

Giá trị  $F_T$  còn gọi là thời gian chịu nhiệt tương đương, thể hiện thời gian tiệt khuẩn (được tính bằng phút) cần thiết để diệt vi sinh vật ở một nhiệt độ khác  $121^\circ\text{C}$  và đạt hiệu quả tương đương như khi tiệt khuẩn ở nhiệt độ  $121^\circ\text{C}$  trong thời gian quy định.

$F_T$  thể hiện hiệu quả của một phương pháp tiệt khuẩn ở nhiệt độ  $T$  đối với một chủng vi sinh vật có giá trị  $D_T$  đã biết.

Trong thực nghiệm,  $F_T$  được tính theo công thức [1,7]:

$$F_T^Z = \Delta t \sum_{t=0}^n 10^{\frac{T-T_0}{Z}}$$

Trong đó :  $\Delta t$  = khoảng thời gian giữa 2 lần đo nhiệt độ liên tiếp

$T$  = nhiệt độ ghi nhận trong sản phẩm

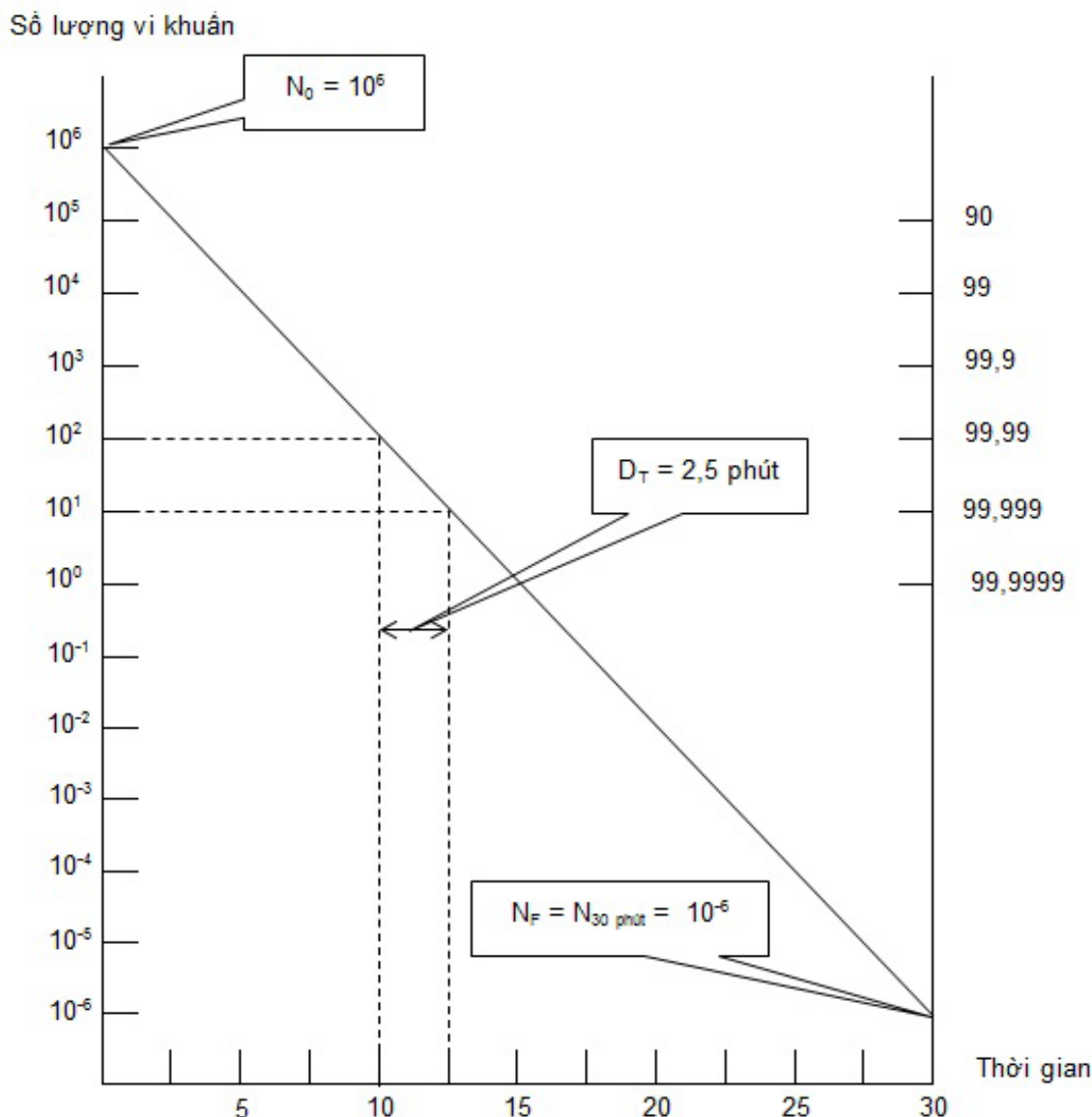
$T_0$  = nhiệt độ tham chiếu. Ví dụ  $T_0 = 121^\circ\text{C}$  trong phương pháp tiệt khuẩn bằng hơi nước

$Z$  = giá trị  $Z$  ở nhiệt độ  $T$

Ngoài ra,  $F_T$  còn được tính theo công thức [1, 7]:

$$F_T^Z = \frac{F_0}{10^{\frac{T-121}{Z}}}$$

Khi  $T_0 = 121^\circ\text{C}$  và  $Z = 10^\circ\text{C}$ , giá trị  $F_T$  khi đó được gọi là  $F_0$  [7].



**Hình 2.** Đồ thị biểu diễn sự giảm số lượng vi khuẩn theo thời gian tiệt khuẩn

Trong thẩm định quy trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm, giá trị  $F_0 = 8$  (phút) được xem như là giá trị tối thiểu chấp nhận [8].

Hình 2 cho thấy khi lượng vi khuẩn ban đầu là  $N_0 = 10^6$ , với  $D_T = 2,5$  phút thì sau thời gian 30 phút, lượng vi khuẩn  $N_F$  còn lại là  $10^{-6}$ .

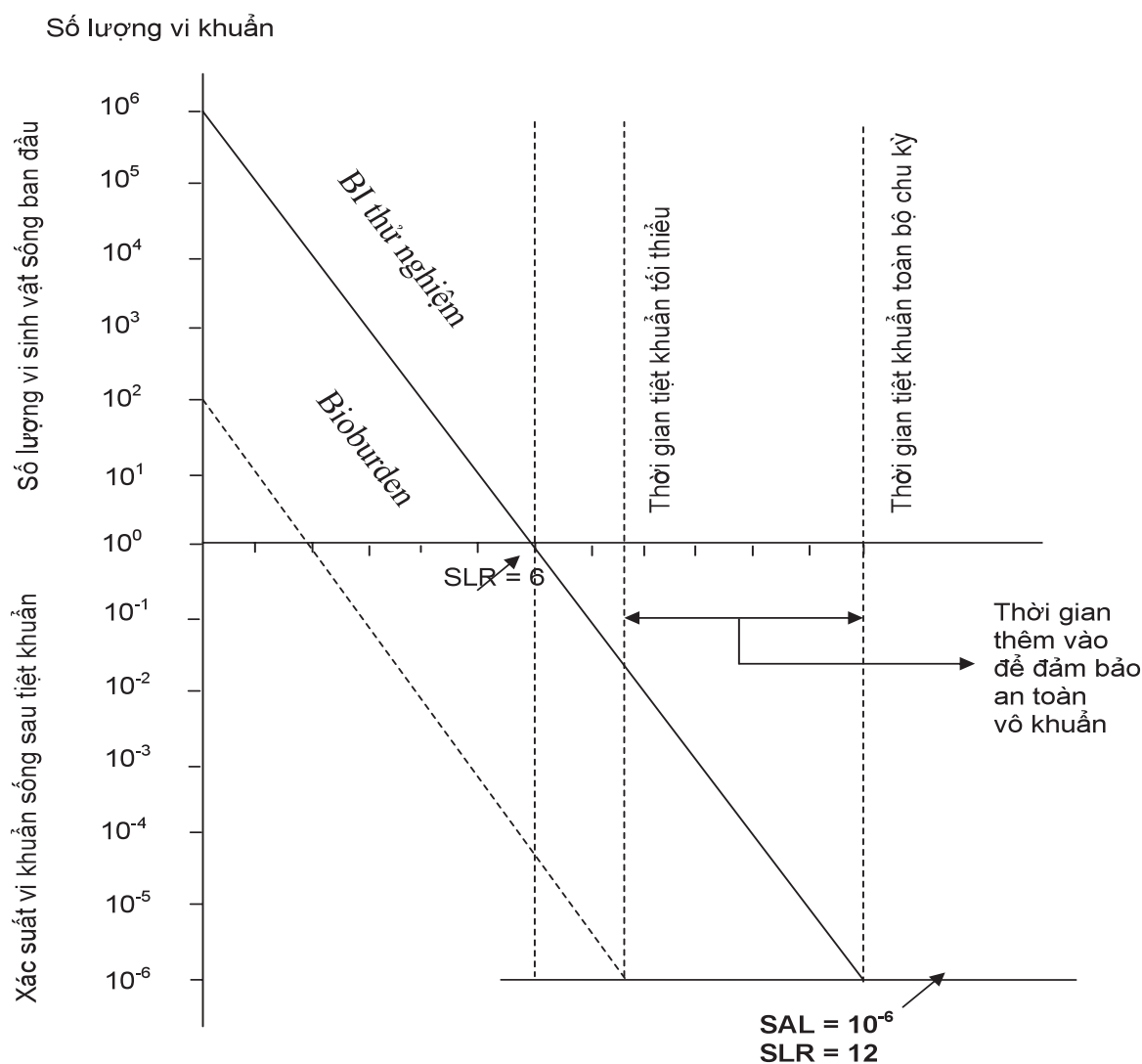
### 3.4. SAL (Sterile Assurance Level)

SAL là giá trị thể hiện cấp độ đảm bảo vô

khuẩn, trong sản xuất người ta yêu cầu  $SAL = 10^{-6}$ , tức là trong  $10^6$  sản phẩm được tiệt khuẩn chỉ chấp nhận tối đa 01 sản phẩm bị nhiễm khuẩn (một phần triệu) [4,5,6].

### 3.5. SLR (Spore Log Reduction)

SLR là giá trị thể hiện sự giảm bào tử vi khuẩn theo hàm logarit so với lượng bào tử ban đầu  $N_0$ . Khi  $SLR = 12$ , khi đó  $SAL = 10^{-6}$  [4,5,6].



**Hình 3.** Đồ thị thể hiện mối liên quan giữa CTSH và Bioburden

Lượng CTSH sử dụng trong thẩm định hiệu lực phương pháp tiệt khuẩn phải lớn hơn lượng Bioburden (*số lượng và chủng loại vi sinh vật hiện diện trên nguyên liệu trước khi đưa vào quy trình tiệt khuẩn*). Thời gian tối thiểu của một quy trình tiệt khuẩn được định nghĩa là thời gian làm cho xác suất Bioburden còn lại là  $10^{-6}$ , nhưng để

đảm bảo cấp độ an toàn vô khuẩn cho sản phẩm, thời gian tiệt khuẩn cho toàn bộ quy trình là thời gian làm lượng CTSH giảm còn  $10^{-6}$ , tức là  $SAL = 10^{-6}$  và giá trị  $SLR = 12$  (Hình 3).

Việc tính toán các giá trị SAL và SLR là tùy thuộc vào từng phương pháp tiệt khuẩn cụ thể.

#### 4. KẾT LUẬN

Thẩm định hiệu lực phương pháp tiệt khuẩn không thể chỉ căn cứ vào kết quả thử độ vô khuẩn trên sản phẩm mà cần phải được thể hiện qua các con số cụ thể. Việc tính toán các thông số: hệ số tiệt khuẩn D, giá trị F, giá

trị Z mà đặc biệt là giá trị SLR và giá trị SAL góp phần quan trọng chứng minh hiệu lực của một quy trình tiệt khuẩn. Kết quả nghiên cứu là tài liệu tham khảo hữu ích cho các nhà máy có dây chuyền sản xuất thuốc vô khuẩn nhằm đảm bảo chất lượng sản phẩm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alfred H. Wachter, Robert A. Nash (2003), *Pharmaceutical Process Validation: An International 3rd edition, Revised and Expanded*, Marcel Dekker, Inc., USA, pp. 83-158.
2. Booth, Anne F. (2000), *Sterilization Validation & Routine Operation Handbook: Ethylene Oxide*, Taylor & Francis Group, USA, pp. 13-17.
3. Trương Văn Đạt, Đỗ Quang Dương, Huỳnh Văn Hóa (2012), Xây dựng CD-ROM cơ sở dữ liệu các quy trình thao tác chuẩn phục vụ cho việc thẩm định sản xuất thuốc vô khuẩn, *Tạp chí Y học Tp. HCM*, **16** (1), 207-211.
4. ISO 13408-1-1998 (1998), *Aseptic processing of health care products*.
5. ISO 13408-2-2003 (2003), *Aseptic processing of health care products*.
6. ISO 13408-4-2005 (2005), *Aseptic processing of health care products*.
7. James Agalloco, Frederick J. Carleton (2008), *Validation of pharmaceutical processes 3<sup>rd</sup> edi.*, Informa Healthcare USA, Inc., USA, pp. 159-186.
8. WHO (2011), *WHO Technical Report Series 961: WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products*, WHO press, Switzerland, pp. 273-274.

## CHIẾT XUẤT, PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MADECASSOID TỪ RAU MÁ (*Centella asiatica* (L.) Urb.-Apiaceae)

Nguyễn Thị Hoài, Lê Thị Diễm Phúc  
Khoa Dược - Trường Đại học Y Dược Huế

#### Tóm tắt:

**Đặt vấn đề:** Nghiên cứu chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hoá học hợp chất saponin chiết xuất từ Rau má *Centella asiatica* (L.) Urb. – Apiaceae. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Rau má được thu hái tại Huyện Quảng Điền - Tỉnh Thừa Thiên Huế. Chiết xuất phân lập bằng phương pháp sắc ký phối hợp. Xác định cấu trúc căn cứ vào tính chất vật lý và các số liệu phổ của hợp chất phân lập được. **Kết quả:** Từ loài Rau má - *Centella asiatica* (L.) Urb. - Apiaceae thu hái ở Quảng Điền - Thừa Thiên Huế đã phân lập được 1 chất tinh khiết. Căn cứ vào phổ NMR đã nhận dạng hợp chất này là madecassoid.

#### Abstract:

#### EXTRACTION, ISOLATION AND STRUCTURE DETERMINATION OF MADECASSOID FROM *CENTELLA ASIATICA*

Nguyen Thi Hoai, Le Thi Diem Phuc  
Faculty of Pharmacy Hue University of Medicine and Pharmacy

**Background:** Research on extraction, isolation and structural determination of a chemical