

Sterilizáció szabályozása

Esettanulmányok a gyógyszeriparból

Bevezetés

Tiszta kultúra: kizárólag a számunkra kívánatos mikroorganizmus van jelen

Probléma: az idegen mikroorganizmussal való befertőződés komoly veszteségeket okoz:

- Idő
- Pénz
- Produktivitás

Tradicionális fermentációs technikáknál több odafigyelést igényel

Megoldás: sterilizáció nagyon pontos szabályozása, kézbentartása

Helyes technológia kialakítás optimális sterilizálhatóság érdekében:

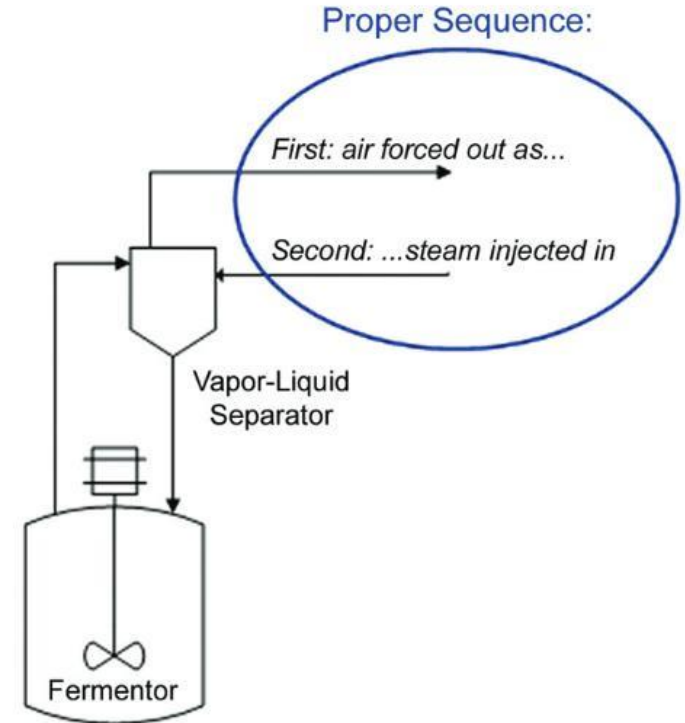
- a steril határokon belül minden pontban gyorsan felmelegíthető legyen a rendszer 121,1 °C-ra
- kondenzvíz elfolyását biztosítani kell: minden sterilizálási ciklus után keletkezik, a rendszert úgy kell megtervezni hogy összegyűlhessen egy alacsony ponton ahová gőzcsapdát is szereltünk
- könnyű levegőmozgatás biztosítása: a sterilizálás során a levegőt mindenhol telített gőzre kell tudnunk cserélni
 - levegő elszívása vákuummal
 - kiszorítás gőzzel
- kondenzáló gőz miatt keletkező vákuum steril levegővel való pótlása

1. eset:

Probléma:

Sorozatosan ismétlődő befertőződés;
összefüggést mutat a fermentor
kihabzásával

A SIP dinamikája változott az elmúlt
hetekben: egyre nagyobb nyomás mellett
érte el a sterilizálási hőmérsékletet



(Not) Hot Pockets

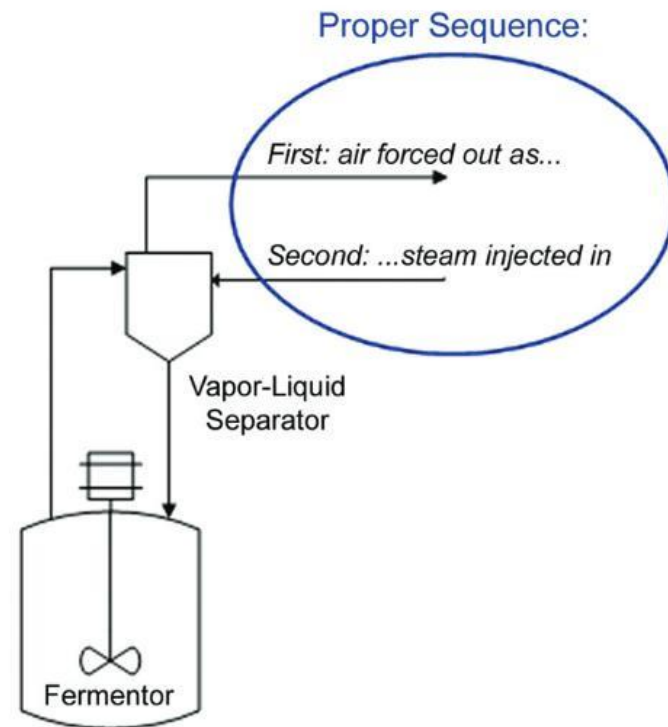
A probléma forrása:

A SIP automatikájának átállítása kis mértékben megváltoztatta a sterilizáció programját

↓
Készt a gőz betáplálása a fermentor fölött elhelyezett gáz-folyadék szeparátorba (VLC).

↓
A levegő csapdába került a szeparátorban, felhígította a sterilizáló gőzt, nem érte el a megfelelő hőmérsékletet, idegen mikroorganizmusok telepedtek meg benne

↓
Ha habzás vagy egyéb ok miatt megemelkedett a szint és elérte ezeket a területeket, visszafolyva befertőzte a fermentort



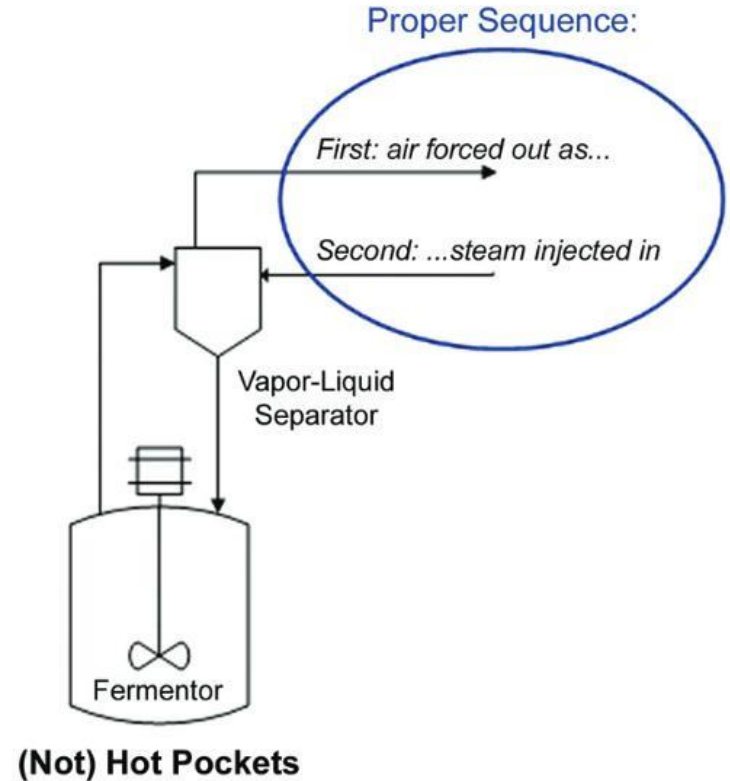
(Not) Hot Pockets

Tanulságok:

Ártalmatlannak tűnő apró változtatások is felboríthatják a sterilizálási ciklust

A nyomás emelkedését nem szabadott volna figyelmen kívül hagyni

A műszerek azt jelezték, mindenhol elérte a sterilizálási hőmérsékletet a rendszer: nem szabad feltétel nélkül elhinni!



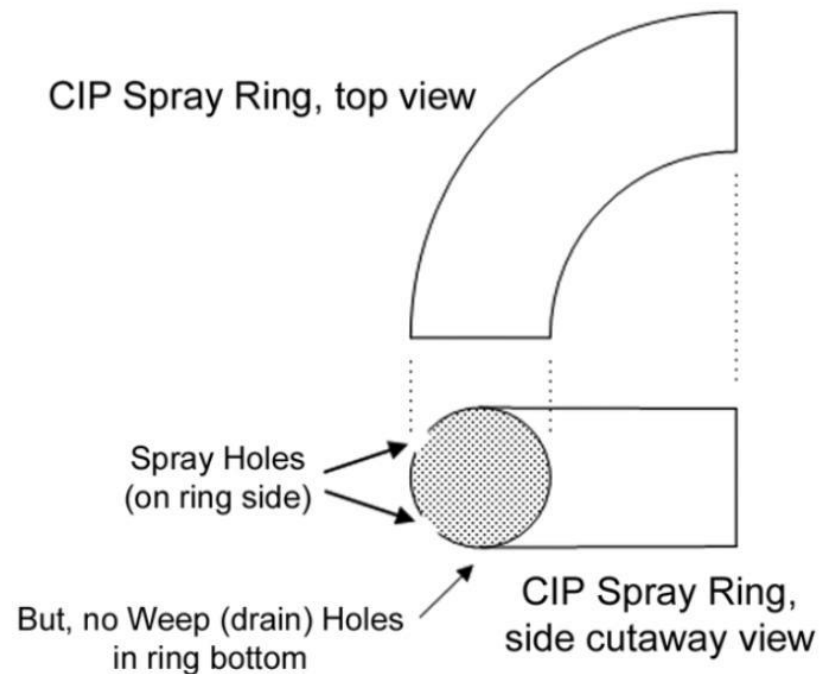
2. eset:

Probléma:

A fermentor időnként idegen mikroorganizmussal fertőződött be, különösen szintemelkedés vagy kihabzás esetén.

A szennyezés forrásának vizsgálata nem tárt fel semmilyen problémát a steril határokon belül egy apróságtól eltekintve: a gáz-folyadék szeparátor tetejéről a szigetelés javítás miatt el lett távolítva.

Visszahelyezése csökkentette a befertőződés gyakoriságát, de nem szüntette meg teljesen.



A probléma forrása:

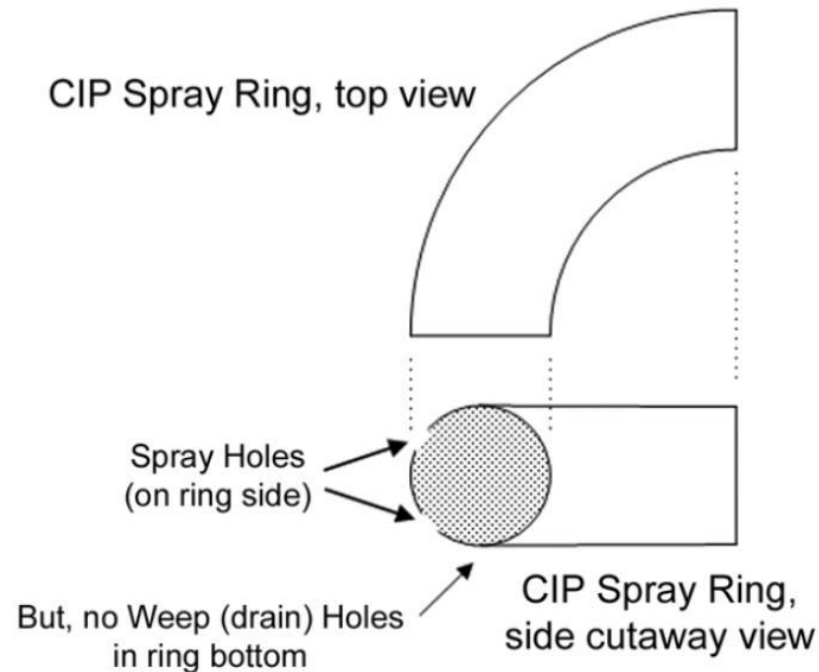
A gáz-folyadék szeparátorban volt egy helyi tisztító (CIP) permetező gyűrű, amiben a lyukak a gyűrű oldalára voltak fúrva, nem az aljára.



A gyűrű alján mindig maradt egy stagnáló folyadékréteg, ahol idegen mikrobák megtelepedtek meg.



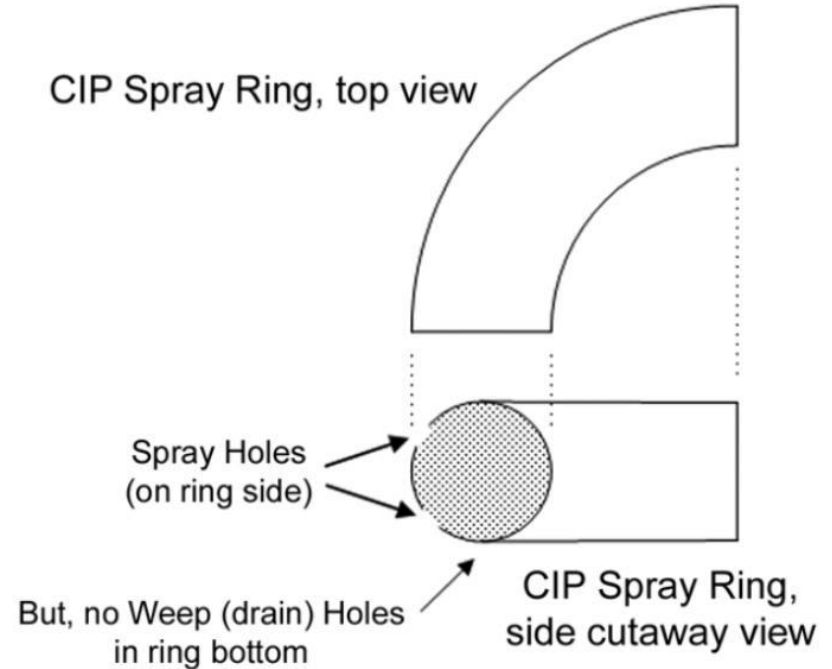
Amikor a fermentor szintje magas volt, vagy kihabzás lépett fel a rendszerben, visszamosódott a főreaktorba az idegen mikroba szennyezés.



Tanulságok:

A CIP gyűrű kialakítása nem volt elég jó a fermentáció aszeptikus körülményeinek biztosítására.

Hiába sterilizték megfelelően a VLS felületét, a stagnáló folyadékban az idegen mikrobák életben maradtak

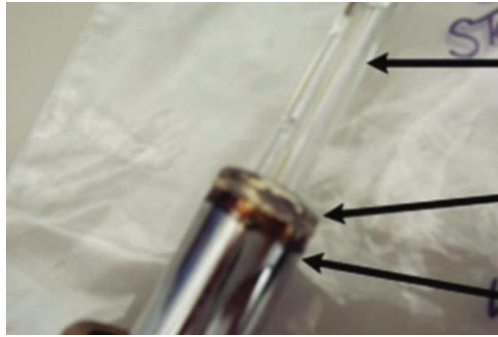


Sterilitás határa: Az a pont a rendszerben, ameddig a sterilizálást végezzük.

Minden átlépés ezen a határon potenciálisan befertőződéshez vezethet:

- rések, lyukak keletkezése a berendezéseken
 - Hegesztések: nem megfelelő kivitelezésük esetén nagyobb zsebek, hullámok keletkezhetnek, amik gócpontjául szolgálhatnak korrózióknak.
- rosszul záródó, eresztő szelepek
- könnyen károsodó elemek rendszeres cseréjének elmulasztása

Az induláskor megfelelően validált rendszerekben is felléphetnek fertőzések nem megfelelő karbantartás esetén.



pH Probe

Silicone o-ring

Media Residue behind
o-ring (non-axenic)

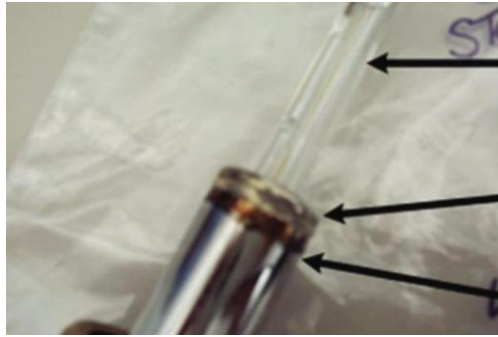
3. eset:

Probléma:

Egy új, a lehető legkorszerűbb létesítményben nem sokkal az indulás után sorozatosan befertőződött az egyik bioreaktor.

Mintákat vettek a reaktor felületeiről, hogy kiderítsék hol telepednek meg az idegen mikroorganizmusok.

A pH mérőről vett minta alapján kiderült, hogy a fertőzés annak szilikon tömítőgyűrűjéről ered, esszenciálisan a steril határokon kívül.



← pH Probe

← Silicone o-ring

← Media Residue behind
o-ring (non-axenic)

A probléma forrása:

A pH mérő körüli szilikon tömítő gyűrűn volt egy kis deformáció, ami lehetővé tette hogy a fermentlé kilépjen a steril határokon kívülre.

A kiszivárgó médium kiváló megtelepedést biztosított az idegen mikroorganizmusoknak a sterilitás határán kívül, ami visszajutva befertőzte a bioreaktort.

Tanulság:

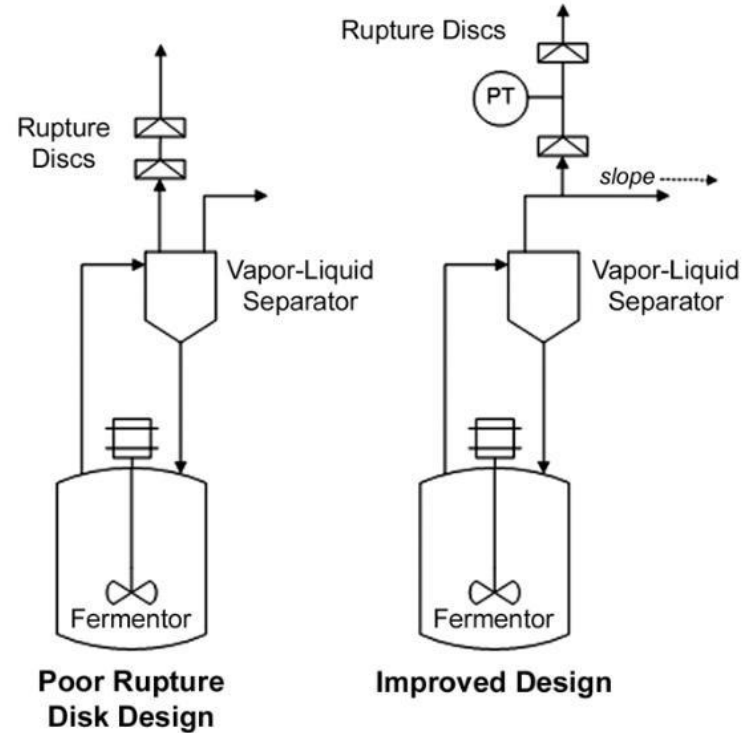
A tömítőgyűrűt rendszeresen cserélni kell, és optimalizálni a kialakítást, hogy a SIP ciklus ne károsítsa az anyagát.

4. eset:

Probléma:

Rendszeres befertőződés lépett fel az egyik fermentorban, amely két hasadómembránnal volt összeköttetésben a gáz-folyadék szeparátoron keresztül.

A hasadómembránok arra szolgáltak hogy jelezzék ha hirtelen túlságosan megnövekedik a nyomás a reaktorban, és nem voltak rajtuk szemmel látható sérülések.



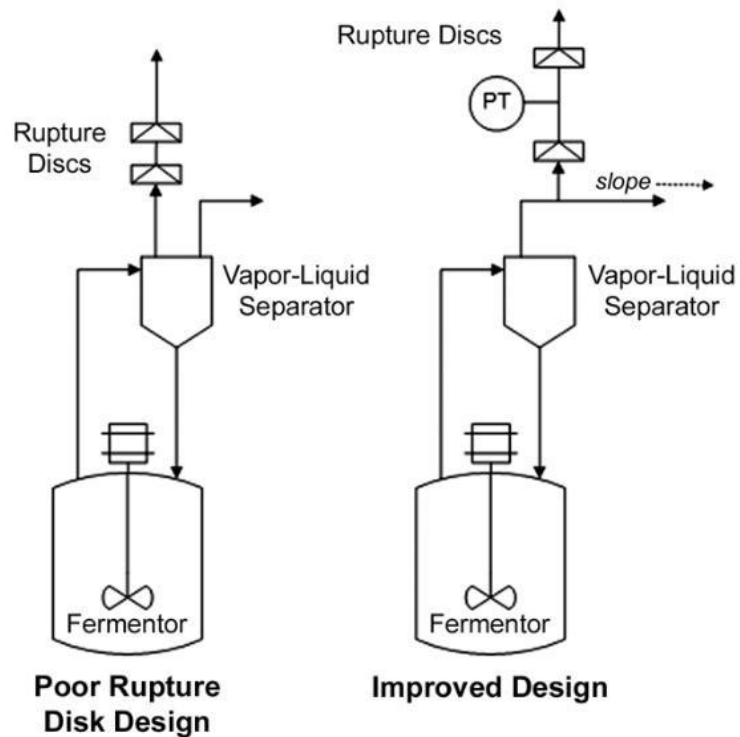
A probléma forrása:

Az évek alatt mindkét hasadómembránon kis, tűhegynyi rések keletkeztek, és rajtuk keresztül idegen mikroorganizmusok jutottak be a fermentorba.

A membránok két rozsdamentes acél gyűrű közé voltak befogva, melyek a membránon keresztül voltak összeerősítve.

Ahogy egyre több SIP ciklus ment le az évek során, a felhevülő acél és a membrán érintkezésénél kis lyukak keletkeztek.

A hasadómembránok elhelyezése sem volt szerencsés, közvetlenül be tudott jutni a szennyezés a fermentorba.

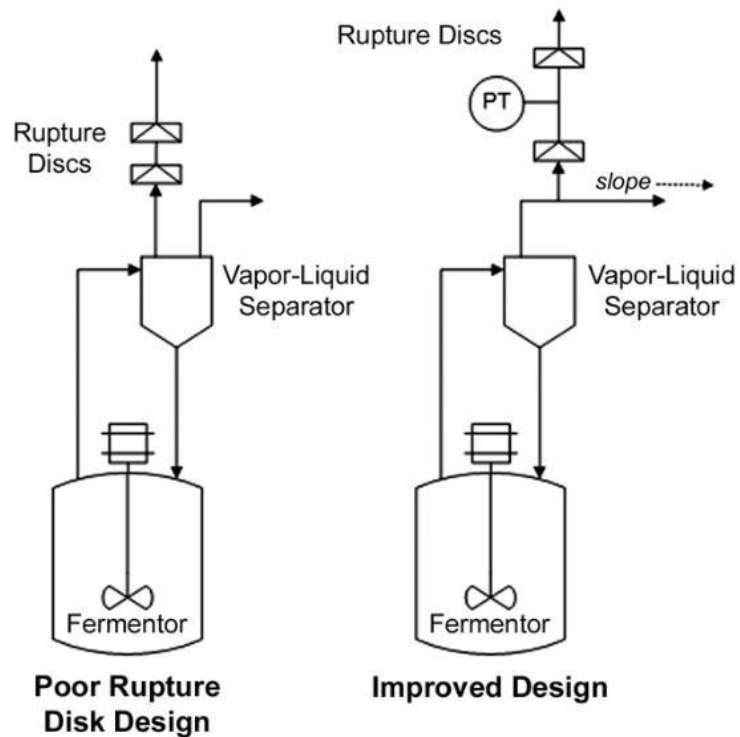


Megoldások:

Új kialakítást dolgoztak ki, ahol egyetlen rozsdamentes acéldarabba volt befogva a membrán, hogy kevésbé károsodhasson a SIP ciklusok során

Úgy helyezték el a hasadó membránokat, hogy ne legyenek közvetlen összeköttetésben a fermentorral

Nyomás távadót helyeztek a két hasadó membrán közé, hogy jelezze a nyomásváltozás alapján, ha valamelyik membránon rések keletkeznek



5. eset:

Probléma:

Egy nagy, régi, "megörökölt" fermentor rendszeres időközönként befertőződött.

Az ok kivizsgálása során átfogóan ellenőrizték, hogy nem történt-e valahol károsodás a berendezésekben, ami a az idegen mikroorganizmusok megtelepedését segíthette elő.



A probléma forrása:

A képen látható csavarmenetes dugó a fermentor belsejében, annak gőzterében helyezkedett el. Az üreges rész a dugó külső oldalán, a steril határon kívül, meg volt telve folyadékkal, kosszal és olajjal.

A sokévnnyi SIP ciklus alatt a menetes dugó kissé eresztetni kezdett, tradicionális és mikrobiális szennyezést juttatva a rendszerbe. A rés azonban olyan kicsi volt, hogy a rutin nyomásellenőrzés során nem vették észre.



Megoldás:

A menetes dugót hegesztéssel lezárták, és szellőző sapkákat helyeztek a csővég külső oldalára, ami megakadályozta hogy ismét felgyűljön benne a szennyezés.

Fertőzés forrásának vizsgálata:

Gyakorlatilag elkerülhetetlen, hogy egy fermentációval foglalkozó mérnök pályafutása során ne találkozzon idegen mikroba fertőzéssel.

Minden faktort figyelembe venni és kiküszöbölni minden lehetséges veszélyforrást nem mindig megvalósítható.

Mit tehetünk abban az esetben, ha már a fertőződés megtörtént:

- ellenőrizni hogy fellépett-e valami szokatlan esemény a folyamat alatt
- közelmúltban történt események, változások az üzemben
- minden berendezés alapos átvizsgálása: szemmel látható és nem látható sérülések keresése
- fertőző mikroorganizmus(ok) beazonosítása, összetétele, kora
- külső, tőlünk független tényezők vizsgálata

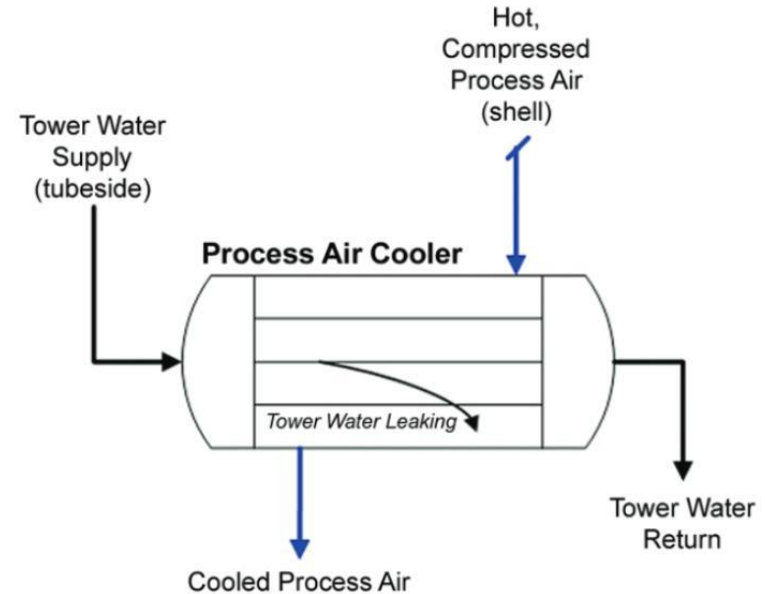
6. eset:

Probléma:

A fermentáció során betáplált levegő egy másik létesítményből érkekezett.

A kompresszált, sterilizálási hőmérsékletre hevített levegőt csőköteges-köpenyes hőcserélőben hűtötték le klórozott víz segítségével.

A fermentáló üzem eközben egyre szignifikánsabb növekedést érzékelt az idegen mikroorganizmussal való befertőződéses esetek előfordulásának gyakoriságában, de sem a sterilizálás szabályozásában, sem a technológia többi elemében semmi jelét nem találták a fertőződés okának.

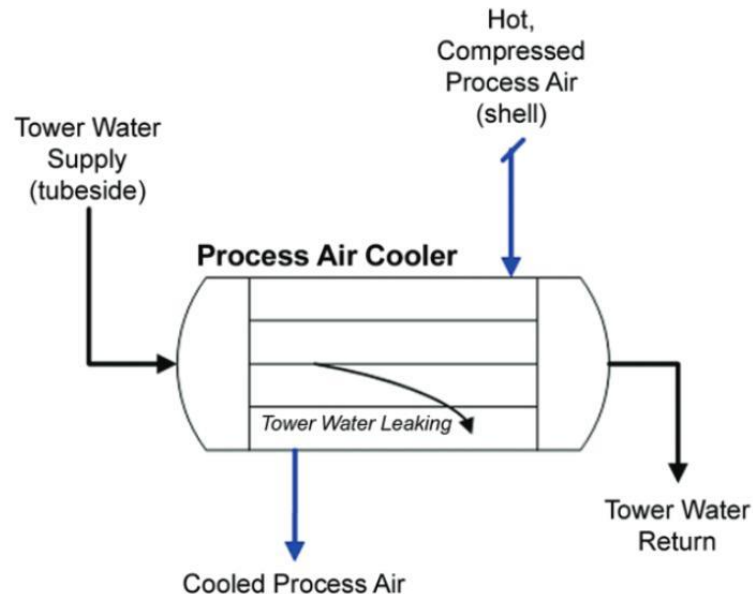


A probléma forrása:

A levegőt szolgáltató üzemben észlelték hogy a levegő hűtéséért felelős csőköteges-köpenyes hőcserélő csöveiben nagy méretű lyuk keletkezett, és nem steril víz érintkezett a fermentáló üzemnek küldött levegővel.

Tanulság:

Az befertőződés okának kivizsgálása során ellenőrizni kell a külső forrásokat is!



Összefoglalás

Az idegen mikrobafertőzés forrásai lehetnek:

- Sterilizálási ciklus beállításainak hibája(1. eset)
- Nem optimális kialakítás (2.; 4. eset)
- Berendezések egyes elemeinek rongálódása (3.; 4.; 5. eset)
- Külső forrásokból érkező anyagáramok (6. eset)

Köszönöm a figyelmet!

Forrás:

Michael Hines, Chris Holmes, és Ryan Schad
PHARMACEUTICAL ENGINEERING
May/June 2010, Vol. 30 No. 3

©Copyright ISPE 2010

Vizsgakérdések:

1. Példa a SIP automatikájának nem megfelelő beállításából eredő idegen mikroba fertőzésre és a probléma megoldása.
2. Példa a technológia berendezéseinek helytelen kialakításából eredő idegen mikroba fertőzésre és a probléma megoldása.
3. Példa a berendezésének rongálódásából eredő idegen mikroba fertőzésre és a probléma megoldása.
4. Példa a külső forrásból eredő idegen mikroorganizmus fertőzésre.
5. Milyen szempontokat vizsgálva keressük az idegen mikroorganizmus fertőzés forrását?