



Monitoring mikroorganizama u zraku tehnologijom hvatanja zraka

Article Reprinted from the ©June 2004 issue of:

**Pharmaceutical
Technology**
EUROPE

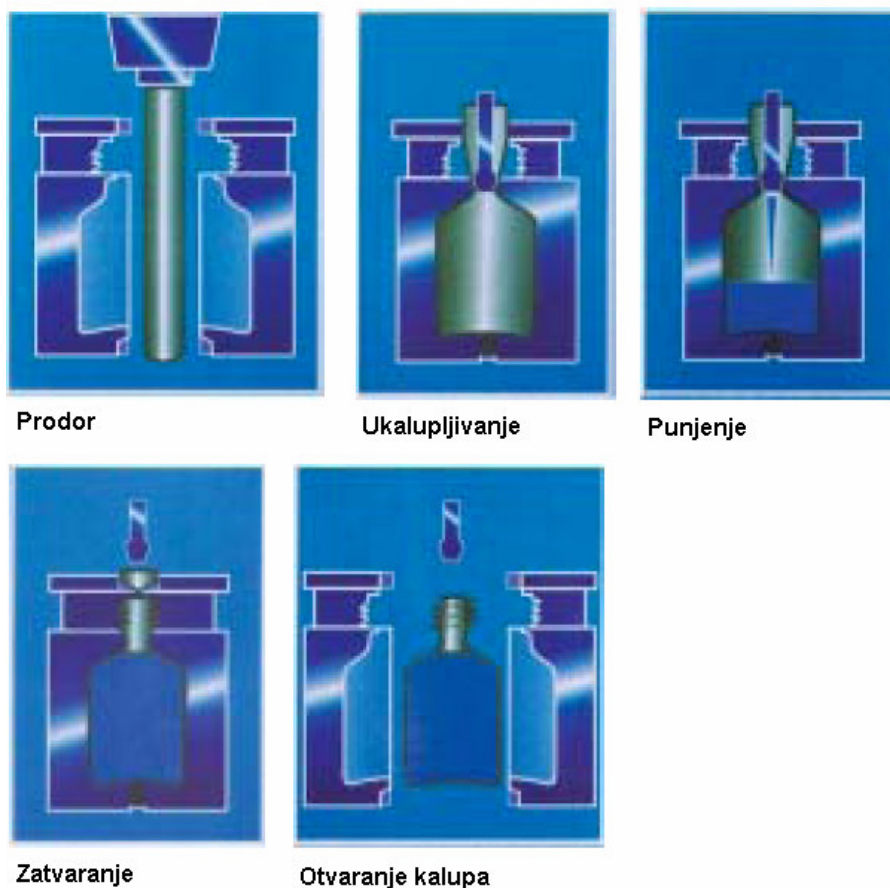
AN ADVANSTAR  PUBLICATION

Praćenje mikroorganizama u zraku tehnologijom hvatanja zraka

Članak opisuje osnovne principe i prednosti tehnologije hvatanja zraka (blow-fill-seal technology, BFS). Iako je BFS tehnologija idealna kod aseptičnog punjenja tekućih farmaceutskih proizvoda, uvijek postoji rizik od kontaminacije proizvoda. Zbog toga je ova tehnologija praćenja mikroorganizama, zajedno sa regulatornim zahtjevima mikrobiološke kontrole u farmaceutskoj proizvodnji, veoma nužna. U tekstu su iznesena dva načina rada, koja opisuju proces rada BFS uređaja u kritičnim područjima proizvodnje bez rizika kontaminacije, sa pripadajućim smjernicama.

BFS tehnologija (tehnologija hvatanja zraka) se sve više koristi kod aseptičnog punjenja tekućina. Vodič Europske unije za Pravilno upravljanje (Union Guide for Good Manufacturing Practice, EU GMP) određuje BFS uređaje kao "...uređaje sa svrhom, koji pune kontejnere termoplastičnim granulatom i zatvaraju ih, sve jednim automatskim uređajem." ¹ BFS uređaji također rade na taj način da vrlo brzo i na malom prostoru napune kontejnere i odmah ih zatvore ². Svaki pojedini korak BFS procesa prikazan je na slici 1.

Slika 1: Koraci u BFS postupku (ljubaznošću Rommelag AG).



BFS tehnologijom izrađuju se kontejneri u obliku jediničnih doza, ampula, bočica za lijekove ili boca. Usporedbom sa konvencionalnim metodama, ova tehnologija ima slijedeće prednosti:

- Proizvodi bez konzervansa (jedinična doza)
- Smanjeno vrijeme i prostor
- Automatizacija
- Povećana sigurnost proizvoda (bez mikroba)

No unatoč prednostima, kod BFS tehnologije ipak postoji mali rizik kontaminacije. Zbog toga su tekućina kojom se puni te kontejner zaštićuju strujom profiltriranog sterilnog zraka. Pripadajuće smjernice i vodiči¹ predlažu testiranje mikrobiološke kvalitete BFS uređaja. EU smjernice ocijenile su područje punjenja BFS uređaja najvišom ocjenom u zaštiti okoliša; a to je koncentracija mikroorganizama manja od 1 CFU/m³ zraka (CFU= colony forming unit). Slika 2 pokazuje tipičnu postavu praćenja mikroorganizama BFS uređaj, kakva je u Holopacku (Abtsgmünd – Untergröningen, Njemačka).

Sustav mjerenja

Praćenje zraka direktno na mjestu punjenja obuhvaća: ograničen prostor, slabu pristupačnost, pokretne dijelove i moguć slab rizik kontaminacije. Zbog svega toga uzorak zraka mora biti povučen iz unutrašnjosti BFS uređaja, dok je uzorkivač zraka vani. Sustav praćenja (Slika 2) sastoji se od uzorkivača zraka (crpka i mjerač protoka), promjenjivog držača metalnog filtera povezanog sa uzorkivačem pomoću crijeva i želatinoznog filtera za jednokratnu upotrebu.

Vezna cijev omogućava uzorkivanje zraka unutar mjesta punjenja dok uzorkivač ostaje vani, izvan kritičnog područja. Tijekom uzimanja uzorka, uzorkivač zraka crpi određenu količinu zraka kroz želatinozni filter; nakon uzimanja uzorka, filter se stavlja na odgovarajuću hranjivu podlogu i inkubira. Kolonije koje se razviju se broje i procjenjuju kao CFU/m³ zraka.

Želatinozni filteri koji se otapaju u vodi imaju promjer pora 3µm. Steriliziraju se gamma-zračenjem, a sposobni su zadržati 99.9995% spora vrste *Bacillus subtilis niger* (kod protoka zraka 0.25 m/s)³ i 99.94% kolifaga T3 (kod relativne vlage 80%)⁴. Uzorkivač zraka se može kalibrirati na licu mjesta i namijenjen je radu na kritičnim mjestima, kao što su prostorije s ocjenama A i B (razred 100), izolatorima i BFS uređajima. Slijede dva različita načina praćenja zraka u BFS uređajima.

Slika 2

Uređaj za punjenje boca (smješten kod Holopack-a) sa držačem filtera pričvršćenim u blizini zone punjenja, sa MD8 uređajem.



Način 1: mjerenje korištenjem cijevi između mjesta uzorkovanja i držača filtera

Kao primjer ovakvog načina rada, prikazan je rad kod farmaceutske tvrtke Excelvision (Annonay, Francuska). U pogonu tvrtke je promatran rad BFS uređaja (*Bottlepack 3012*, Rommelag, Švicarska). Uređaj se koristio za punjenje plastičnih bočica za lijekove volumena 0.3-5ml kapima za oči. Prilikom uzorkovanja se koristila cijev od polivindilen-fluorida (PVDF) (Slika 3) koja je bila povezana izravno sa područjem punjenja (ocjenjeno najvišom ocjenom, A). Na drugom kraju cijevi, vani, nalazio se metalni držač filtera, posebno dizajniran za rad sa želatinoznim filterom za jednokratnu upotrebu (Slika 3, umetnuta). Cijev je povezana sa želatinoznim filterom za jednokratnu upotrebu (*17528-80-ACD*) bajonetnim nastavkom. Kako bi se spriječila sekundarna kontaminacija, filteri su mijenjani unutar *Captair Flowcap700 S*, čija je unutrašnjost također ocjenjena ocjenom A. Zrak je dalje crpljen kroz cijev u prostor s ocjenom C, gdje je bio smješten uzorkivač zraka.

Slika 3

Uzorkivanje kod punjenja boca (smješteno kod Excelvision) pomoću PVDF cijevi, koja je povezana izravno sa područjem punjenja.



Za praćenje zraka u prostoru za punjenje BFS uređaja, korišten je po jedan uzorkivač po svakom uređaju jednom tjedno, sa protokom zraka $6 \text{ m}^3/\text{h}$ po 10 minuta. To je 1 m^3 zraka u 10 minuta, što je u skladu sa pravilima EU GMP. Hranjive podloge (tryptic soya agar, TSA) inkubirane su 3-5 dana na $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$. Rezultati pokazuju da su vrijednosti manje od granične vrijednosti $<1 \text{ CFU}/\text{m}^3$ potrebne za ocjenu A. Na primjer, od 29. lipnja 2000 do 13. veljače 2001, u 31 šarži, nije detektiran niti jedan mikroorganizam ($0 \text{ CFU}/\text{m}^3$ zraka). U tvrci Excelvision je bila praćena Standardna procedura (SOP) za zrak i u tri godine nije bilo ni jedne kontaminacije.

Slika 4

Posebni metalni držač filtera
(smješteno u Holopack-u).



Način 2: mjerenje korištenjem metalnog držača filtera izravno povezanog sa područjem punjenja

Ovaj način obuhvaća korištenje *MDA airscan* uzorkivača sa metalnim držačem i želatinoznim filterom za jednokratnu upotrebu (*17528-80-ACD*). Kod uzorkovanja, držač filtera sa želatinoznim filterom nalazi se u neposrednoj blizini područja punjenja (prostor s ocjenom A) (Slika 2). Ovaj način koristi se u Holopacku, koji koristi *Bottlepack 3012M* za punjenje plastičnih bočica za lijekove volumena 10-40ml sa sterilnom tekućinom (npr. izotonična fiziološka otopina). Posebno napravljen držač filtera, koji se mora sterilizirati prije svakog uzorkovanja, povezan je sa BFS uređajem posebnim sanitarnim kućištem. U ovom primjeru, uzorkovanje zraka izvodilo se jednom po ciklusu (nakon punjenja) sa protokom zraka $6 \text{ m}^3/\text{h}$ po 10 minuta po uzorku, što je 1 m^3 zraka u 10 minuta po ciklusu. CASO hranjiva podloga inkubirana je 5 dana na $30\text{-}35^\circ\text{C}$. Rezultati su pokazali da tijekom 2003. godine, od trećeg do dvadeset i petog tjedna, nije bilo ni jedne kontaminacije ni u jednom od 90 ciklusa ($0 \text{ CFU}/\text{m}^3$ zraka). Zbog toga su područja punjenja BFS uređaja u skladu sa zahtjevima EU GMP ($<1 \text{ CFU}/\text{m}^3$ za prostore sa ocjenom A).

Zakonitost

Kako bi ova dva načina bila pravovaljana, po ciklusu se mora uzorkovati po 1 m^3 zraka. Zbog toga je potrebno kalibrirati uzorkivač zraka. Nužno je i ukloniti bilo kakav rizik od sekundarne kontaminacije kako bi se izbjegli krivi rezultati. Kao što je ovdje prikazano, rizik se može ukloniti korištenjem prostora s ocjenom A prilikom promjene želatinoznog filtera, između ostalog. Također je potrebno uhvatiti sve mikrobe koji prolaze kroz cijev, radi detekcije. Ovo znači da se za uzorkovanje načinom 1 mora optimizirati i ozakoniti duljina, unutrašnji promjer i grubost cijevi. Primjenom načina 2 nije potrebno ozakoniti cijev jer je držač filtera vezan izravno na prostor punjenja.

Zaključak

Metoda sa želatinoznim membranskim filterima je danas prepoznata kao doličan postupak za uzorkovanje zraka u prostorijama koje zahtijevaju veliku čistoću. Kao što je opisano u ovom članku, metoda je idealna i za praćenje zraka u kritičnim zonama punjenja BFS uređaja jer se može koristiti tijekom proizvodnje bez pojave dodatnog rizika kontaminacije, a u skladu je sa pravilnikom. Smatra se da će u budućnosti BFS tehnologija biti jednako važna i raširena kao tehnologija izolatora.

Metoda želatinoznih filtera će, s obzirom na svoje mnogobrojne prednosti, biti široko korištena za testiranje BFS sustava, kao što je slučaj kod izolatora.

Zahvala

Želio bih zahvaliti gospodinu Benoit Carlesu, rukovoditelju mikrobiološke kontrole u tvrtci Excelvision, i gospodinu Walteru Matheisu, QC manageru u Holopack Verpackungstechnik GmbH, na podacima i slikama.

Reference

1. EU Guide for GMP. Revisin of Annex 1, Manufacture of Sterile Medicinal Products (1997); New Revision September 2003.
2. Rommelag Product Information, "The Bottlepack Aseptic System in the Pharmaceutical Industry", current English version.
3. S.R. Parks *et al.*, "An Assesment of the Sartorius MD8 Microbiological Air Sampler", *J.Appl.Bacteriol.* **80** (5), 529-534 (1996).
4. H. Jaschhof, "Sammlung von Virusaerosolen mit dem Gelatine-Membranfilter", *BioTec Mikrobiologie* **4**, 22-26 (1992).

Originalna verzija ovog članka je na njemačkom jeziku, objavljena u časopisu *Steriltechnik*, treće izdanje, br.2, rujan 2003 (3. Jahrganag, Nr.2).