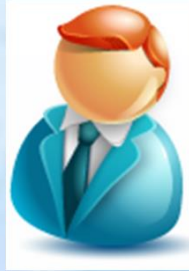




İlaç Endüstrisi Tecrübeleri Işığında Kök Hücre Uygulamalarında Steril Saha İşletimi ve GMP Uygulamaları



Kim.Müh. Deniz ALKANAT
ONKO İLAÇ Üretim Grup Md. ve
Tesis Direktör Vekili



23.04.2016



GENEL

Sağlık Bakanlığından;

İnsan Doku ve Hücreleri ile Bunlarla İlgili Merkezlerin Kalite ve Güvenliği Hakkında Yönetmelik

(Resmi Gazete Sayı : 27742 / 27 Ekim 2010, madde 10)

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumundan;

İnsan Doku ve Hücre Ürünlerinin Ruhsatlandırılması ve Bu Ürünlerin Üretim, İthalat, İhracat, Depolama ve Dağıtım Faaliyetlerini Yürüten Merkezler Hakkında Tebliğ

(Resmi Gazete Sayı : 28962 / 4 Nisan 2014, madde 11,12,13)



KAPSAM

- 1. Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış**
- 2. Malzeme Sterilizasyonu**
- 3. Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu**
- 4. Çevre İzleme (canlı ve cansız partikül)**
- 5. Havalandırma Sistemi ve Re-Kalifikasyonu**
- 6. Cleanroom Dizayn**

1. Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

İHTİYAÇ MALZEMELER

- El yıkama lavabosu
- El dezenfeksiyon cihazı
- Steril eldiven
 - Dış eldiven ; renksiz – beyaz
 - İç eldiven ; renkli mavi-turuncu
- Steril iç kıyafet
 - Maske, Koyu renk – lacivert
- Steril dış kıyafet
 - İçlikten daha açık renk – mavi , beyaz
 - Başlık, Tulum, Patik, Gözlük
- Steril alan telefonu



1. Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

- Steril eldivenin aseptik teknik ile giyilmesi
 - Eldiven dışına derinin temas etmemesi esastır



1.Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

- Steril kıyafetin aseptik teknik ile giyilmesi
 - Vücut açığa çıkacak şekilde soyunmamak
 - Uzun kollu fanila olmalı, Normal alan pantolonu kalmalı
 - Tekrar kullanılan kıyafetin sterilizasyon öncesi yıkanması, kurtulması, özel katlama tekniği ile içinin dışa katlanması
 - Eller kıyafetin dışına değmeden giyilmesi
 - Paketi delinmiş kıyafet ve eldiven giyilmez
 - Giyinme sırası ;
 - ağız maskesi - başlık – tulum – patik - gözlük
- Özel steril kıyafet kumaşı ve özel dikim Tekniği ile min parçalı dikilmiş olmalı veya tek kullanımlık kıyafet

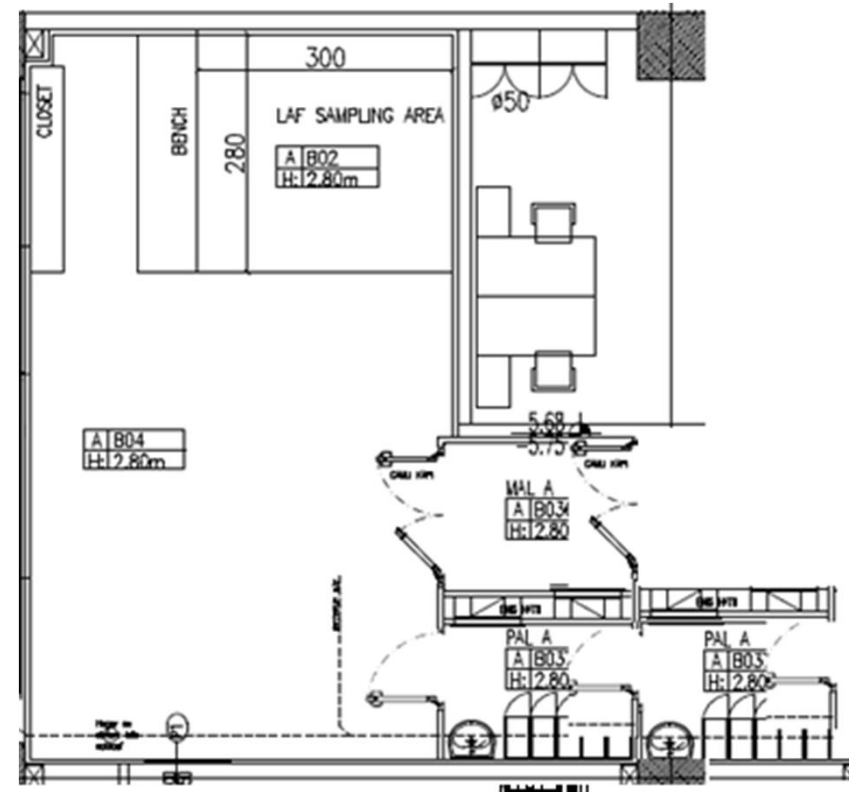




1. Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

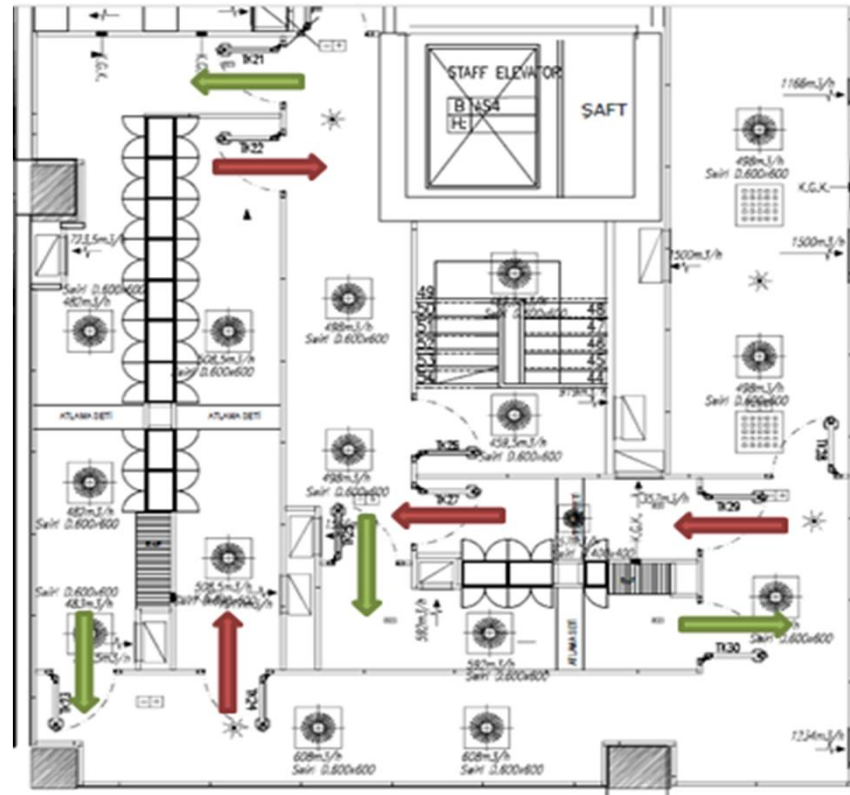
- Steril alan giriş çift kademeli hava kilitli oda
 - İlk oda ;
 - maske ,
 - 1.eldiven ,
 - iç kıyafet giyilmesi
 - İkinci oda ;
 - dış kıyafetlerin,
 - 2.eldivenin,
 - gözlüğün giyilmesi
- Hava kilidi (air locked) odalarda karşılıklı kapılarda kilit (inter locked)



1. Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

- Steril alan giriş çıkış tek yön



➡ Entrance
➡ Exit

1.Personel ve Malzeme Giriş – Çıkış

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

- Atlama seti ve ayakkabı değişimi





2.Malzeme Sterilizasyonu

STERİLİZASYON

Herhangi bir cismin veya maddenin, birlikte bulunduğu tüm mikroorganizmaların sporlar dahil tamamen yok edilmesi işlemidir.

*** Sterilite Güvenlik Seviyesi (sterility assurance limit)**

Sterilizasyondan sonra ortamda canlı mikroorganizmaların bulunma ihtimalidir.

Günümüzde kabul edilen seviye $1/1.000.000$ ($\log 10^{-6}$)



2.Malzeme Sterilizasyonu

STERİLİZASYON METODLARI

a. Steam Sterilization (H₂O₂ / Buhar sterilizasyonu)

- **Saturated Pure Steam (Otoklav)**

- Vapor-Phase Hydrogen Peroxide (İzolatör, Temiz Oda)

b. Dry-Heat Sterilization (Kuru Hava Sterilizasyonu)

- Sterilization/Depyrogenization Tunnel (Tünel)

- Sterilization/Depyrogenization Oven (Fırın)

c. Gas Sterilizasyonu (Gaz sterilizasyonu)

- **Ethylene Oxide (Otoklav)**

- Formaldehit (Otoklav) ???

- Gas-Phase Hydrogen Peroxide (İzolatör)



2.Malzeme Sterilizasyonu

STERİLİZASYON METODLARI

d. Ionizing Radiation

- GAMA (Cobalt 60, radyo izotop bozunması)
- X-ray Radyasyonu
- Electron Radyasyonu

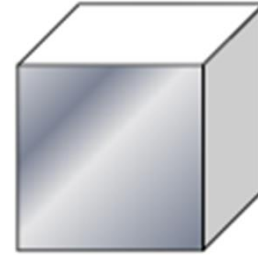
e. Filtrasyon

- Sterilisation Grade Filter (0,22 μm filtre- likit , gaz/hava)

2. Malzeme Sterilizasyonu

3 Majör grup vardır.

* Katı veya içi sıvı dolu sızdırmaz yükler



* Gözenekli yükler



* İçi boş , boru-hortum şeklindeki yükler



2.Malzeme Sterilizasyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

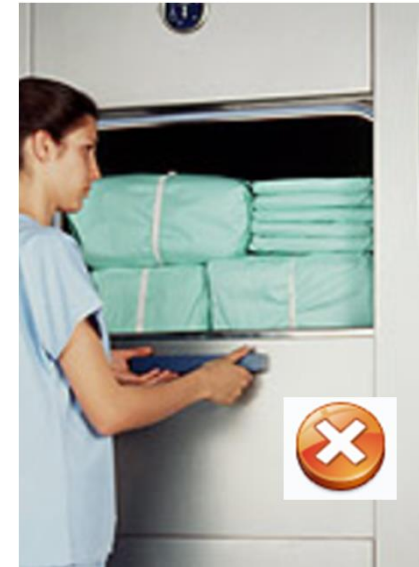
- * Sterilizasyon paketlerinin polimer tarafı her zaman üste, tyvek kağıt tarafı alta gelmelidir.
- * Otoklava yerleşimde aynen bu biçimde olmalıdır.



2.Malzeme Sterilizasyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

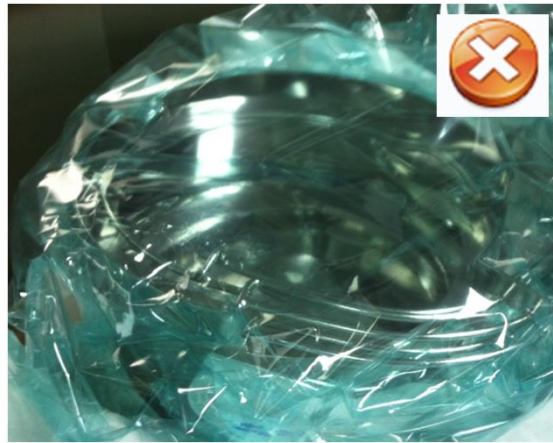
Yükler arası uygun boşluk bırakılmalı. Uygun hava tahliyesi ve buhar penetrasyonu bu şekilde sağlanmalıdır.



2.Malzeme Sterilizasyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

- * Sterilizasyon paketi içerisinde içi boş ağız kapalı kap, şişe yerleştirilmemelidir.
- * Boş kaplar ve şişeler ağız açık en az yan ve mümkün olduğu kadar dik olarak ağız aşağıya gelecek şekilde yerleştirilmelidir.



2.Malzeme Sterilizasyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

* Hassas parçaların zarar görmemesi için uygun paslanmaz tel sepetlere aralıklı olarak parçalar birbirine temas etmeyecek şekilde yerleştirilmelidir.

- İğneler,
- İnce borular



3.Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

DEZENFEKSİYON

Mikrobiyal kontaminasyonun kabul edilebilir limitlere çekildiği, bakteriyel sporların büyük bir kısmının etkilenmediği, gerçek anlamda bunlar dışındaki mikroorganizmaların ortamdaki yok edilmesi ve indirgenmesi işlemidir.



3. Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

DEZENFEKSİYON YÖNTEMLERİ

UV ışını ile (254 nm)



Dezenfektan ile ;

- Bakterisid
- Fungusid
- Sporisid



3.Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

Çalışma Öncesi ve Sonrası



Çalışma Sırasında



3.Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

Dezenfektan(Bakterisid, Fungusid vb.) Değişim Periyodu max 15 günde bir;

Genel Uygulama ve İdeal Yaklaşım





3. Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

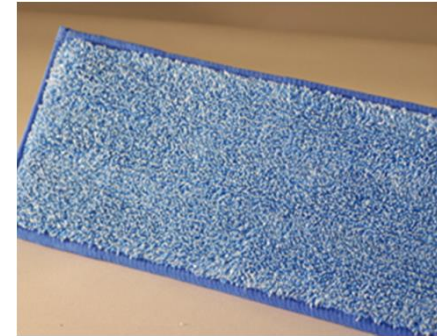
Dezenfektan Hazırlama; (yada hazır steril dezenfektan kullanımı)

- Her zaman aynı konsantrasyon
- Eğitimli belirli personel
- Belirli değişmeyen malzemeler
- Etkinlik analizi
- Etiketleme;
 - Hazırlık Tarihi
 - Steril Filtrasyon Tarihi
 - Son Kullanım Tarihi
 - Hazırlayan

3.Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

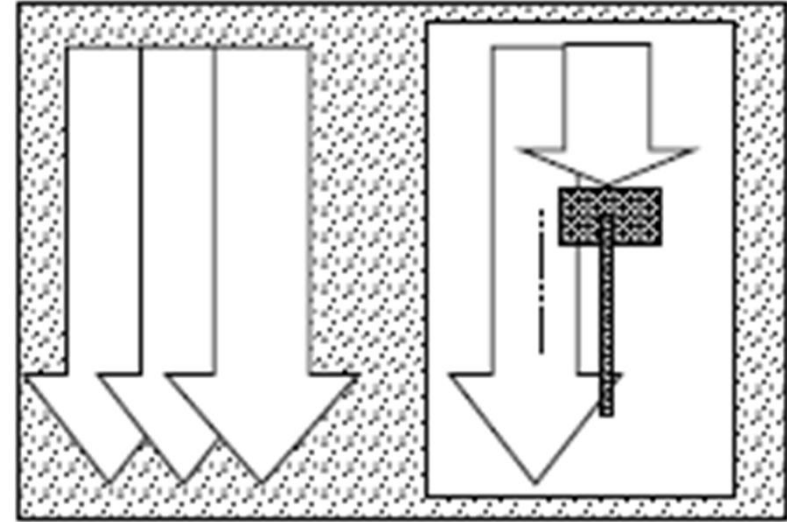
Dezenfeksiyon aseptik tekniklere göre yapılır



3.Alan ve Ekipman Dezenfeksiyonu

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

Dezenfeksiyon aseptik tekniklere göre yapılır. Bir öncekinin %20 üzerine binerek tek yön ve nemli kalacak şekilde sınırlı hareket



4.Çevre izleme

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

Sürekli izlemenin sistematik bir program ile yapılması

Canlı Partikül

- Pasif hava numuneleme
- Aktif hava numuneleme
- Rodac veya Swap ile numuneleme
- Alan diyagramı numune noktaları
- Trend değerlendirme



4.Çevre İzleme

UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR Cansız Partikül

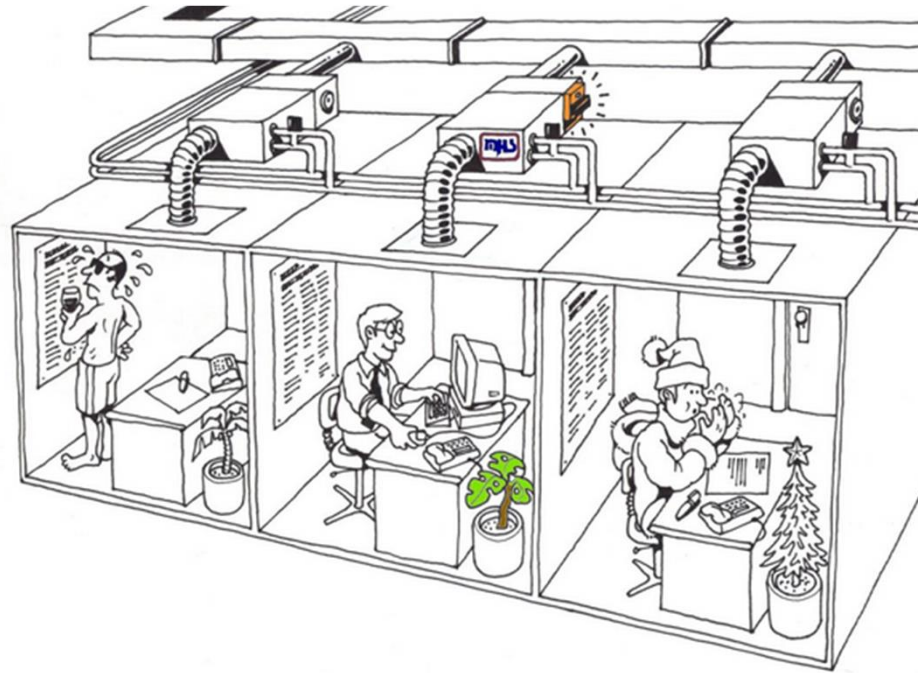
- LAF altı işlem sırasında
- Odadan işlem sırasında
- LAF altı hava hızı



5.Havalandırma Sistemi ve Re-Kalifikasyon

TEMEL GEREKLİLİKLER

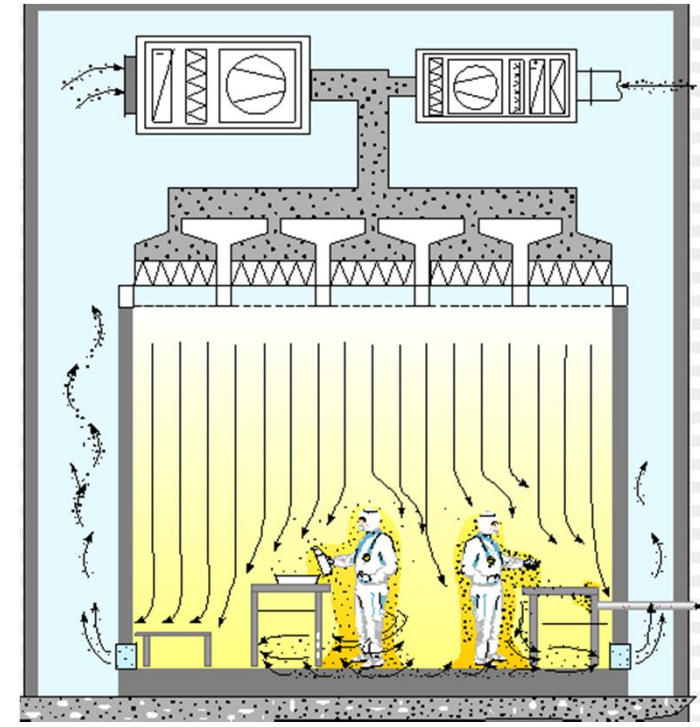
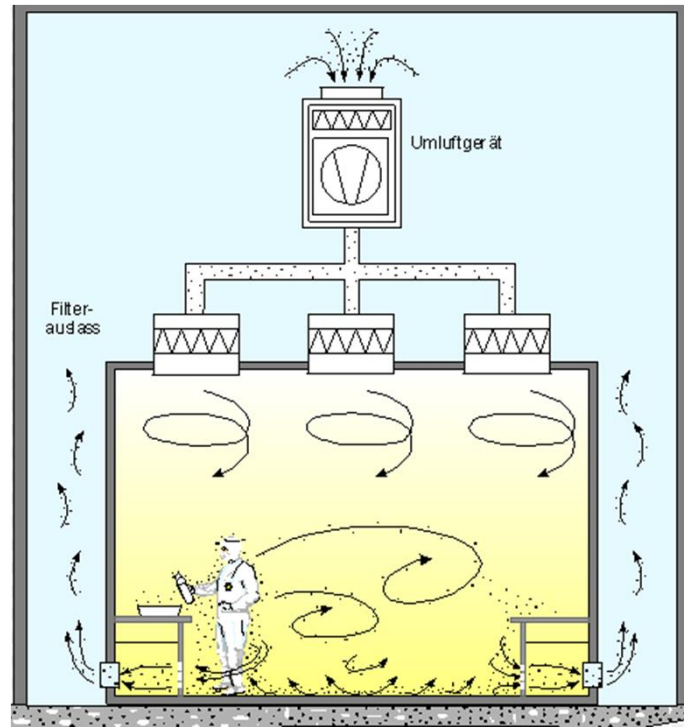
- İlgili alanın gerekliliğine göre şartlandırma yapmak
- Otomasyon kontrollü ve trend alınabilir olmak



5.Havalandırma Sistemi ve Re-Kalifikasyon

Uygun oda üfleme ve laminar kabin üfleme noktaları

Uygun oda emiş ve laminar kabin emiş noktaları



5.Havalandırma Sistemi ve Re-Kalifikasyon

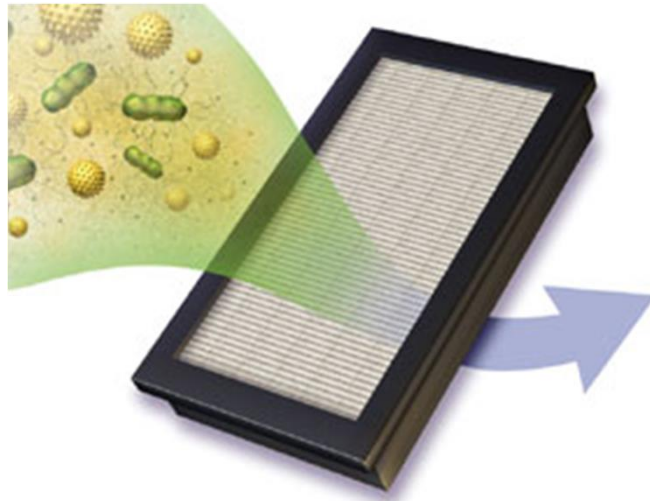
RE-VALİDASYON UYGULAMADA ÖNEMLİ NOKTALAR

A-B Sınıf Alan : 6 ayda bir HEPA filtre sızıntı, hava hızı-debi,

C Sınıf Alan : 6-12 ayda bir HEPA filtre sızıntı , hava hızı-debi,

D Sınıf Alan: 18-24 ayda bir oda kalifikasyonu, hava debi

Smoke test başlangıç ve periyodik 24-36 ayda bir



6.Cleanroom Dizayn

- Alan dizayn kriterleri

Basic Guide to Clean Room Design						
Classes (Fed 209 D)	1	10	100	1,000	10,000	100,000
Particles per m3 > 0.5 micron	35.3	353	3,530	35,300	353,000	3,530,000
Air Changes Per Hour	600	500	500	40-120	20-40	10-20
Room Pressure	15 Pa	15 Pa	15 Pa	10-15 Pa	10-15 Pa	5-10 Pa
Clean air inlets Cover as % of ceiling area	100%	100%	90%	20-50%	10-20%	5-10%
Clean air inlets Locations	Ceiling					Ceiling/High Wall
Filter Location	Ceiling					Ceiling/AHU
Return Locations	Floor		Low Level or Floor		Low Sidewall	Sidewall
Velocity at clean air inlets (m/s)	0.45			0.15-0.45		
Velocity at return air (m/s)	n/a			0.5-1	1-2.5	2.5
Airlock (required)	Yes					None
Area per occupant (m2)	40	30	20	10	5	
Equipment in room	Minimum				30% Floor	50% Floor
Room Height	n/a			Minimum 3	Minimum 2.75	Minimum 2.25

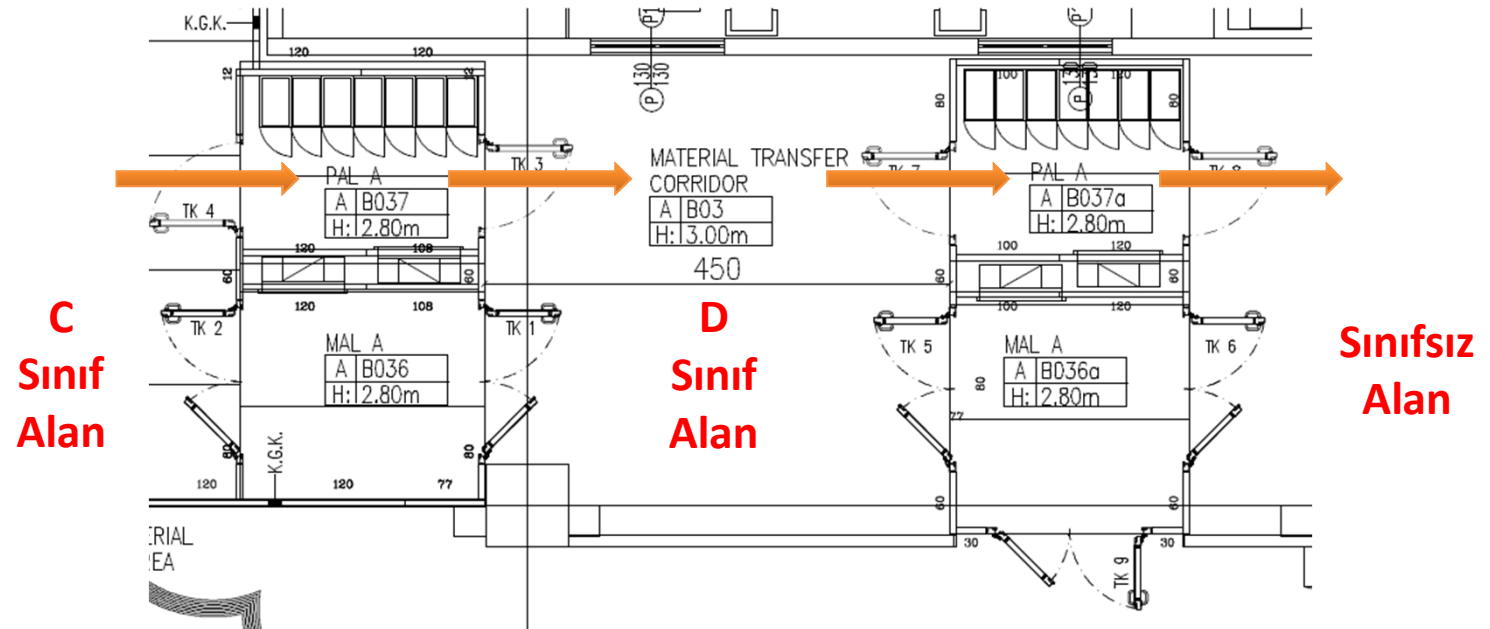
6.Cleanroom Dizayn

- Ekipmanların zeminden yüksekte ölü nokta olmadan dezenfekte edilebilir olması
- B ve C sınıf oda duvar zemin birleşimi kavisli olmalı (2,5 - 4 inch çap)
- Antistatik , min.partikül yayınıcı yapan paneller
- Zemin girintisiz düz epoksi tarzı özel kaplama olmalı
- B alanda direnaj olmamalı,
- C ve D alanda min sayıda olabilir (eğer gerekli ise)
- Steril alan kolay izlenebilir olmalı
- Tavan yüksekliği 2,8m
- Kapı dilleri , contası girintisiz temizlenebilir olmalı
- B sınıf aydınlatma teknik alandan müdahale edilebilir olmalı



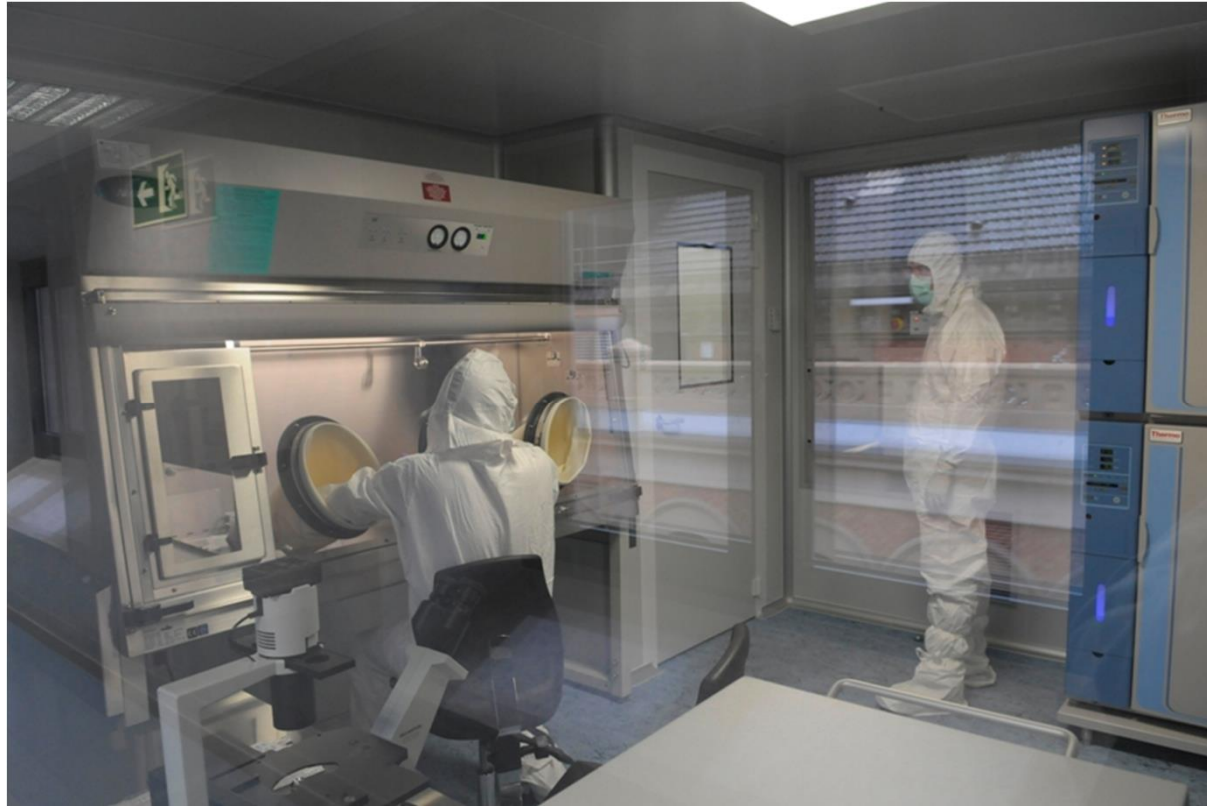
6.Cleanroom Dizayn

- Alanlar arası kademeli geçiş ve fark basınç oluşturulmalı



6.Cleanroom Dizayn

- Steril alan , hijyenik olmayan bir alandan izlenebilir olmalı





ÖZET

Steril Alan İşletiminde Önemli Başlıklar;

- **Personel ve malzeme akışı**
- **Sterilizasyon**
- **Dezenfeksiyon**
- **Çevre İzleme**
- **Havalandırma ve Re-Kalifikasyon**

Dizayn



Değerlendirme ve Sorular



KATILIMINIZ İÇİN TEŞEKKÜRLER