

ETKİLİ BİR KONTAMİNASYON KONTROL YAKLAŞIMININ KÖK HÜCRE UYGULAMALARINDAKİ ÖNEMİ

ECE ERBEYEN KURALAY

Hücrelerin insan vücudunun dışındaki en küçük bir manipülasyonu bile patojenlerle kontaminasyon riski taşıdığı için kök hücre çalışmalarının yapıldığı alanlarda GMP kılavuzlarının takip edilmesine yönelik beklentiler artmaktadır. Buna ek olarak, insan dokusu temini ile ilgili iyi laboratuvar uygulamaları ve/veya düzenleyici yönergeler her zaman takip edilmeli ve kontaminasyon, enfeksiyon ve patojen iletimi risklerinin en aza indirgenmesi için evrensel önlemler alınmalıdır.

Son yıllarda dikkat çekici şekilde artan kök hücre araştırmaları, yaşayan organizmalar için birçok nedenden dolayı önemlidir. Kök hücreler, 3-5 günlük embriyo içinde, birçok farklı hücre tipini ve kalp, akciğer, deri, sperm, yumurta ve diğer dokular ile organları içerecek şekilde, organizmanın yapısına şekil verir. Kemik iliği, kas ve beyin gibi bazı yetişkin dokularında, belirli yetişkin kök hücre toplulukları yıpranma, aşınma, yaralanma veya hastalık gibi nedenlerle kaybedilmiş hücrelerin ikamesini üretir.

Kök hücre araştırmaları, bir organizmanın tek bir hücreden nasıl geliştiğine ve sağlıklı hücrelerin yetişkin organizmalardaki hasar gören hücrelerin yerini nasıl aldığına dair bilgi sağlamaya devam etmektedir.

KÖK HÜCRE UYGULAMALARINDA GMP VE KONTAMİNASYON KONTROLÜ YAKLAŞIMLARI

Uluslararası Kök Hücre Araştırmaları Topluluğu'nun (ISSR) yayınladığı 'Kök Hücre Araştırmaları ve Klinik Dönüşüm Kılavuzlarında belirtildiği üzere, birçok ülkede ve bölgede, hücresele ürünlerin tıbbi tedavi için kullanımı, hastaların korunması amacıyla devlet kurumları tarafından yönlendirilmektedir. Bu sayede yeni terapilerde topluma geniş anlamda fayda sağlayacak kaynaklar daha dikkatli kullanılmaktadır. Kök hücre bazı ürünlerin bir kısmının insanlarda kullanımı onaylanmış olsa da, giderek artan sayıda yeni hücresele ürün sayısız hastalık endikasyonu açısından test edilmekte ve bu ürünlerin proses edilmesi, üretimi ve düzenleyici onay süreçlerinde yeni zorluklar ortaya çıkmaktadır.

Otoriteler, potansiyel hücre ürünlerinin çeşitliliğini göz önüne alarak, hücre işleme ve hastalarda kullanılacak ürünlerin üretiminin bütünlüğünü, fonksiyonunu ve güvenliğini sağlamak amacıyla kılavuz ilkeler oluşturmaktadır.

Hücrelerin insan vücudunun dışındaki en küçük bir manipülasyonu bile patojenlerle kontaminasyon riski taşıdığı için kök hücre çalışmalarının yapıldığı alanlarda GMP kılavuzlarının takip edilmesine yönelik beklentiler artmaktadır. Buna ek olarak, insan dokusu temini ile ilgili iyi laboratuvar uygulamaları ve/veya düzenleyici yönergeler her zaman takip edilmeli ve kontaminasyon, enfeksiyon ve patojen iletimi risklerinin en aza indirgenmesi için evrensel önlemler alınmalıdır.

ISSR'nin kılavuzlarında belirtildiği üzere, tüm reaktifler ve süreçler, reaktiflerin kalitesini ve üretimde kullanılan protokollerin tutarlılığını sağlamak için kalite kontrol sistemlerine ve standart çalışma prosedürlerine tabi tutulmalı ve yoğun şekilde manipüle edilen kök hücrelerin klinik uygulamalarında GMP prosedürleri izlenmelidir.

STERİL ÜRETİM ALANLARINDA GMP'YE UYGUN TEMİZLİK VE DEZENFEKSİYON GEREKLİLİKLERİ

EU GMP ANNEX 1 "MANUFACTURE OF STERILE MEDICINAL PRODUCTS", steril koşullarda tıbbi ürün üreten, hazırlayan ve işleyen tesisler için vazgeçilmez bir kılavuzdur. GMP kılavuzunu takip eden alanlardaki kritik uygulamalardan biri de temizlik ve dezenfeksiyon süreçleridir.

Annex 1'de kontaminasyon kontrolü ile ilgili gereklilikler ve yapılması gerekenler ile ilgili bilgiler yer almaktadır.

Steril alanlardaki kontaminasyon kontrol sürecinde en çok karşılaşılan sorular dezenfektan sterilitesi ile ilgilidir;

"STERİL DEZENFEKTAN NEDİR? NEDEN VE NEREDE KULLANILMALIDIR?"

Sanılan aksine, dezenfektanlar ve temizlik maddeleri de mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmakta ve steril alanlar için bir kontaminasyon kaynağı olabilmektedir.

Annex 1, Madde 62'nin içeriği steril alanlarda kullanılacak olan temizlik ve dezenfeksiyon maddelerinin sterilitesi ile ilgilidir. İlgili maddede "Disinfectants and detergents used in Grade A and B areas should be sterile prior to use. - A ve B klas alanlarda kullanılacak dezenfektan ve deterjanlar, kullanım öncesi steril olmalıdır." şeklindeki ifade yer almaktadır. Burada dikkat edilmesi gereken önemli noktalar, öncelikle steril saha içerisine alınacak olan dezenfektan ve temizlik maddelerinin steril olması ve bu sterilitenin kullanım süresince korunmasının sağlanmasıdır.

Buna ek olarak temizlik ve dezenfeksiyon süreçleri planlanırken dezenfektanın çeşidi, rotasyonun nasıl planlanacağı, kullanılacak bez, paspas, kova gibi ekipmanların seçimi, sporisit ajan kullanımı, dezenfektanların kalıntı seviyeleri gibi konular da sıklıkla gündeme gelmektedir.

Örneğin, rotasyonların nasıl planlanacağı ile ilgili yaklaşım, EU GMP ANNEX 1 ve PIC/S-Good Manufacturing Practice'de "where disinfectants are used more than one type should be employed" ifadesi ile yer almakta ve dezenfektan kullanılan alanlarda birden fazla çeşit dezenfektan uygulamasının takip edilmesi gerekliliği ortaya konmaktadır.

Seçilecek dezenfektanların çeşidi ve uygulama sıklığı alanın mikrobiyal kontaminasyon tipine ve yoğunluğuna bağlıdır. Bu nedenle, düzenli olarak çevresel izleme yapılarak mikrobiyal floranın belirlenmesi en ideal hijyen planının hazırlanması açısından kritik önem taşımaktadır. Bu bulgular her tesiste farklılık göstereceği için rotasyon sıklığı ve uygulanan dezenfektanların çeşidi de tesisten tesise farklılık gösterecektir.

Dezenfektan uygulamalarında kullanılacak olan temizlik ekipmanları, EU GMP Section 3.37'de belirtildiği gibi, "washing and cleaning equipment should be chosen and used in order not to be a source of contamination" kontaminasyon kaynağı olmayacak şekilde seçilmelidir. Temizlik ekipman ve sarflarının hem partikül hem de mikrobiyal kontaminasyon potansiyelleri açısından değerlendirilmesi önerilmektedir.

Hijyen planları hazırlanırken oluşabilecek tüm sorulara kılavuzlarda belirtilen yaklaşımlar ışığında cevap verilmelidir.

Yayımlanan birçok bulgu raporu incelendiğinde dikkat çekici olan, bulguların önemli bir kısmının temizlik ve dezenfeksiyon süreçleri ile ilgili olmasıdır. Bu nedenle, özellikle mikrobiyal kontaminasyon riski olan temizodalarda, temizlik ve dezenfeksiyon planlarının oluşturulması, uygulanması, dökümanite edilmesi ve işletilmesi süreçleri uygun ürün ve prosedürlerle sistematik bir şekilde takip edilmelidir. Ayrıca seçilen ürünlerin sertifikaları, tedarikçi kalite sistemleri, üretim teknikleri ve temizoda içerisinde kullanıma uygun olup olmadığı mutlaka kontrol edilmelidir.



Seçilen dezenfektan ve temizlik maddelerinin steril sahaya uygunluğunu gösteren sertifikaları, tedarikçi kalite sistemleri, üretim teknikleri ve temizoda içerisinde kullanıma uygun olup olmadığı mutlaka kontrol edilmelidir.

GMP kılavuzunun takip edildiği alanlarda temizlik ve dezenfeksiyon planı oluşturulmadan önce, alan özelliklerinin değerlendirilmesi, kontaminasyon kaynaklarının ve risk noktalarının belirlenmesi uygulamaların uzun süreli ve çok daha etkin olmasını sağlayacaktır.

Kök Hücre Uygulamalarında Temizlik ve Dezenfeksiyon Süreçlerinin Risk Değerlendirme Parametreleri

GMP'ye tabi olan tüm alanlarda olduğu gibi Kök Hücre uygulamalarında da temizlik ve dezenfeksiyon planları yapılırken, risk değerlendirmesi amacıyla aşağıdaki temel parametreler incelenmelidir.

- Üretilen ürünün çeşidi (kimyasal, biyolojik, antibiyotik, aşı, kök hücre vb.)
- Üretim alan ve ekipmanları (aseptik dolmuş ve hazırlık, LAF, izolatör vb.)
- Tesisin boyutları ve konumu
- Alanın yoğunluğu (personel sayısı/alan büyüklüğü, günlük yapılan işlem sayısı vb.)
- WFI hazırlık ve temin süreci
- Malzeme transfer noktaları

Üretilen ürünün yapısı ve çeşidi: Alanda kullanılan ürünün yapısı, özellikle biyolojik ya da kimyasal olmasına göre, yüzeyde oluşabilecek kirlilik ve lekelenmeler, alanda görülebilecek mikroorganizmalar ve ürünün yüzeyden temizlenmesi teknikleri üzerinde belirleyici olacaktır.

Üretim alan ve ekipmanları: Hazırlama ve üretim ünitelerinin tipi [LAF (Laminar Air Flow), izolatör, RABS (Restricted-access barrier system) gibi] kontaminasyon riskini artırıcı ya da azaltıcı etki yaratabilir. Örneğin, LAF kabini altında çalışmak, izolatör ile çalışmaya göre daha riskli olarak nitelendirilebilir. Çünkü LAF kabinlerinin kontamine olma riski, hem personelin kabin içerisinde bir bariyer olmadan çalışmasından hem de dış ortama daha açık olmasından dolayı daha yüksektir.

Temizodanın konumu ve çevresel kontami-

nasyon riskleri: Çevresel kontaminantlar malzemelerin transferi ve personel geçişlerinde bulaşma yapabilecekleri için alanlardaki mikrobiyal flora, alanın içerisinde bulunduğu çevrenin koşullarından etkilenmektedir. Bu nedenle, alanın dış çevre yapısı ve bu dış çevreden gelebilecek kirletici çeşit ve miktarları da risk değerlendirmesi süreçlerinde incelenmelidir.

Alanın Yoğunluğu: Alan içerisindeki personel ve malzeme transfer yoğunluğu, mikrobiyal kontaminasyon tipi ve miktarı üzerinde etkili olacaktır. Yoğun giriş-çıkışların olduğu temizodalarda daha yüksek kontaminasyon beklenmektedir. Dezenfektan seçimi ve rotasyon planları ile transfer noktalarındaki temizlik ve dezenfeksiyon uygulaması bu bilgiler değerlendirilerek yapılmalıdır.

WFI (water for injection; enjeksiyonluk su) hazırlık ve temin süreci: Temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinde WFI, hem dezenfektan ve temizlik maddelerinin seyreltilmesi sürecinde hem de durulama amaçlı kullanılmaktadır. Temizodada WFI kaynağı olup olmadığı, olmaması durumunda nasıl temin edilip alana transfer edileceği planlanmalı, tüm bu süreçler boyunca WFI'nin kontamine edilmeden steril alana alınması sağlanmalıdır.

Malzeme Transfer Dezenfeksiyonu: EU GMP ANNEX 1 Madde 22'de "The transfer of materials into and out of the unit is one of the greatest potential sources of contamination." ifadesiyle belirtildiği gibi, malzemelerin alanlara giriş ve çıkış transferleri en büyük potansiyel kontaminasyon kaynaklarından biridir. Bu nedenle, steril sahaya alınacak olan malzemelerin etkili bir şekilde, uygun dezenfektan ve silme teknikleriyle, dezenfekte edilmesi gerekmektedir.

ETKİLİ HİJYEN PLANINI OLUŞTURABİLMEK: "MÜKEMMEL DEZENFEKTAN"

Tüm mikroorganizmaları öldürebilen, durulama gerektirmeyen, kalıntı bırakmayan, hem temizliği hem de dezenfeksiyonu aynı anda yapan, yüzeylere zarar vermeyen, kullanımı kolay, kokusuz, farklı formatlarda bulunabilen, steril alan koşullarına uygun vb... genellikle tek bir dezenfektandan tüm bu parametrelerin aynı anda karşılanması istense de tüm bu özellikleri aynı anda sağlayabilecek "mükemmel bir dezenfektan" bulunmamaktadır.

Burada ana hedef her bir dezenfektanın avantajlarını öne çıkaran ideal rotasyonu oluşturmak ve yukarıda belirtilen tüm risk değerlendirmeleri yapılarak alana özel temizlik ve dezenfeksiyon planları oluşturabilmektir.

TEMİZLİK VE DEZENFEKSİYON SÜREÇLERİNİN AYRIMI

Bilindiği üzere temizlik ve dezenfeksiyon tamamen farklı süreçlerdir ve temizodalarda da ayrı olarak uygulanmalıdırlar. Temizlik, hem yüzeylerde kalıntı birikimini önlemek, hem de oluşabilecek olan dökülmeye ya da lekelenme durumlarında uygulanması gereken oldukça önemli bir süreçtir. Dezenfeksiyonun, temiz yüzey üzerinde yapılması gerekmektedir çünkü yüzeylerde bulunan özellikle organik kirlikler, dezenfektanları inaktif ederek etkinliklerini azaltabilir.

Özellikle kök hücre/kordon kanı laboratuvarlarında doku/kan vb. ürünlerle çalışıldığı için bu gibi organik kirliklerin dökülmesi ve yüzeyi kontamine etmesi durumunda mutlaka önce uygun temizlik ajanı ile yüzeyden uzaklaştırılmaları, ardından dezenfeksiyon işleminin yapılması gerekmektedir. Temizlikte kullanılan ajanlar da, tıpkı dezenfektanlar gibi steril alana uygun ve gereklilikleri sağlıyor olmalıdır.



nin yapılması gerekmektedir. Temizlikte kullanılan ajanlar da, tıpkı dezenfektanlar gibi steril alana uygun ve gereklilikleri sağlıyor olmalıdır.

TEMİZLİK VE DEZENFEKSİYONDA İYİ UYGULAMA TEKNİKLERİ VE EĞİTİMLERİ

USP<1072>'de 'Staff involved in disinfection require training in microbiology, industry practices for cleaning and sanitization, safe handling of concentrated disinfectants, the preparation and disposal of disinfectants, and appropriate application methods.' ifadesi ile operatörler ve temizlik personeli için detaylı bir eğitim planı hazırlanması önerilmektedir. İçerikte mikrobiyoloji, doğru temizlik ve dezenfeksiyon tekniklerinin ürün kalitesi, GMP'nin temel gereklilikleri ve hastaların güvenliği açısından önem vurgulanmalıdır. Eğitim, doğru silme teknikleri, bez katlama teknikleri ve transfer dezenfeksiyonu pratikleri ile desteklenebilir.

Özet

Kök hücre uygulamalarının temizlik ve dezenfeksiyon planları hazırlanırken, gerek alanlarda takip edilen regülasyonların sıklığı, gerekse çalışılan ürünün hassasiyeti sebebiyle, detaylı risk değerlendirmesi yapılmalıdır.

Bu risk değerlendirmesi; hem alan özellikleri ve çevresel etkileri içeren yukarıdaki parametreleri hem de kullanılacak ürünlerin sertifikasyon (sterilite, analiz, partikül), teknik yeterlilik (etkinlik ve yüzey uyumluluk raporları, üretim koşulları, kalite dökümantasyonu) ve regülasyonlara (ulusal ve uluslararası) uygunluğuna göre yapılmalıdır.

Kaynaklar

1. NIH Stem Cell Information Home Page. In Stem Cell Information [World Wide Web site]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2016 [cited September 11, 2017] Available at < //stemcells.nih.gov/info/basics/1.htm >

2. International Society for Stem Cell Research (ISSCR) Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation, May 2016

YAZAR HAKKINDA

Ece Erbeyen Kuralay, 2013 yılından bu yana Ecolab Yaşam Bilimleri tek yetkili distribütörü olan Ant Teknik Cihazlar'da Ecolab ürün sorumlusu olarak çalışmaktadır. Başlıca sorumlulukları arasında Ecolab ürünlerinin satışı, GMP regülasyonlarına uygun hijyen planlarının hazırlanması, kullanıcı eğitimleri ve stok yönetimi olan Kuralay, ayrıca Temizoda Teknolojileri Derneği Eğitim Komisyonu'ndaki çalışmalarını aktif olarak yürütmektedir.