



# Optimizarea proceselor de fabricatie



M. Ene, L. Trandafir, F. Zorila, M. Constantin

Simpozion de lansare a proiectului GAMMA-PLUS

*"Cresterea competitivitatii prin inovare si imbunatatirea proceselor de fabricatie cu iradiere gamma tehnologice"*

24 februarie 2017, IFIN-HH / Biblioteca Nationala de Fizica, Magurele, jud. Ilfov

# Caracteristici proiect

- ❑ Scop: imbunatatire (produse, servicii) / dezvoltare de produse, servicii noi / optimizare (proces)
- ❑ Nevoile intreprinderii:
  - reducerea costurilor prin: introducerea de materii prime mai accesibile, economia de energie, manopera, etape de procesare.
  - Imbunatatirea calitatii produselor / serviciilor oferite (plus-valoare)
- Cuvinte cheie pentru implementare: “Studii”, “Incercari / Teste”
- Livrabile: “Raport de cercetare” / “Studii” - experimentale si/sau bibliografice, insotite de “buletine / rapoarte de analiza”.

# Premize:

- Identificarea exacta si corecta a problemei (“nevoia intreprinderii”)
  - ❖ intalniri / discutii detaliate
  
- Corelarea problemei cu posibilitatile noastre de solutionare
  - ❖ livrabil: oferta particularizata (incercarile / metodele propuse, semnificatia rezultatelor, timp de realizare, pret) / contract



# Categorii de servicii de cercetare oferite de IFIN-HH prin departamentele IRASM si DFVM

- Iradierea (experimentală, tehnologică)
- Analize care pun în evidență efectele iradierii:
  - Analize de microbiologie / imunologie / biochimie
  - Analize de biocompatibilitate a materialelor / citotoxicitate / potențial (anti-)tumoral
  - Analize de chimie
  - Analize de rezistență fizico-mecanică

# Iradierea experimentală pentru optimizarea proceselor / îmbunătățirea produselor / dezvoltarea de produse noi

- Iradierea de probe (volum mic)
- La diferite doze
- Montaje dedicate (*conditii speciale*): temperaturi scăzute (ex. gheața carbonică), atmosferă și/sau presiune controlate



# Iradierea si teste post-iradiere pentru optimizarea proceselor / imbunatatirea produselor / dezvoltarea de produse noi

- Incercari de supra-iradiere: identificarea modificarilor inacceptabile in produs / material - in cazul depasirii dozei: ambalaj / produs casant, cu miros urat, modificare de culoare / transparenta / consistenta
- Teste post-iradiere:
  - incercari mecanice (ex. ambalaje)
  - teste de chimie (ex. compusi organici volatili in produs)
  - rezistenta la digestie enzimatica (gradul de fragmentare a lanturilor polimerice; ex. la celuloza, colagen)
  - teste pentru efectele biologice (ex. efectele citotoxice)
    - exista referinte care arata chiar ca iradierea gamma reduce semnificativ efectul pirogen al endotoxinelor bacteriene ([Elin RJ](#), [Csako G.](#), 1989)
- precizarea dozei maxime in comanda
- posibilitati de combinare a mai multor tipuri de produse la iradierea de proces (pret scazut)

# Iradierea si teste post-iradiere pentru optimizarea proceselor / imbunatatirea produselor / dezvoltarea de produse noi

➤ Aflarea dozei biocide adecvate / suficiente (rationament similar *validarii sterilizarii*) pentru produse:

- nesterile (reducerea incarcaturii microbiene): ex. medicamente ori suplimente alimentare cu administrare orala.

***A nu se folosi tehnologia pentru a ascunde conditii neigienice de fabricatie !!***

- din domenii nereglementate: ex. bunuri in stare vizibila de degradare microbiana (arhive, mobilier, diferite colectii etc.)

➤ Teste: microbiologice (cantitative si/sau calitative)

→ precizarea unei doze minime in comanda, corelata cu contaminarea (medie) a produselor



# Iradierea si teste post-iradiere pentru optimizarea proceselor / imbunatatirea produselor / dezvoltarea de produse noi

- Identificarea conditiilor in timpul iradierii (temperatura, atmosfera, presiune) optime pentru stabilitatea structurala a unor polimeri naturali sau tesuturi (ex. collagen - seringi pre-umplute, membrane; valve sau tesut pericardic porcine - grefe). Evitarea sau accentuarea cross-linking-ului (ex. al proteinelor fibrilare).
- Teste post-iradiere:
  - Incercari fizico-mecanice
  - Analize chimice (ex. compusi organici volatili, radicali liberi trapati - Spectroscopie REP / RES, spectroscopie FTIR, FT-Raman)
  - Incercari de biochimie: migrare electroforetica pentru stabilirea marimii moleculelor polimerice si estimarea gradului de rupere / depolimerizare / cross-linking



# Oferta de servicii de cercetare a Lab. de Microbiologie IRASM - aplicatii pentru optimizarea proceselor de fabricatie

- a. Analize acreditate EN ISO 17025 : 2005  
(Cerinte generale pentru competenta laboratoarelor de incercari si etalonari)
  
- b. Alte analize de microbiologie / imunologie / biochimie

## a. Analize microbiologice acreditate EN ISO 17025:

### 1. Determinarea cantitativa si calitativa a contaminarii microbiene

- conform *Eur. Pharmacopoeia* - ed. armonizata (cap. 2.6.12. *Microbial enumeration test* si 2.6.13. *Microbial examination of non-sterile products*).

### 2. Testarea Sterilitatii

- conform *Eur. Pharmacopoeia* - editia armonizata (cap. 2.6.1. *Sterility*)

### 3. Determinarea endotoxinelor bacteriene

- conform *Eur. Pharmacopoeia* - ed. armonizata (cap. 2.6.14. *Bacterial endotoxins*)



# 1. Determinarea cantitativa si calitativa a contaminarii microbiene - conform *Eur. Pharmacopoeia* - ed. armonizata

- Analiza este una complexa si are mai multe componente (parametri de testat), ce se pot aborda in combinatia si numarul de replicare relevante pentru dezvoltarea sau imbunatatirea respectivului produs sau proces, in cadrul unui studiu special.
- Durata: ~7 zile.
- Unitatea de raportare a rezultatului este, in mod obisnuit, gramul sau mililitrul de proba. In functie de natura probei si de cerintele studiului / specificatia propusa, unitatea de proba pe care se raporteaza poate fi modificata (ex. UFC / 1 bucata produs, 25 ml, 100 cm<sup>2</sup>).

# 1.1. Analize cantitative ale florei microbiene aerobe mezofile din produse

- Total germeni aerobi - TAMC (*Total Aerobic Microbial Count*).  
Rezultat: UFC / gram sau ml de proba
- Total bacterii (*Total bacteria*). Rezultat: UFC / gram sau ml de proba
- Total fungi (*Total fungi* sau *Total combined yeasts and molds count*);  
Metoda evidentiaza atat drojdiile cat si mucegaiurile (rezultat global). Rezultat: UFC / gram sau ml de proba.
- Total drojdii (*Total yeasts*). Rezultat: UFC / gram sau ml de proba.
- Total mucegaiuri (*Total molds*). Rezultat: UFC / gram sau ml de proba



## 1.2. Analize calitative ale florei aerobe din produse: evidentierea microorganismelor specificate (*Test for specified microorganisms*):

- ❑ Prezenta bacteriei *Escherichia coli* (rezultat calitativ: prezent-absent / gram sau ml de proba)
- ❑ Prezenta bacteriei *Pseudomonas aeruginosa* (rezultat calitativ: prezent-absent / gram sau ml de proba)
- ❑ Prezenta bacteriei *Staphylococcus aureus* (rezultat calitativ: prezent-absent / gram sau ml de proba)
- ❑ Prezenta bacteriilor din genul *Salmonella* (rezultat calitativ: prezent-absent / 10 grame sau ml de proba)
- ❑ Bacterii gram-negative tolerante la medii cu *bila*:
  - Determinare cantitativa (*Bile-tolerant gram negative bacteria - quantitative evaluation*).  
Rezultat: numar de bacterii gram-negative tolerante la medii cu bila, estimat pe intervale de rezultat / gram sau ml de proba: <10; 10-100; 100-1000; >1000.
  - Determinare calitativa (*Bile-tolerant gram negative bacteria - qualitative evaluation*).  
Rezultat: prezent - absent bacterii gram-negative tolerante la medii cu bila / gram sau ml de proba.

## 1.3. Analize ale florei aerobe din mediul de productie

- Total germeni aerobi - TAMC (*Total Aerobic Microbial Count*);  
→ rezultat: UFC / unitatea de raportare specifica .
  - Prezenta bacteriilor: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, bacterii gram negative tolerante la medii cu bila  
→ rezultat calitativ: prezent-absent / unitatea de raportare specifica
- **Analizele se pot aplica la probe de:**
- AER - Rezultat: / m<sup>3</sup>.
    - Metoda prelevării active (impactare - *MAirT*)
    - Sau
    - Metoda sedimentării pasive (in placi petri)
  - APA - Rezultat: / volum. Metoda filtrării.
  - SUPRAFETE de lucru- Rezultat: / ...cm<sup>2</sup>
  - AMPRENTA operatorului - rezultat: / amprenta (5 degete)



## 2. Testarea Sterilitatii

- conform *Eur. Pharmacopoeia* - ed. armonizata  
(cap. 2.6.1. *Sterility*)

➤ Tehnici:

- Inocularea directa - recomandata indeosebi la dispozitivele medicale
- Filtrare in sistem inchis - recomandata pentru produse medicamentoase

➤ Rezultat calitativ: steril / nesteril pe lot sau pe proba - in functie de cerinta beneficiarului.

➤ Durata: ~3 saptamani

### 3. Determinarea endotoxinelor bacteriene - conform *Eur. Pharmacopoeia* - ed. armonizata (cap. 2.6.14. *Bacterial endotoxins*)

- Metoda chinetico-cromogena (sistem *PTS - Charles River*)
- Rezultat: unitati de endotoxina / gram, ml sau item
- Durata: ~ 5 zile
- Analiza obligatorie la toate medicamentele si dispozitivele medicale care intra in contact cu fluidele corpului (inclusiv pentru tratarea ranilor)



# Probe / matrici ce pot fi analizate:

## ➤ Produse farmaceutice sau dispozitive medicale:

- **medicamente finite**, cu toate caile de administrare (ex. comprimate, drajeuri, capsule, geluri, pulberi, solutii, siropuri, unguente, creme, supozitoare, spray)
- **rasini farmaceutice si alte materii prime** pentru medicamente, inclusiv de origine vegetala si substante active.
- **dispozitive medicale** nesterile (ex. de uz dermic) sau sterile, din diferite materiale (ex. plastic, sticla, lemn, metal, fibre naturale sau sintetice), cu toate caile de administrare (ex. fire si plase chirurgicale, piese de implant, plasturi, pansamente - impregnate sau nu, dispozitive transdermice, etc.).
- **Suplimente alimentare** inrudite cu medicamentele (care au ca document de referinta Farmacopeea - ex. ceaiuri, extracte din plante, uleiuri, fractii din produse animale etc.)
- **Cosmetice** (creme, unguente, geluri, sapunuri, spray)
- **Materii prime** care intra in componenta celor de mai sus (inclusiv ambalaje, suporturi in contact cu produsul)

## ➤ Probe de apa, aer, suprafete sau amprente ale operatorilor - din mediul de productie

# Validarea metodei

- Orice analiza acreditata efectuata la Laboratorul de Microbiologie IRASM este precedata de *Validarea Metodei* - testul de adecvare a protocolului de lucru la produsul de testat (Pharmacopeea Europeana, ed. armonizata). Laboratorul elaboreaza un protocol de lucru detaliat, specific fiecarui tip de proba in parte.
- Validarea se efectueaza o singura data, inainte de prima analiza a unui produs si este valabila cata vreme acesta ramane nemodificat.



## b. Alte analize si servicii de microbiologie, folosind atat tehnici clasice, de cultivare, cat si tehnici de biologie moleculara, imunologie, biochimie

- Identificarea sau caracterizarea / fenotiparea unor microorganisme (metode paralele, comparatii); arbori filogenetici, stabilirea inrudirii intre diferite izolate.
- Determinarea sensibilitatii unor izolate sau populatii microbiene la biocizi chimici (ex. dezinfectanti) sau fizici (ex. radiatii gamma) si stabilirea dozei de tratament / dozare substanta activa, efecte sinergice.
- Masurarea raspunsului in urma imunizarii, la animale de laborator, prin cuantificarea sintezei de anticorpi (tehnica ELISA), impotriva unui anumit antigen / izolat microbial.
- Determinarea gradului de depolimerizare / fragmentare a unui polimer natural, prin electroforeza submersa
- Modificarea susceptibilitatii la liza/ degradare enzimatica in urma unei proces

# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“nevoia”): produs prea contaminat - limita depasita
- Solutii:
  - ✓ identificarea cauzei
  - ✓ Introducerea sau excluderea de etape in proces sau prelungirea / scurtarea unor etape; bariere fizice sau chimice
- ❖ Prin natura contaminantilor, analizele pot indica:
  - Sursa de contaminare: apa de productie, apa de spalare masini, materia prima (de obicei cele de origine naturala), igiena defectuoasa a lucratorilor
  - Cazuri: izolat bacterian majoritar sau chiar unic, izolat tipic unui anumit mediu (apa/aer, atmosfera anaeroba), grup de izolate cu origine comuna (ex. bacterii fecale, tegumentare)
- Posibile recomandari:
  - implementarea unei proceduri de igienizare a mainilor,
  - purtarea de echipament de protective adecvat,
  - instalarea unor filtre mecanice (pentru aer sau lichide), lampi UV (pentru incaperi sau apa)
  - prelungirea sau intensificarea unor etape de proces care au si rol antimicrobial (ex. extractie, filtrare, pasteurizare etc.)



# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“*nevoia*”): dorinta de extindere
  - pe piete noi (arii geografice)
  - In alte domenii ale pietei (ex. ingredient din domeniul alimentar cu care se doreste patrunderea pe piata farma: celuloza, gelatina)
- Solutii propuse:
  - Suplimentarea analizelor fata de cerintele actualului referential (ex. cu analizele cerute de Farmacopee, prin metodele specificate acolo; analizele cerite de referentiale locale)

# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“nevoia”): dorinta de stabilire sau extindere a termenului de valabilitate
- Solutii propuse:
  - Studii de stabilitate: efectuarea analizelor recomandate de referential la diferite intervale dupa data de expirare.
  - !! A se completa cu analizele chimice si, dupa caz, fizico-mecanice (integritate ambalaje) !!



# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“*nevoia*”): stabilirea conditiilor de pastrare
- Solutii propuse:
  - Efectuarea analizelor recomandate de referential in diferite conditii de pastrare: temperatura, umiditate
  - !! A se completa cu analizele chimice !!
  - ! A se corela cu termenul de valabilitate !

# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“nevoia”): stabilirea necesitatii adaugarii de substante prezervante si concentratia acestora
- Solutii propuse:
  - Efectuarea analizelor recomandate de referential la diferite tipuri si concentratii de substante cu rol de conservare
  - !! A se corela cu termenul de valabilitate si conditiile de pastrare !!



# Analize de microbiologie pentru optimizarea proceselor de fabricatie - Scenarii

- Problema (“*nevoia*”): stabilirea concentratiei biocide optime/minime pentru un produs dezinfectant nou (ex. substanta sau combinatie noua de substante active → efecte sinergice?),
- Inklusiv stabilitatea efectului biocid dupa diluare (termen de pastrare a solutiei dupa diluare)
- Solutii propuse:
  - Efectuarea testelor de sensibilitate la biocidul propus, pe diferite tulpini de referinta si izolate proprii (specii reprezentative pentru modul de aplicare dorit)
    - Determinarea CMI si/sau a CMB pentru fiecare izolat, la diferite concentratii si momente dupa diluare
  - Demonstrarea efectului sinergic al combinatiei de substante (potentarea efectului combinatiei fata de aceleasi substante - folosite singure).

**Va multumesc pentru atentie !**