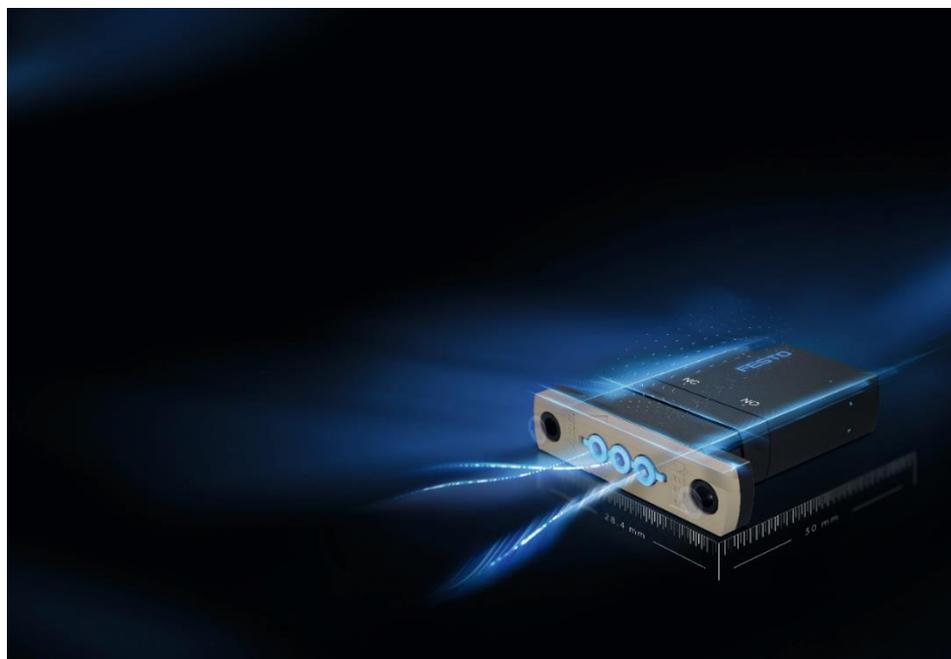


Reinigbarkeit mediengetrennter Membranventile in Applikation mit Bakterien, Proteinen und weiteren Biostoffen

Abreinigung von Keimen, Endotoxinen und TOC gezeigt am Beispiel der Kontamination mit *E.coli* Bakterien und einem kommerziell erhältlichen PCR-Kit.

VYKA
VYKB
VYKC
VAVN
VABS



Titel Reinigbarkeit mediengetrennter Membranventile
Version 1.10
Dokumentennummer 100703
Original de
Autor Festo

Letztes Speicherdatum 17.10.2024

Urheberrechtshinweis

Diese Unterlagen sind geistiges Eigentum der Festo SE & Co. KG, der auch das ausschließliche Urheberrecht daran zusteht. Eine inhaltliche Änderung, die Vervielfältigung oder der Nachdruck dieser Unterlagen sowie deren Weitergabe an Dritte ist nur mit der ausdrücklichen Erlaubnis der Festo SE & Co. KG gestattet.

Festo SE & Co. KG behält sich das Recht vor, dieses Dokument vollständig oder teilweise zu ändern. Alle Marken- und Produktnamen sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Titelhälter.

Rechtliche Hinweise

Hardware, Software, Betriebssysteme und Treiber dürfen nur für die beschriebenen Einsatzfälle und nur in Verbindung mit den von Festo SE & Co. KG empfohlenen Komponenten verwendet werden.

Festo SE & Co. KG lehnt jede Haftung für Schäden ab, die durch die Anwendung von allenfalls falschen bzw. unzureichenden Informationen oder aufgrund fehlender Informationen in diesen Unterlagen entstehen.

Defekte, die durch unsachgemäße Behandlung von Geräten und Baugruppen entstehen, sind von der Gewährleistung ausgeschlossen.

Sicherheitsrelevante Funktionen, im Sinne von Personen- und Maschinenschutz, dürfen mit Angaben und Informationen aus diesem Dokument nicht realisiert werden.

Für Folgeschäden, die durch einen Ausfall oder eine Funktionsstörung entstehen, wird dann jede Haftung abgelehnt. Im Übrigen gelten die Regelungen bzgl. Haftung aus den Liefer-, Zahlungs- und Softwarenutzungsbedingungen der Festo SE & Co. KG, welche Sie unter www.festo.com finden, welche wir Ihnen aber auch auf Anforderung gerne zukommen lassen.

Alle in diesem Dokument angegebenen Daten sind keine zugesicherten Eigenschaften, insbesondere nicht für Funktionalität, Zustand oder Qualität im rechtlichen Sinn.

Die Informationen dieses Dokuments gelten nur als einfache Hinweise für die Umsetzung einer ganz bestimmten, hypothetischen Anwendung, keinesfalls als Ersatz für die Bedienungsanleitung der jeweiligen Hersteller sowie der Konstruktion und Prüfung jeweils eigenen Anwendung durch den Benutzer.

Die jeweiligen Bedienungsanleitungen der Festo Produkte sind unter www.festo.com zu finden.

Der Benutzer dieses Dokuments (Funktion und Anwendung) muss selbst sicherstellen, dass jede Funktion die hier beschrieben ist, auch in seiner Applikation ordnungsgemäß funktioniert. Der Benutzer bleibt auch durch das Studium dieses Dokuments sowie der Nutzung der darin genannten Angaben weiterhin allein verantwortlich für die eigene Anwendung.

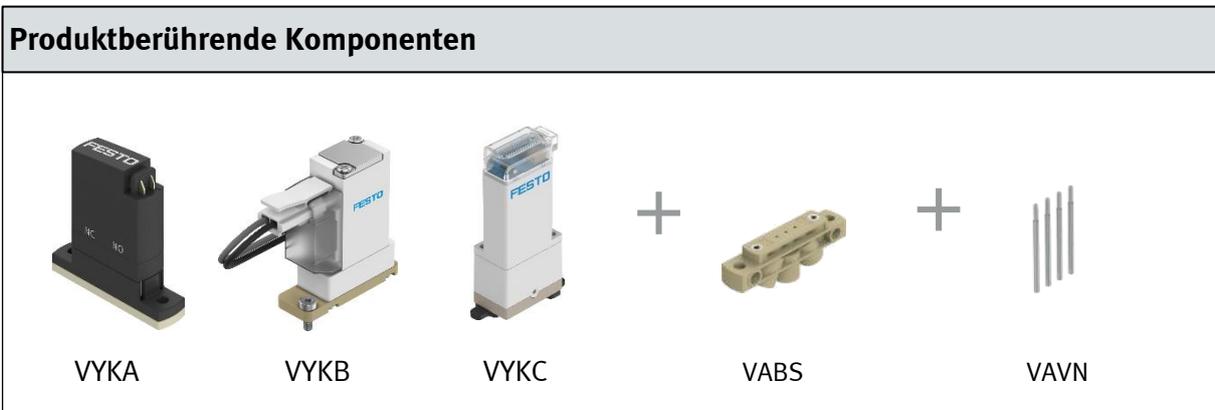
Inhaltsverzeichnis

1	Materialkompatibilität und geringe Totvolumina	5
2	Reinigbarkeit Bakterien und Endotoxine	7
3	Reinigbarkeit Proteine und andere organische Verbindungen	9
4	Reinigbarkeit im Umgang mit Biostoffen	11

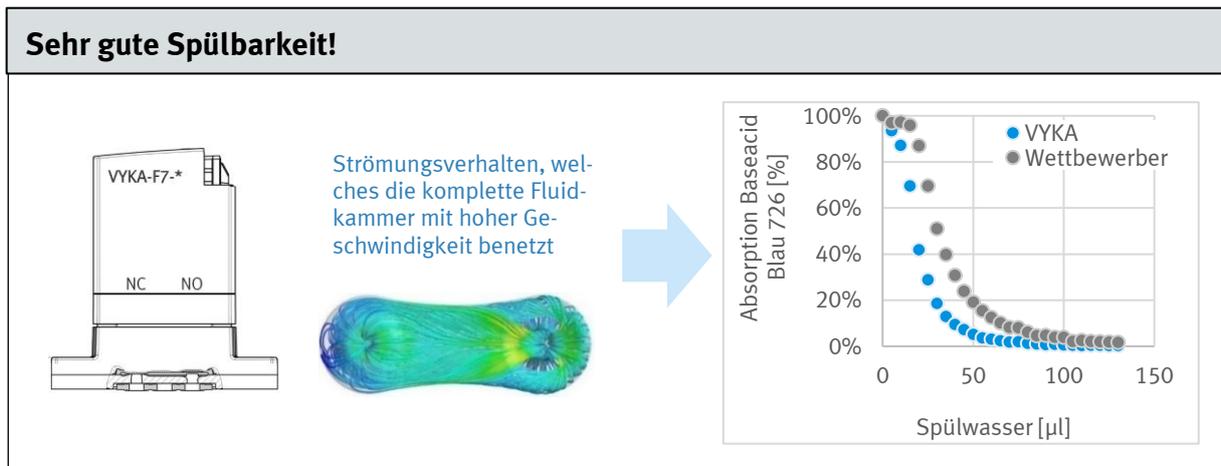
1 Materialkompatibilität und geringe Totvolumina

Mediengetrennte Ventile sind ideal für den Einsatz aggressiver Medien geeignet. Dabei ist die Mechanik des Ventils durch eine Membran vom Medium geschützt, sodass das Medium nur in Kontakt mit der Membran kommt, welche aus Hochleistungspolymeren besteht. Durch die hohe Materialbeständigkeit sowie den geringen Totvolumina eignen sich diese Ventile hervorragend für den Umgang mit biologischen Substanzen wie beispielweise mit Zellen oder Proteinen. Beispiele für mögliche Applikationsbereiche reichen von Downstreamprozessen wie Proteinreinigungen, analytischen Methoden wie PCR-Analysen, bis hin zu Dosieren von Flüssigkeiten wie Medien, Säuren und Basen in den Bioreaktor. Dort sind geringe Totvolumina und eine hohe Materialbeständigkeit gegenüber aggressiven Chemikalien zur Reinigung von großer Bedeutung.

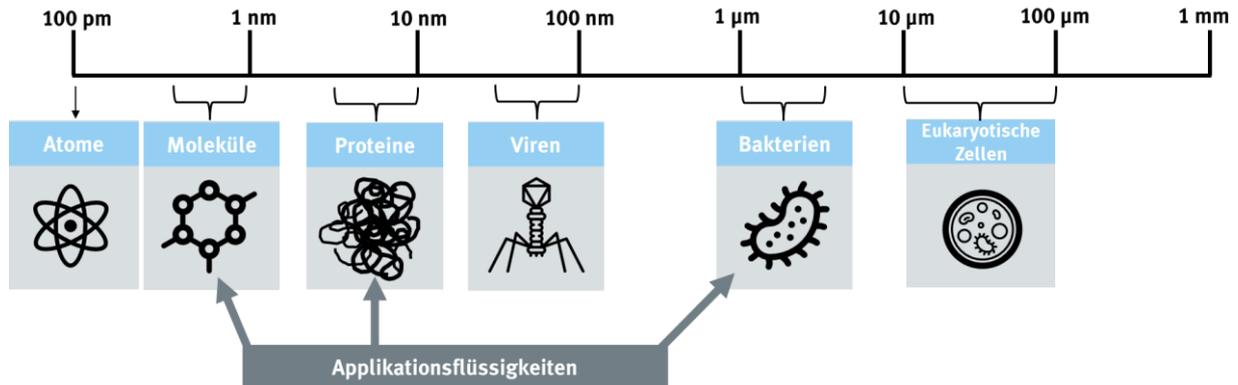
Mediengetrennte Membranventile von Festo, wie beispielsweise das VYKA oder VYKC sind durch ihre FDA-gelisteten Materialien flexibel in verschiedensten Applikationen einsetzbar. Je nach Applikation kann zwischen drei verschiedenen Membranen gewählt werden, FKM, FFKM und EPDM. Zusammen mit der Anschlussplatte aus dem Material PEEK sind alle produktberührenden Materialien gegenüber starken Reinigungschemikalien, wie Ethanol oder Natriumhydroxid hochrobust. Weitere Materialkompatibilitäten können Sie unserer Festo Medienbeständigkeitstabelle entnehmen auf [Medienbeständigkeit | Festo DE](#)



Die kompakte Bauweise mit geringen Totvolumina sorgt für eine gute Spülbarkeit. So kann das Risiko von Biofilmen minimiert werden.



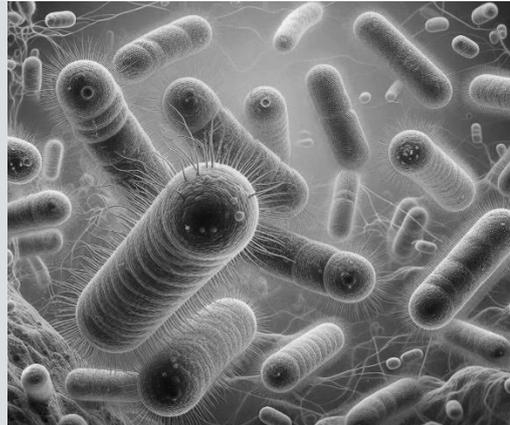
Neben der guten Bauweise und Spülbarkeit konnte in Versuchen gezeigt werden, dass eine Reinigbarkeit gegenüber Bakterien, Proteinen und weiteren Biomolekülen gegeben ist. Dazu wurden die Ventile mit verschiedenen Biomolekülen auf verschiedenen Größenebenen kontaminiert und auf Reinigbarkeit geprüft. Der Erfolg der Reinigung wurde mit Nachweismethoden angelehnt an das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur.) bewertet.



2 Reinigbarkeit Bakterien und Endotoxine

Für die Kontamination auf Zellebene wurde der von allen in der Wissenschaft biochemisch am besten erforschte Organismus *Escherichia coli* (*E. coli*) genommen.

Escherichia coli – ein Bakterium, zu Hause im menschlichen Darmtrakt, hat zu vielen bahnbrechenden Erkenntnissen beigetragen und dient heute als wichtiges Werkzeug in der Industrie und Forschung.



Die Bakteriensuspension wurde in die Ventile gespült und anschließend mit einem geeigneten Reinigungsprozess (Abb.1) abgereinigt. Für die Abreinigung der Keime und Endotoxine wurde Ethanol (EtOH) genutzt. Alle Testventile wurden einer bestimmten Inkubationszeit ausgesetzt.

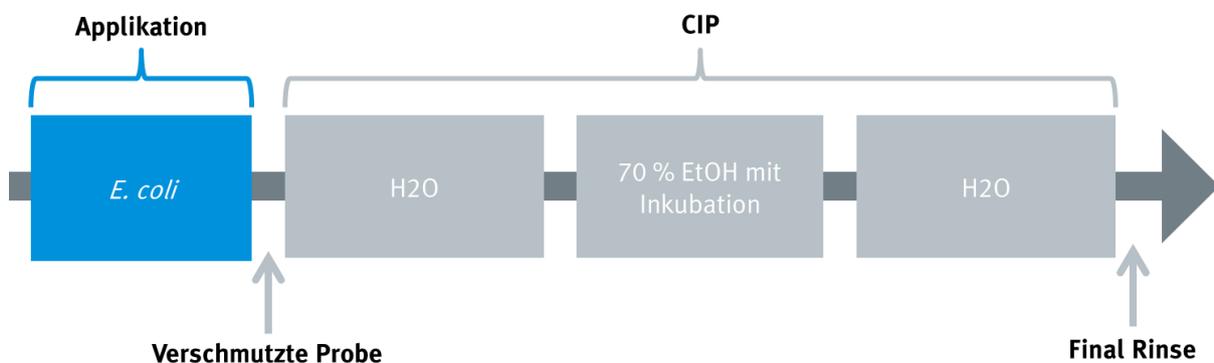


Abb. 1 Reinigungsprozess für im Umgang mit *E. coli*.

Der Erfolg des CIP-Prozesses (Cleaning in Place) wurde angelehnt an Kriterien in der Pharma-Industrie geltend bewertet. Hierfür wurde der Final rinse als letzter Spülschritt der Messung bestimmter Parameter unterzogen. Zur Messung der Gesamtkeimzahl wurde das Final rinse Volumen durch eine Membran gezogen, welche auf Agar-Platten für mehrere Tage bei entsprechender Temperatur inkubiert wurde. Auf unterschiedlichen Agar-Nährböden wurde der Final rinse auf aerobe Bakterien – total aerobic microbial count (TAMC) und Pilze und Hefen – total yeast and mould count (TYMC) untersucht. Anschließend wurden die gewachsenen, kolonie-bildenden Einheiten (KBE) zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf den Platten gezählt. Einige Bakterien besitzen in ihren Zellwänden Endotoxine, welche bereits in kleinsten Mengen als Zerfallsprodukt im menschlichen Körper Fieber und andere physiologische ungewünschte Reaktionen auslösen können. Aufgrund dieser

gesundheitsschädlichen Effekte ist dieser Parameter ebenfalls entscheidend zur Bewertung des Reinigungserfolgs in der pharmazeutischen Industrie. Als weiteren wichtigen Messparameter gibt die Leitfähigkeit Aufschluss über Reste von ionischen Bestandteilen, wie zum Beispiel Salze in Pufferlösungen oder alkalische und saure Reinigungssubstanzen.

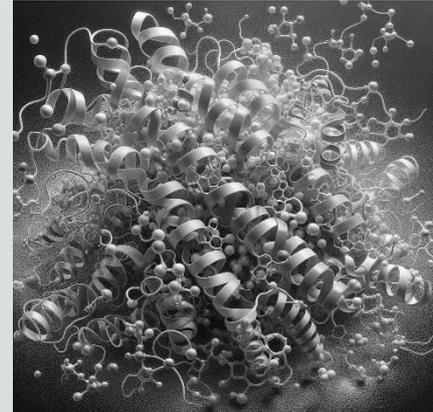
Ventile	Gesamtkeimzahl TAMC [KBE/100 ml]	Gesamtkeimzahl TYMC [KBE/100ml]	Endotoxine [EU/ml]	Leitfähigkeit [μ S/cm]
VYKA 2/2	0	0	<0,01	0,97
VYKA 3/2	0	0	0,04	1,07
VYKB F10 2/2	0	0	<0,01	0,97
VYKB F10 3/2	0	0	0,2	1,06
VYKB F12 2/2	0	3	<0,01	0,67
VYKC 2/2	2	1	<0,01	0,96

Die Ergebnisse der Gesamtkeimzahl sowohl für TAMC und TYMC zeigen für die meisten Testventile keine Kolonien an. Die Werte für Endotoxine und Leitfähigkeit liegen für alle Ventile ebenfalls in einem sehr niedrigen Bereich. Alle Ergebnisse im letzten Spülschritt, dem Final Rinse, liegen unter den offiziellen Grenzwerten von Wasser für Injektionszwecke (WFI), welches in der Pharmaindustrie zur Arzneimittelproduktion Verwendung findet. Mit diesen sehr guten Ergebnissen kann gezeigt werden, dass die Ventile im Umgang mit Bakterien wie *E. coli* abgereinigt werden können.

Zur Prüfung auf Reinigbarkeit organischer Moleküle in einer kleineren Größenskalierung als Bakterienzellen, wurden die Ventile weiteren organischen Verbindungen ausgesetzt und auf Reinigbarkeit geprüft.

3 Reinigbarkeit Proteine und andere organische Verbindungen

Zur Verschmutzung auf Proteinebene wurde ein herkömmliches PCR-Kit verwendet, welches einen Mastermix mit Enzymen, Nukleotiden, Pufferlösungen und Farbstoffen beinhaltet.



Die organischen Verbindungen können über den TOC-Wert nachgewiesen werden. Der Wert ist unspezifisch und ein äußerst wichtiger Parameter, da er die Gesamtmenge an Kohlenstoffverbindungen in einer Probe angibt.

Das PCR-Kit wurde in die Ventile gespült und anschließend mittels Reinigungsprozess (Abb. 2) abgereinigt. Für die Abreinigung der Proteine, Nukleotide und andere organische Substanzen im PCR-Kit wurde Natriumhydroxid (NaOH) und Natriumhypochlorit (NaOCl) verwendet. Die Testventile wurden gefüllt mit den Reinigungsreagenzien einer Inkubationszeit unterzogen.

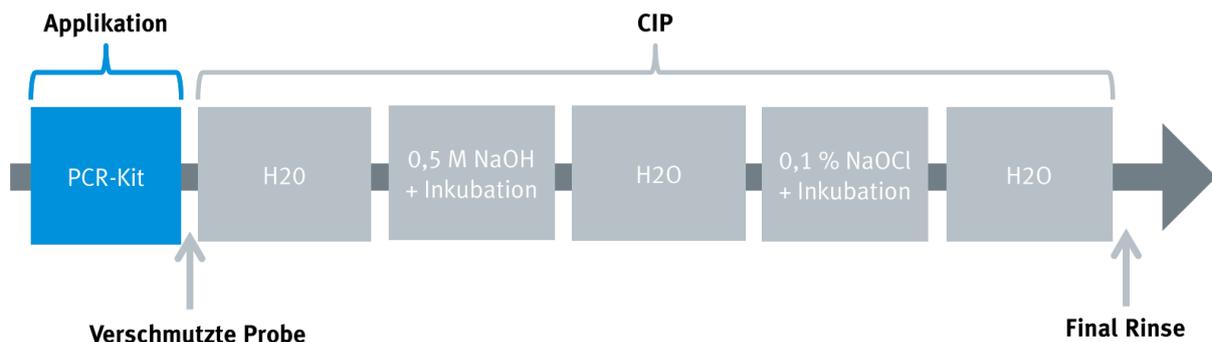
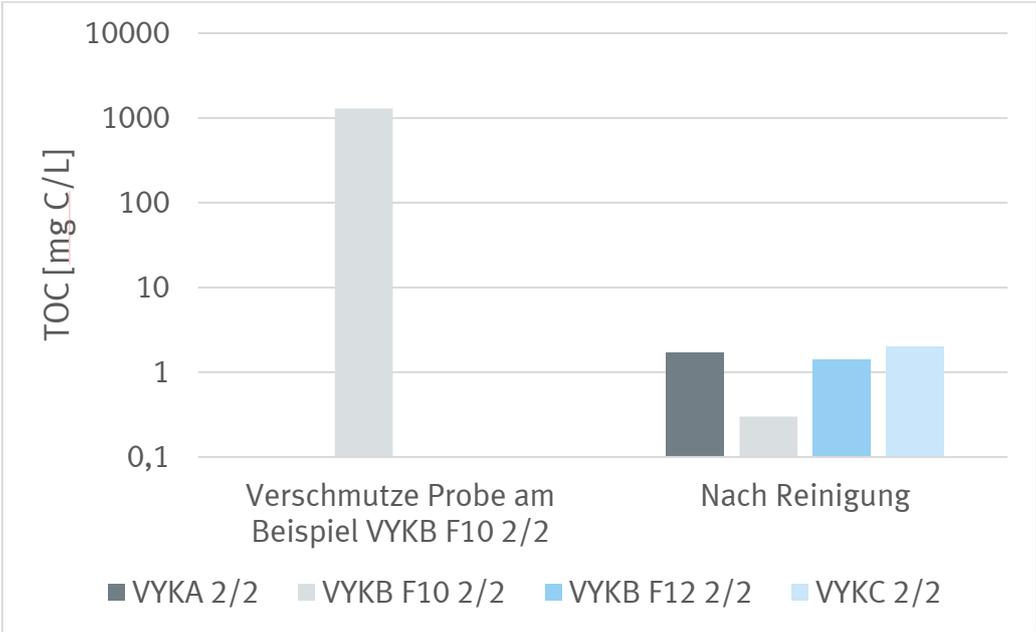


Abb. 2 Reinigungsprozess im Umgang mit einem herkömmlichen PCR-Kit Ready Mix.

Der Erfolg des CIP-Prozesses wurde angelehnt an Kriterien in der Pharma-Industrie geltend bewertet.

Am Beispiel von VYKB F10 2/2 wurde erst eine verschmutzte Probe als Referenz und nach der Reinigung die „Final rinse“-Probe genommen. Der gemessene TOC-Wert zeigt eine Abreinigung der organischen Verbindungen um Faktor 100-1000.



4 Reinigbarkeit im Umgang mit Biostoffen

Aufgrund des vorteilhaften Designs ohne Totvolumina und der Medienbeständigkeit der produktberührenden Bauteile konnten sehr gute Ergebnisse in der Abreinigung von Biostoffen wie Bakterien und Endotoxinen sowie Proteinen und anderen organischen Verbindungen erzielt werden.

Durch evaluierte Reinigungsprozesse sind die Komponenten grundsätzlich im Applikationsbereich von Zellen, Proteinen, Farbstoffen und weiteren organischen Stoffen geeignet und können gereinigt werden. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass eine erfolgreiche Abreinigung stark vom individuell gewählten Reinigungsprozess des entsprechenden Gesamtaufbaus abhängig ist, welcher von 4 Grundfaktoren maßgeblich beeinflusst wird: Zeit, Mechanik, Chemie und Temperatur. Reinigungsverfahren müssen deshalb immer im Kontext der eigentlichen Applikation erprobt und bewertet werden.