

CIP-Prozesse

Qualifizierungskonforme Reinigung von Bioreaktoren mit dem CIP-Ventil
von Dr. Karin Koller, Bioengineering AG

Die Reinigung von biotechnologischen Anlagen ist ebenso strengen Qualitätskriterien unterworfen wie der Produktionsschritt. Die Automatisierung der Vorort-Reinigung (CIP Cleaning-in-place) gewährleistet die Reproduzierbarkeit des Reinigungsprozesses und ermöglicht dadurch dessen Validierung. Speziell für den CIP-Prozess konzipierte Einbauten, wie das CIP-Ventil, ermöglichen höchste Validierungsstandards.

In der Biotechnologie müssen höchste Hygiene- und Reinheitsstandards eingehalten werden. Die gründliche Reinigung der Bioreaktoren verhindert nicht nur Kreuzkontaminationen bei Mehrzweckanlagen, sondern ist auch der erste Schritt zu reproduzierbaren Fermentationen. Gerade in der Lebensmittel- und Pharmaindustrie, aber zunehmend auch in anderen Industriezweigen, unterliegt die Anlagenreinigung den Vorgaben der current Good Manufacturing Practice (cGMP), der Food and Drug Administration (FDA), der European Hygienic Equipment Design Group (EHEDG) oder anderen regionalen oder überregionalen Zulassungsbehörden.

Bei der Anlagenreinigung wird nicht nur der Reaktorkessel mit geeigneten Lösungen gespült, sondern auch alle Zudosierleitungen, Zu- und Abluftrohre mit den entsprechenden Ventilen und Filtern, sowie Ernte- und Probenahmeventile müssen reproduzierbar gereinigt werden.

Bei der Validierung von Reinigungsprozessen muss dafür gesorgt werden, dass der Fermenter vorschriftsgemäss gesäubert wird und keine Produktverschleppungen oder Kreuzkontaminationen eintreten können. Vollständig validiert ist ein CIP-System erst, wenn gewährleistet ist, dass es im eigentlichen Produktionsschritt – in der Biotechnologie ist das üblicherweise die Fermentation – zu keiner Vermischung von Reinigungsmittel und Produkt kommt. Deshalb ist während der Fermentation unbedingt darauf zu achten, dass die produktberührten Teile des Kesselinnenraums nicht mit Resten von Lösungsmittel kontaminiert werden.

Um dies zu gewährleisten, wird mehr und mehr das "Block and Bleed"-Prinzip angewendet. Zwischen CIP-Zu- und Ableitung und Produkt bzw. zwischen Abwasserleitung und Produkt wird ein Sterilkreuz platziert. Die zwei Ventile in der Durchgangsleitung müssen während dem Produktionsprozess geschlossen sein und der Ablauf zwischen diesen Ventilen ist offen, um Druckaufbau zu vermeiden.

Die Reinigung der Anlage kann über mobile Behälter und Verbindungen, oder voll automatisiert über feste Rohrleitungen und Tanks erfolgen. Erstere Methode ist platzsparender und flexibler. Sie kommt hauptsächlich in kleineren Anlagen zur Anwendung, besonders wenn mehrere Reaktoren auf engem Raum gereinigt werden müssen.

Automatisierte Reinigung vor Ort (CIP – Cleaning-in-place) erleichtert die Reproduzierbarkeit und ermöglicht die Validierung des Reinigungsprozesses. Die Integration des Reinigungskreislaufs in vollständig geschlossen betriebenen Anlagen erhöht ausserdem die Betriebssicherheit.

Bei validierten Systemen dürfen nach der Reinigung nachweislich keine Reste der Ausgangsstoffe oder des Produkts oder Spuren des Reinigungsmittels über die definierten zulässigen Konzentrationen hinaus vorhanden sein. Der Grad der Sauberkeit muss in engen, genau definierten Grenzen reproduzierbar erreicht und nachgewiesen werden. Dazu werden am Ende der Reinigung Proben durch Abwischen der Oberfläche (Swab-Test) entnommen. Probenahme der Spüllösung gibt Aufschluss über den Reinheitsgrad in schwer zugänglichen Bereichen. Geeignete Analysemethoden sind etwa Messung der Leitfähigkeit, des pH-Werts, der optischen Dichte, des Proteingehalts oder der biologischen Belastung.

Für die Validierung müssen schwer zu reinigende Stellen der Anlage definiert werden. Dafür wird die Anlage mit Protein verunreinigt. Nach Einfärben des Proteins und einem Spülgang können die schwer reinigbaren Stellen visuell identifiziert werden. Nach der CIP Reinigung werden die definierten Stellen speziell untersucht. Für diese Analyse sollte der gereinigte Teil der Anlage während der Validierungsphase nach Möglichkeit weitestgehend in Einzelteile zerlegt werden.

Nach der Validierung muss vollständig dokumentiert werden, dass kritische Parameter, wie die Temperatur, die Reinigungsmittelkonzentration, die Einwirkzeit, die Anzahl der Spülgänge und die Flussrate bei jeder Reinigung reproduzierbar erreicht werden.

Die Wahl der Reinigungsmittel stellt einen zentralen Faktor in der Planung des CIP-Prozesses dar. Da die Verunreinigungen immer organischer Natur, und durch den Sterilisationsprozess häufig an den Rändern eingetrocknet oder sogar eingebrannt sind, erfolgt die Reinigung meist mit verschiedenen, sukzessiv verwendeten Lösungsmitteln. Diese müssen nach dem Reinigungsschritt oft auch neutralisiert werden.

Die Effizienz des Reinigungsprozesses hängt aber nicht nur von den Eigenschaften der verwendeten Reinigungsmittel ab, sondern auch von der Temperatur, von der Einwirkzeit und von hydromechanischen Faktoren ab. Die Reinigung von Reaktoren kann mit Niederdruck-CIP (bis 3 bar), Mitteldruck-CIP (bis 10bar) oder Hochdruck-CIP (25 bis 60bar) erfolgen. In biotechnologischen Anlagen wird meist die Niederdrucktechnik angewendet, um Sonden, Berstscheiben oder andere Installationen zu schonen und Aerosole zu vermeiden.

CIP-Sprühdüsen werden als statische, rotierende oder höhenverstellbar rotierende Einbauten verwendet. Rotierende Sprühdüsen zeichnen sich durch einen geringen Reinigungsmittelverbrauch aus, sind aber in sterilen Bereichen ungünstiger. Daher haben sich in der Biotechnologie statische CIP-Sprühköpfe durchgesetzt. Durch die Abwesenheit von rotierenden Teilen können die CIP-Kugeln vollständig aus rostfreiem Stahl gefertigt werden. Dadurch wird die Anzahl der Verschleissteile minimiert und die Lebensdauer gegenüber rotierenden Einbauten signifikant erhöht. Ausserdem wird die Leistung der Sprühkugel von kleineren Abweichungen im Betriebsdruck nicht beeinträchtigt. Im Gegensatz zu beweglichen Einbauten besprühen feste CIP-Kugeln kontinuierlich die gesamte Oberfläche, was zu einer Reduktion der zur Reinigung benötigten Zeit führt.

Sprühkugeln sind zumeist im oberen Teil des Reaktors oder im Reaktordeckel montiert. Dadurch erfolgt die Besprühung ausschliesslich von oben. Wegen der für biotechnologische Zwecke notwendigen Einbauten wie den Strombrechern oder dem Rührwerk mit Propeller- oder Scheibenrührern kann es jedoch zur sogenannten Schattenbildung kommen. Dies bedeutet, dass bei der Besprühung durch die CIP-Sprühkugel Bereiche des Kesselinnenraums nicht erreicht werden können, da die Einbauten den Reinigungsmittelstrahl dementsprechend ablenken. Diese Bereiche müssen als schwer zu reinigende Stellen qualifiziert werden.

Früher wurden die Sprüschatten umgangen, indem der Reaktorkessel vollständig oder teilweise mit Reinigungslösung befüllt und dann erhitzt wurde. Dies stellte aber nicht nur eine signifikante Verringerung der Betriebssicherheit dar, sondern war wegen des enorm hohen Verbrauchs an Reinigungsmitteln ökonomisch unvorteilhaft und ökologisch hochgradig bedenklich.

Die moderne Alternative zur Vermeidung von Sprühschatten bilden CIP-Ventile oder bewegliche Einbauten. Da wie bereits oben erwähnt, bewegliche Sprühdüsen die Vorgaben der Zertifizierungsbehörden oft nicht erfüllen können, werden die fest montierten, unbewegten CIP-Ventile bevorzugt. Diese Ventile werden meist in Kombination mit den Sprühkugeln verwendet. Je nach Grösse und Geometrie des Fermenters und der dazugehörigen Einbauten werden ein oder mehrere CIP-Ventile in den unteren Bereich des Kessels und/oder in den Kesselboden montiert. Dadurch wird die Reinigung des Kessels von unten ermöglicht.

Das Reinigungsmittel wird beim Bioengineering-CIP-Ventil über eine Flach- oder Kegelstrahldüse versprüht. Die Sprühhichtung und der Sprühwinkel werden so ausgerichtet, dass der Strahl den Rührer oder andere Einbauten von seitlich unten abspritzt.

Zumeist wird das Rührwerk während der Reinigung bewegt. Diese Rotationsbewegung führt während der Besprühung noch zu einer zusätzlichen Reinigungswirkung, da das Reinigungsmittel von den Rührblättern an die Seitenwände des Kessels geschleudert wird.

CIP-Ventile werden pneumatisch gesteuert. Dies ermöglicht sowohl die manuelle Kontrolle des Ventils, als auch die externe Ansteuerung und somit die Integration in vollautomatische CIP-Kreisläufe.

Besondere Gefahrenquellen für eine Kontamination stellen auch Totzonen von CIP-Ventilen dar. In Kombination mit einer ungenügenden Spülung würden solche Ventile ein hohes Risiko vor allem in bei pharmazeutischen Applikationen darstellen. Deshalb sind CIP-Ventile mit Totzonen für validierte Prozesse nicht zulässig.

Um Totzonen während des Fermentationsprozesses zu vermeiden unter gleichzeitiger Beibehaltung der vollständigen Reinigungswirkung, wird das Bioengineering-CIP-Ventil nur während der Reinigungsphase in den Reaktorinnenraum ausgefahren. Während der Kultivationsphase bleibt das Ventil statisch und kesselbündig abgedichtet und entspricht somit allen Vorgaben der Zulassungsbehörden. Das eingefahrene Ventil benötigt keine Steuerluft, sondern schliesst selbstständig durch Federkraft. Somit kann das CIP-Ventil bei einem Ausfall der Steuerluft die Fermentation nicht beeinträchtigen.

Ein möglicher Reinigungsprozess kann wie folgt aussehen: Vor der eigentlichen Reinigung erfolgt eine Spülung mit Wasser, um die korrekte Ventilstellung, die Dichtheit und die Funktionalität des Systems zu überprüfen. Danach findet der eigentliche Reinigungsschritt zum Beispiel mit einer verdünnten Säurelösung statt. Diese muss im nächsten Schritt mit einer alkalischen Lösung neutralisiert werden. Nach der Neutralisation erfolgen mehrere Spülgänge mit Wasser (meist deionisiertes Wasser oder sogar WFI). Sämtliche Schritte müssen solange wiederholt werden, bis die Anlage vorschriftsgemäss gereinigt ist, bzw. die erfolgreiche Reinigung geprüft wurde.

In der Biotechnologie werden Prozesse aseptisch geführt. Daher hat nach dem Reinigungsschritt die Sterilisation zu erfolgen. Das bedeutet, dass alle produktberührten Teile sterilisiert werden müssen. Somit gehen der SIP- (Sterilization-in-place) und der CIP-Prozess Hand in Hand. Die mit Reinigungsmittel gespülten Bereiche müssen somit auch bedampfbar sein. Das gleiche gilt natürlich auch für das CIP-Ventil. Deshalb sind im Aseptikbereich einsetzbare CIP-Ventile immer mit einem Dampfeinlass und einem Kondensataustritt ausgestattet.

In der Steriltechnik fallen nicht nur bei sich ständig entwickelnden Fragestellungen im Fermentationsbereich komplexe Aufgaben für das Design von Installationen an. Auch der Reinigungsprozess bildet ein weitläufiges Aufgabengebiet zur Lösung von Detailproblemen, besonders im Lichte der strengen Bestimmungen der Zulassungsbehörden. Die während der Fermentation aseptisch abgedichteten CIP-Ventile ermöglichen eine qualitätskonforme Reinigung von Bioreaktoren, weil die Sprüschatten ausschliessen und somit schwer zu reinigende Bereiche im Reaktorinneren minimieren. Gemeinsam mit anderen technischen Installationen und Armaturen können sie in Anlagen integriert werden, um einen funktionsfähigen und validierbaren Reinigungsprozess zu gewährleisten.