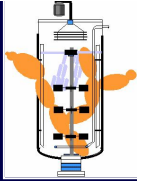


STERILEZÉS



FOGALMAK: STERILITÁS -- STERILITY

ASZEPTIKUSSÁG -- ASEPTICITY

ELSZIGETELÉS, IZOLÁLÁS -- CONTAINMENT

Mikrobák elpusztítása

Mikrobák távoltartása a környezetben I

**Mikrobák távoltartása a rendszerben I
aszseptikus működés=steril működés**

**Patogének }
Vírusok } vakcinatermelés
GMO-k**

**rDNS termeléssel
kapcsolatos problémák**

**OECD 1986 ó Recombinant DNA
Safety Considerations
EC 1990 Council Directive on the
Contained use of GMOs**

GMO

I.: kis rizikó

II.: a többi

A biológiai biztonság 4 szintje EüM 61/1999 (WHO alapján)

1. szint - alap biológiai kockázatú (BSL 1)

az a biológiai tényez , amely nem képes emberi megbetegedést okozni

2. szint - alap biológiai kockázatú (BSL 2)

az a biológiai tényez , amely
É képes emberi megbetegedést okozni,
É veszélyt jelenthet
É elterjedése nem valószínű ,
É az általa kiváltott betegség eredményesen megelőzhető , vagy kezelése hatásos



3. szint ó fertőzésveszélyes (BSL 3)

súlyos emberi megbetegedéseket képes okozni (akár halálosat),
É komoly veszélyt jelenthet
É szétterjedésének kockázata az emberi közösségben fennállhat,
É általában eredményesen megelőzhető , vagy kezelése hatásos

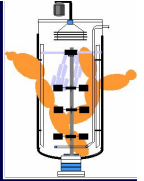
4. szint - kiemelten fertőzésveszélyes (BSL 4)

súlyos emberi megbetegedést okoz, (akár halálosat)
É komoly veszélyt jelent a munkavállaló számára,
É az emberi közösségben való szétterjedésének nagy a kockázata,
É általában nem előzhető meg, vagy nem kezelhető hatásosan

Ág négy szintjére jellemző mikroorganizmusok

	I.	II.	III.	IV.
BAKTÉRIUMOK	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Escherichia coli</i> É <i>Lactobacillus</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Vibrio cholerae</i> É <i>Clostridium tetani</i> É <i>Corynebacterium diphtheriae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Bacillus anthracis</i> É <i>Yersinia pestis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Mycoplasma mycoides</i>
GOMBÁK	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Candida albicans</i> 	<ul style="list-style-type: none"> É <i>Histoplasma capsulatum</i> É <i>Coccidioides immitis</i> 	
VÍRUSOK	<ul style="list-style-type: none"> É Vakcinálás-hoz használt influenza törzs 	<ul style="list-style-type: none"> É Hepatitis É Influenza É Herpes simplex 	<ul style="list-style-type: none"> É HIV É Sárgaláz É Creutzfeldt-Jacob betegség (prion!) 	<ul style="list-style-type: none"> É Ebola É Marburg vírus É Közép-Európai encephalitis (agyvelogyulladás) vírus (EU-ban csak III. szint)

STERILEZÉS



FERT ZÉS

HOZAM CSÖKKENÉS

FOLYAMAT VISELKEDÉS (KINETIKA) VÁLTOZÁS

PLUSZ STERILEZÉSI IGÉNY

TELJES SARZS TÖNKREMEHET

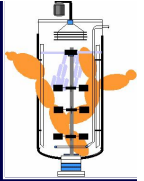
(LÉPTÉKFÜGG KÁR)

PROBLÉMA A DOWN-STREAM-NÉL

Extra munka, pénz



STERILEZÉS



Csíramentesítés módszerei :

mechanikai módszerek: **szűrés,**
centrifugálás,
flotáció,

elektromágneses besugárzás: **UV, röntgen ,**

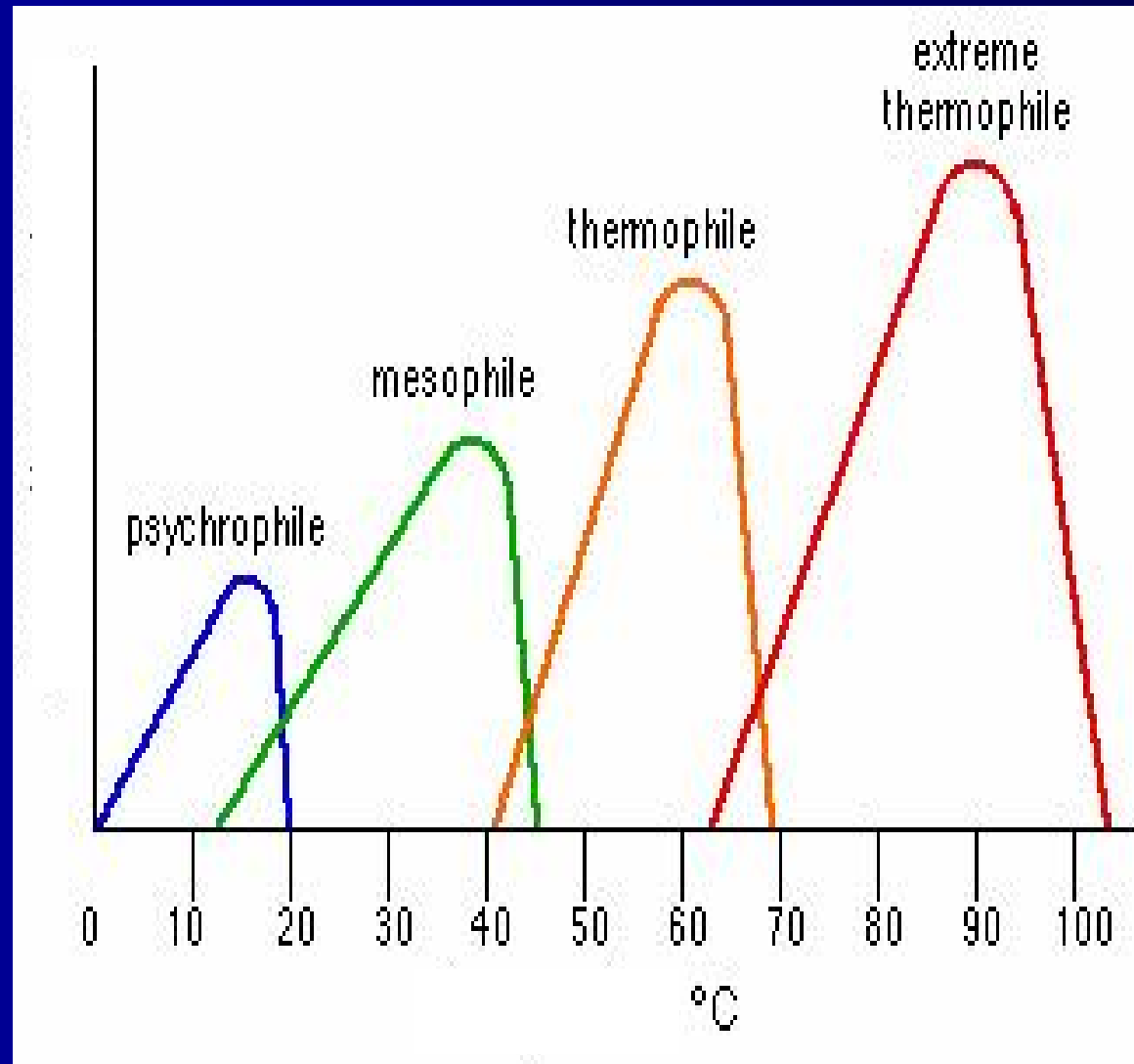
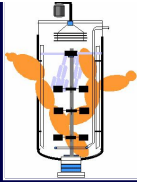
kémiai módszerek: **dezinficiálás,**
h hatás.

Mikrobák h pusztulásának törvényszer ségei

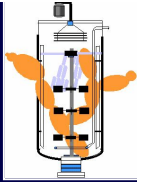
STERILEZÉS

MIKROORGANIZMUSOK

szaporodási hőfok tartományai



STERILEZÉS

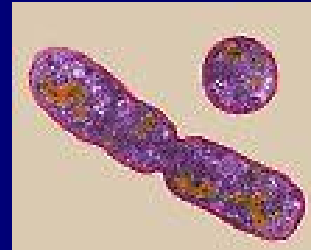


függ a mikroba fajtájától

- vegetatív sejtek sokkal érzékenyebbek a hő hatásra, mint a "ököndenzált létformájú" (csökkent szabad víztartalmú) baktériumspórák

Vegetatív baktérium és élesztősejtek

1



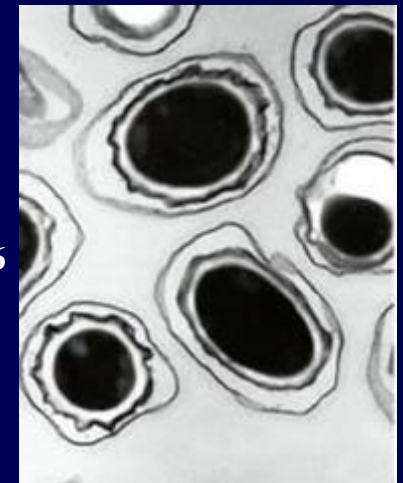
Fonalgomba konidiospórák

2-10



Baktérium spórák

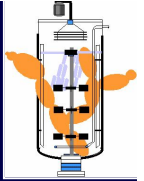
~10⁶



Vírusok-bakteriofágok

1-5

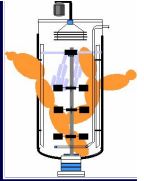
STERILEZÉS



- a hőérzékenység még adott speciesz esetén is több tényezőtől függ:
 - a sejt életétől, korától
(így az exponenciális növekedési fázis sejtjei
érzékenyebbek a stacionárius fázis sejtjeinél)
- valamennyi sejt szenzitívebb nedves hővel szemben,
mint száraz hővel szemben
- a hőérzékenység (a hőpusztulás) nem a hőmérséklet emelkedésével,
- a hőérzékenység függ a mikrobacejtet hordozó közegtől
tápoldat pH-jától, viszkozitásától, ozmózis nyomásától,
védanyagok jelenlététől, edény falától

STERILEZÉS

KINETIKÁJA ÁLLANDÓ H MÉRSEKLETEN



$$\frac{dN}{dt} = -kN$$

N él csíraszám [db/cm³]

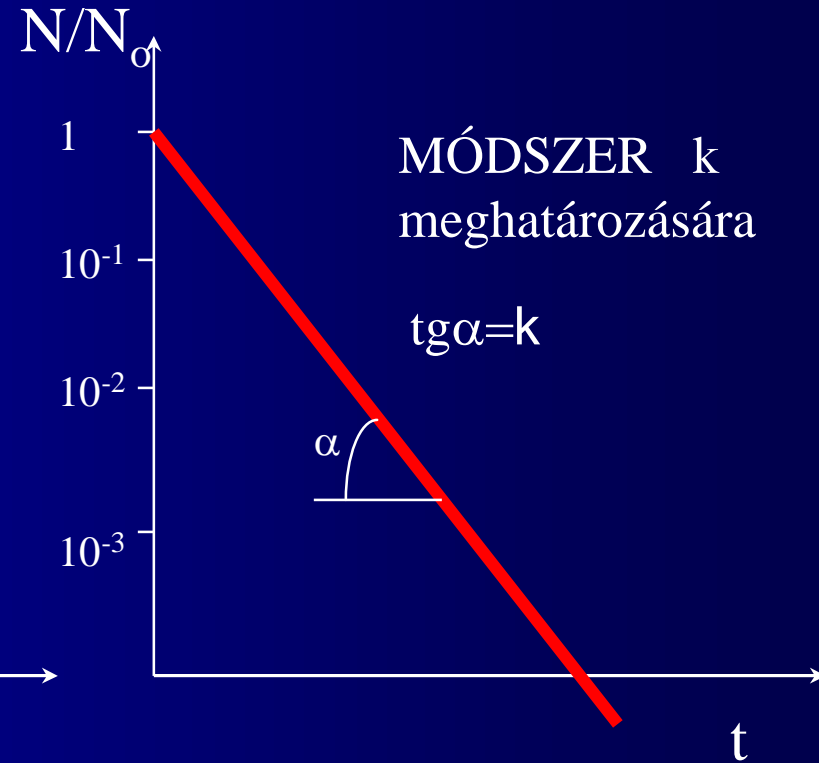
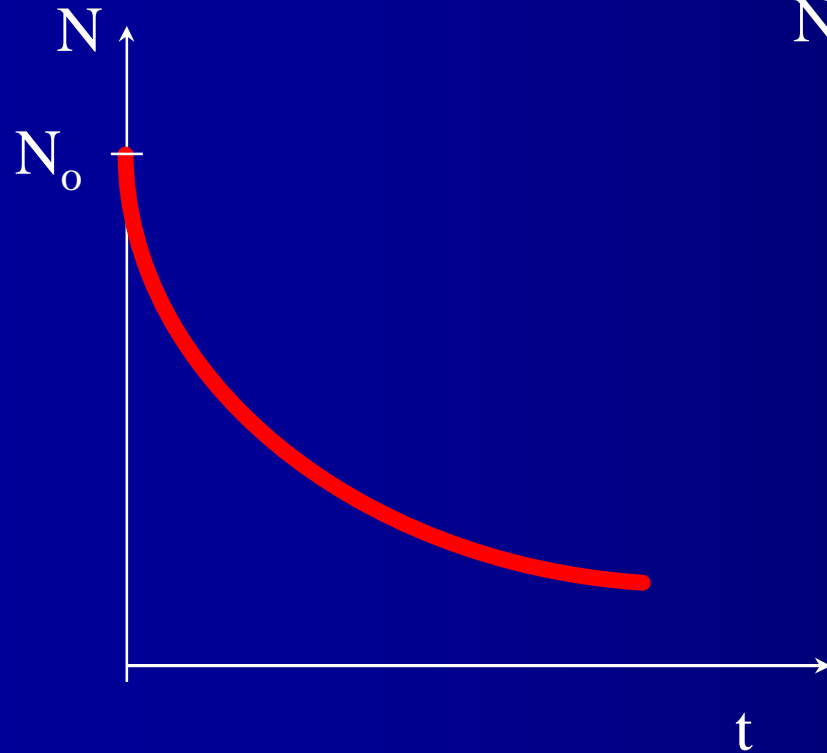
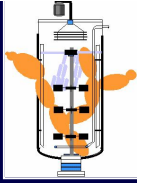
k hőpusztulási sebességi állandó [min⁻¹].

$$\ln \frac{N}{N_0} = -kt$$

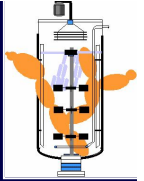
$$\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = \int_{N_0}^N d \ln N = - \int_0^t k dt \rightarrow \left\{ \right.$$

$$N = N_0 e^{-kt}$$

STERILEZÉS



STERILEZÉS

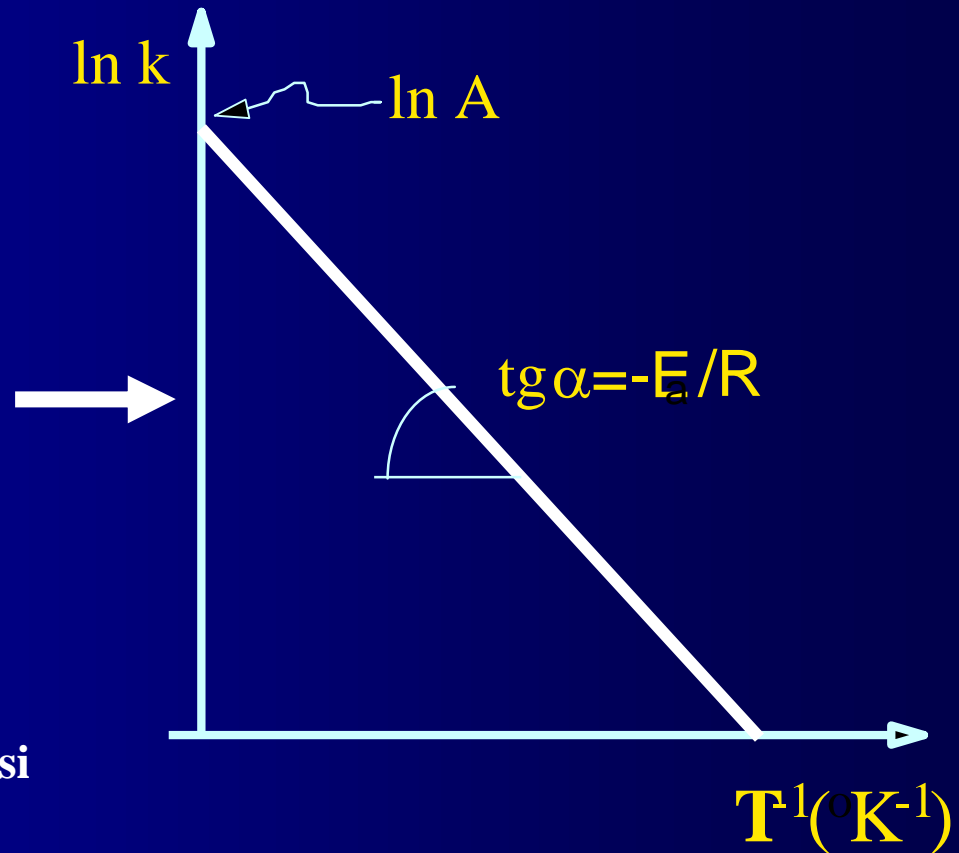


MIT k FÜGG k?

Mikroba ...fajta és formaö
Közeg
 h mérséklet

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T}$$

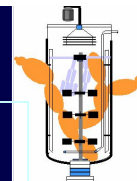


A empirikus állandó;
 E_a - h pusztulás látszólagos aktiválási energiája [KJ/mol]

!!!

Módszer a meghatározásra

STERILEZÉS

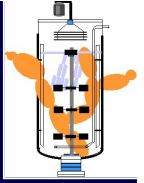


	T[°C]	k[min^{-1}]	Ea [KJ/mol]
<i>Bacillus subtilis</i> (vegetatív)	110	27	310
<i>Bacillus subtilis</i> (spórák)	121,1	3	-
<i>Bacillus</i> <i>stearothermophilus</i> (spórák)	104	0,051	283
	125	6,06	283
	130	17,52	283
<i>Clostridium botulinum</i> (spórák)	104	0,42	344
Hemoglobin (hődenaturáció)	68	$6,3 \cdot 10^{-3}$	312

Tápoldat komponensek hőbomlásának látszólagos aktiválási energiája [kJ/mol]

Szénhidrátok és fehérjék közötti reakció	130,6
B ₁ vitamin bomlása	87,9
B ₂ vitamin bomlása	98,8

STERILEZÉS

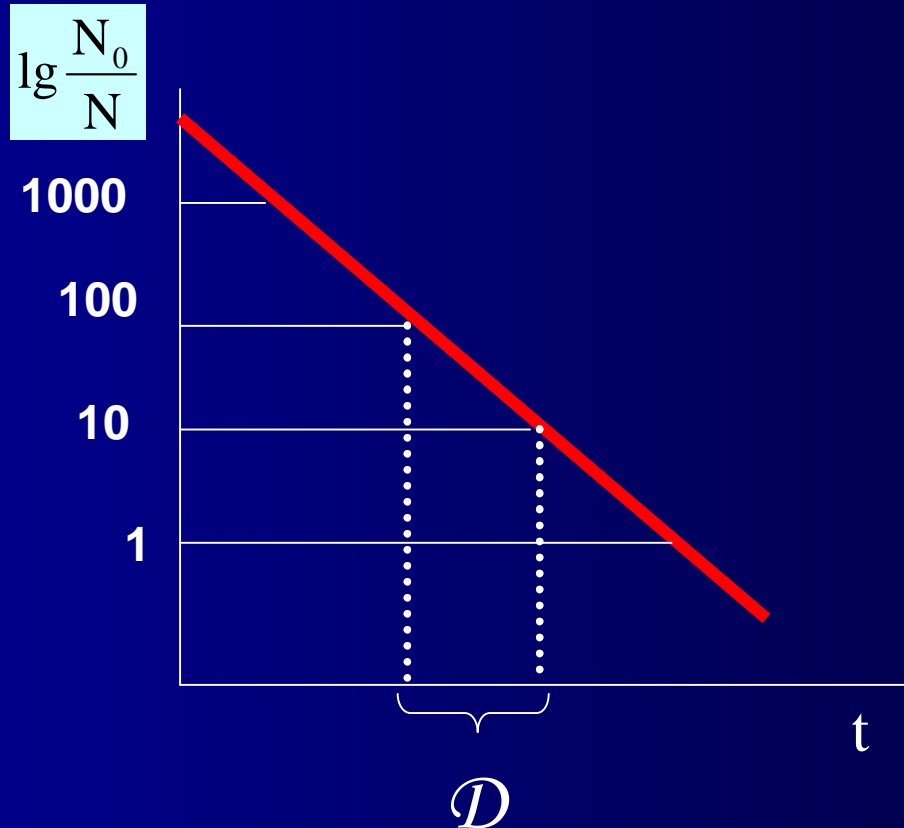


$$\frac{1}{k} = \bar{t}$$

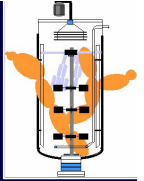
Átlagos élettartam

$$\frac{2,3}{k} = \mathcal{D}$$

Tizedelési id = decimal reduction time



STERILEZÉS



A h pusztulás valószínűségi értelmezése

Kinetikai leírás ha $N_0 \gg 1$ JÓ! Ha nem egyre rosszabb!!!
EZ IS sztohasztikus folyamat,

Definíció: egy csíra élettartama alatt azt az adott h fokon értelmezett id tartamot értjük, amely alatt a csíra még életben marad.

populáció átlagélettartama

$$\bar{t} = \frac{1}{N_0} \sum_{i=1}^{\infty} N_i t_i$$

Life span

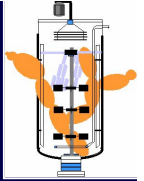
N_0 él csírák kezdeti száma

N_i a t_i élettartamú csírák száma

Átlagos h pusztulási sebességi állandó

$$\frac{1}{\bar{t}} = \bar{k}$$

STERILEZÉS



Ha a h mérséklet mindenütt azonos,
növekedés nincs,
az egyes csírák sorsa független a többi csírától.

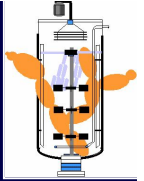
annak valószínűsége, hogy adott t időpontban a túlélő csírák száma éppen N
(ahol $N = 0, 1, 2, \dots, N_0$), binomális eloszlást követ:

$$P_n(t) = \binom{N_0}{N} [p(t)]^N [1 - p(t)]^{(N_0 - N)}$$

$p(t) = e^{-\bar{k}t}$ annak a valószínűsége, hogy *egy* csíra
az adott t időpontban még túlél

$$P_N(t) = \frac{N_0!}{(N_0 - N)! N!} \left(e^{-\bar{k}t} \right)^N \left(1 - e^{-\bar{k}t} \right)^{(N_0 - N)}$$

STERILEZÉS



$$P_N(t) = \frac{N_0^N}{(N_0 - N)! N!} (e^{-\bar{k}t})^N (1 - e^{-\bar{k}t})^{(N_0 - N)}$$

Mi annak a valószínűsége, hogy *valamennyi* mikrobacsejt elpusztult egy t időpontban?

$$P_0(t) = (1 - e^{-\bar{k}t})^{N_0} < 1$$

Mindig 0-nál nagyobb annak a valószínűsége, hogy legalább egy túlélő csíra marad:

$$1 - P_0(t) = 1 - (1 - e^{-\bar{k}t})^{N_0} > 0$$

Sterilizésnél $N_0 \gg 1$

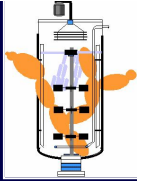
$$1 - P_0(t) \cong 1 - e^{-N}$$

amelyben $N = N_0 e^{-\bar{k}t}$.

$$= 1 - e^{-N_0 e^{-\bar{k}t}} \approx N_0 e^{-\bar{k}t}$$

$e^{-x} \sim 1 - x + \dots$ sorfejtés szerint

STERILEZÉS



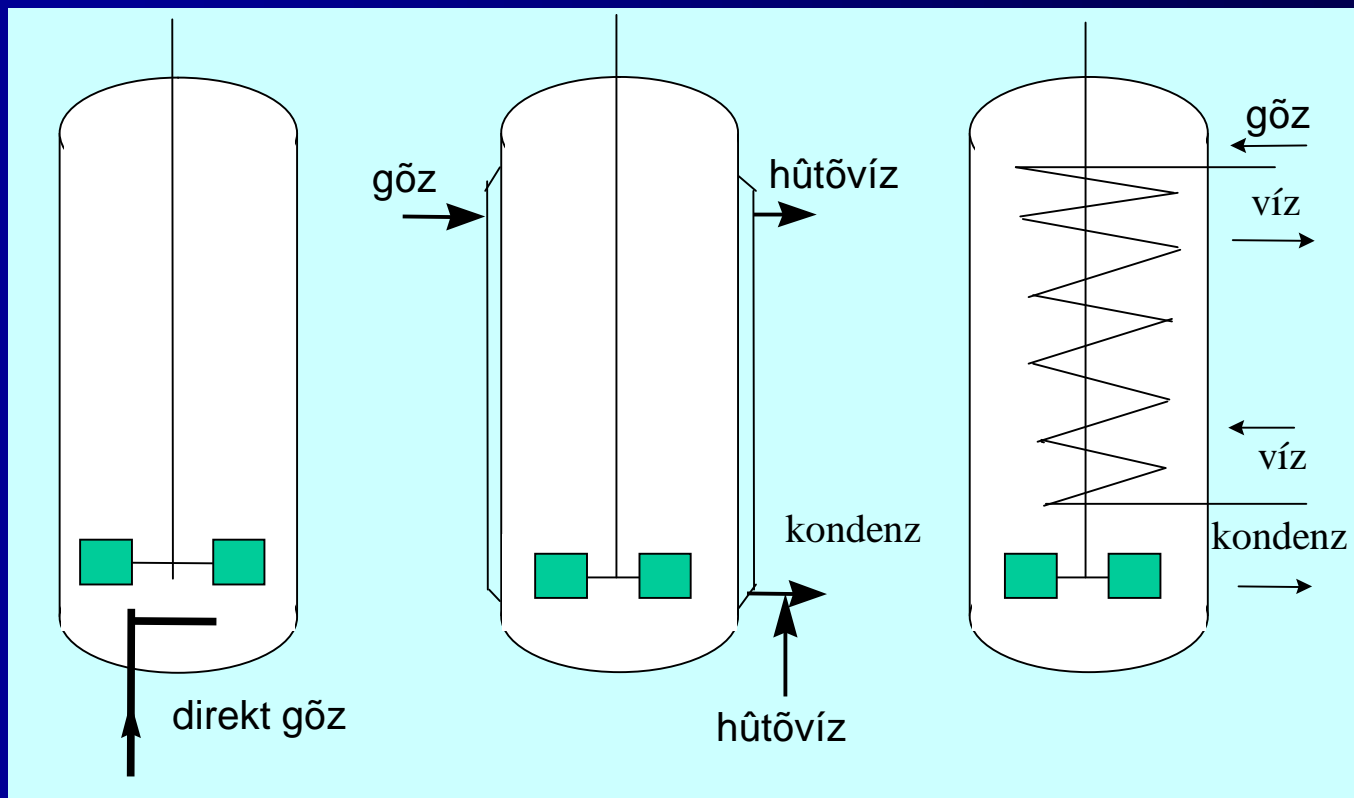
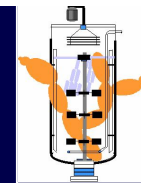
Mit jelent tehát a sterilizálás biztonsága? Pl.:

$$99,9\% \quad \longrightarrow \quad P_0(t)=0,999 \quad \longrightarrow \quad 1-P_0(t)=0,001=10^{-3}$$

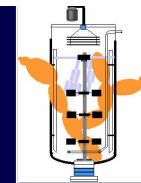
- ✦ **Annak valószínűsége, hogy a sterilizálás nem sikerült, azaz maradt (legalább 1 túlélő $:10^{-3}$)**
- ✦ **Annak valószínűsége, hogy a sterilizálás sikerült, azaz nem maradt 1 túlélő sem $:0,999$**
- ✦ **Minden ezredik sterilizálásnál megengedett egy sikertelen sterilizálás
Valószínűleg leg ezer sterilizálásból 1 egy nem sikerül**
- ✦ **Sterilizálás után a rendszerben maradt élő csírák száma (db)**

STERILEZÉS

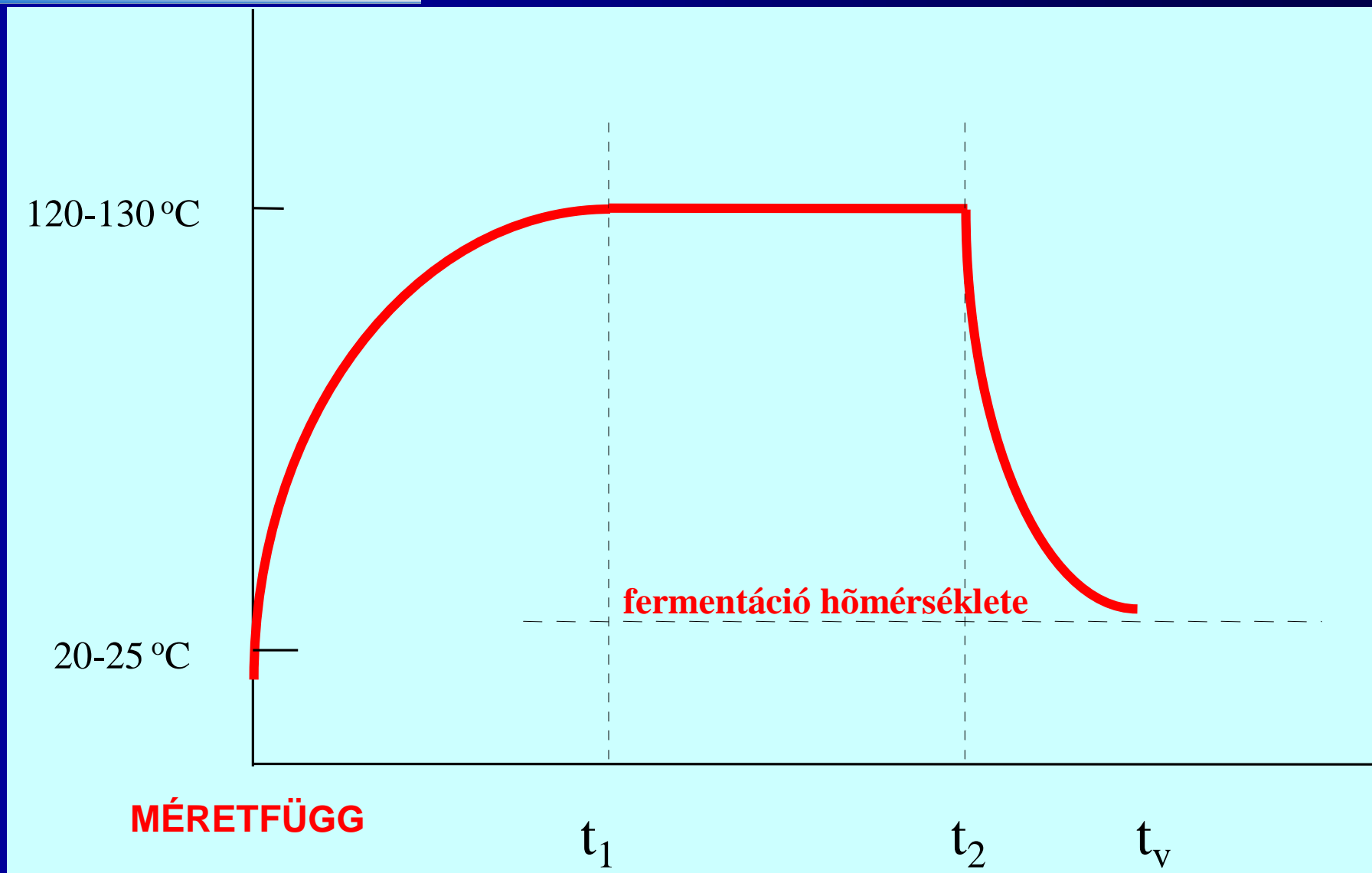
Infúziós tápoldatok szakaszos sterilizációja



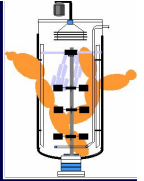
STERILEZÉS



örbe Összemérhet szakaszok!



STERILEZÉS



h pusztulás a f tés alatt:

$$\ln \frac{N_0}{N} = \int_0^{t_1} k dt = \nabla_{f\hat{u}t\acute{e}s}$$

h pusztulás a h ntartás alatt:

$$\ln \frac{N_1}{N_2} = k_{\text{tartás}} \cdot (t_2 - t_1) = \nabla_{\text{tartás}}$$

h pusztulás a h tési szakasz alatt:

$$\ln \frac{N_2}{N_v} = \int_{t_2}^{t_v} k dt = \nabla_{h\hat{u}t\acute{e}s}$$

$$\nabla = \nabla_{f\hat{u}t\acute{e}s} + \nabla_{\text{tartás}} + \nabla_{h\hat{u}t\acute{e}s}$$

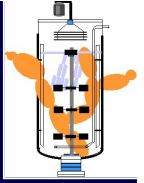
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = \ln \left(\frac{N_0}{N_1} \frac{N_1}{N_2} \frac{N_2}{N_v} \right) = \ln \frac{N_0}{N_1} + \ln \frac{N_1}{N_2} + \ln \frac{N_2}{N_v}$$

Például: **0,20**

0,75

0,05

STERILEZÉS



▼ faktor = $\ln \frac{N_0}{N}$ Méretérzékeny!

$$10^{-3}$$

$$N_0 = 10^5 / \text{ml}$$

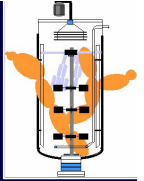
100 liter $\frac{10^5 \cdot 10^5}{10^{-3}} = 10^{13}$ $\nabla = 32,2$

10 m³ $\frac{10^5 \cdot 10^4 \cdot 10^3}{10^{-3}} = 10^{15}$ $\nabla = 36,8$

100 m³ $\frac{10^5 \cdot 10^5 \cdot 10^3}{10^{-3}} = 10^{16}$ $\nabla = 39,2$

10x-enként 2,3-mal n

STERILEZÉS



fermentációs tápoldatok folytonos sterilezése

Fermentor méret határ K Kihasználság: (kg termék/fermentor. m^3 .év).
Folytonos m velet el nyei:

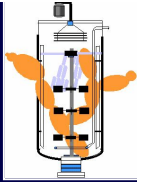
-nagyobb h mérsékleten (130-140 °C) végezhet
a rövidebb idej sterilezés
sterilezés biztonsága n
kisebb a tápoldat komponensek h bomlása

-a folytonos folyamat reprodukálható,

-egyforma min ség steril tápoldatot szolgáltat
ez növeli a fermentációs hozamot,

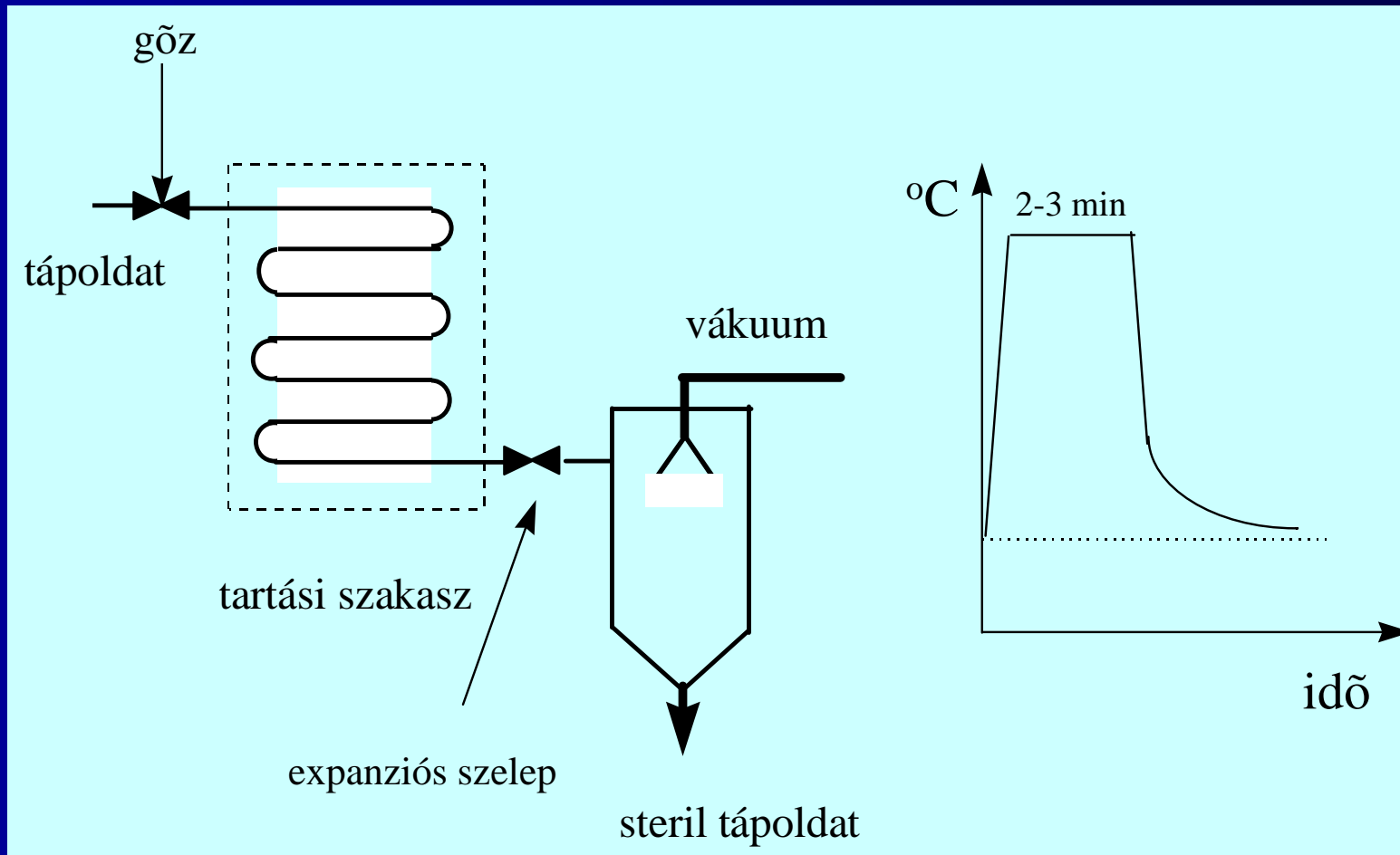
-a folytonos sterilez berendezések, a m velet könnyen
szabályozhatók, automatizálhatók.

STERILEZÉS

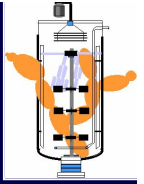


M veleti megoldások:

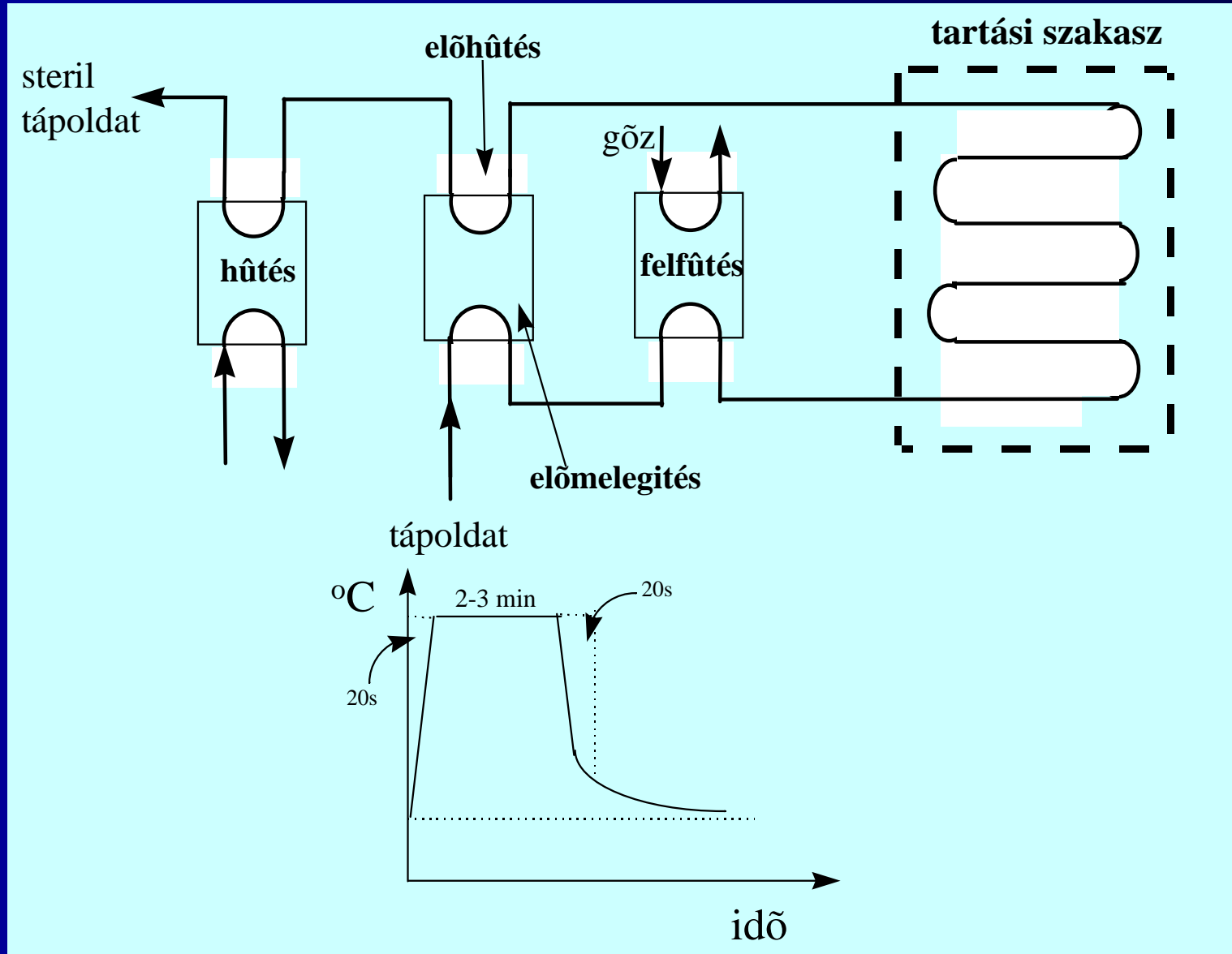
G ZINJEKTOROS



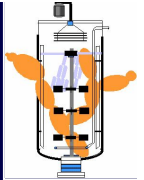
STERILEZÉS



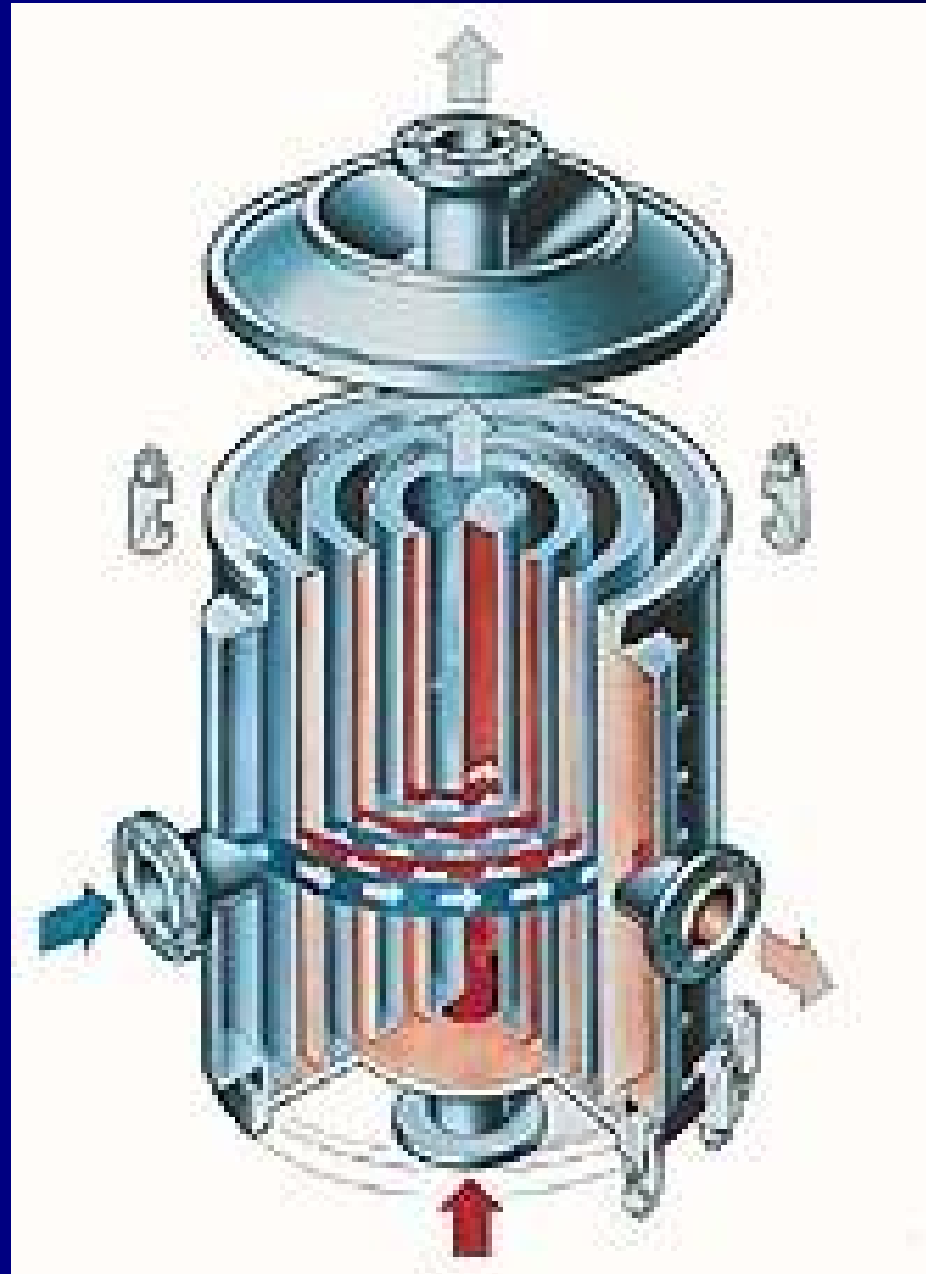
STERILIZÁCIÓS CSERÉL S



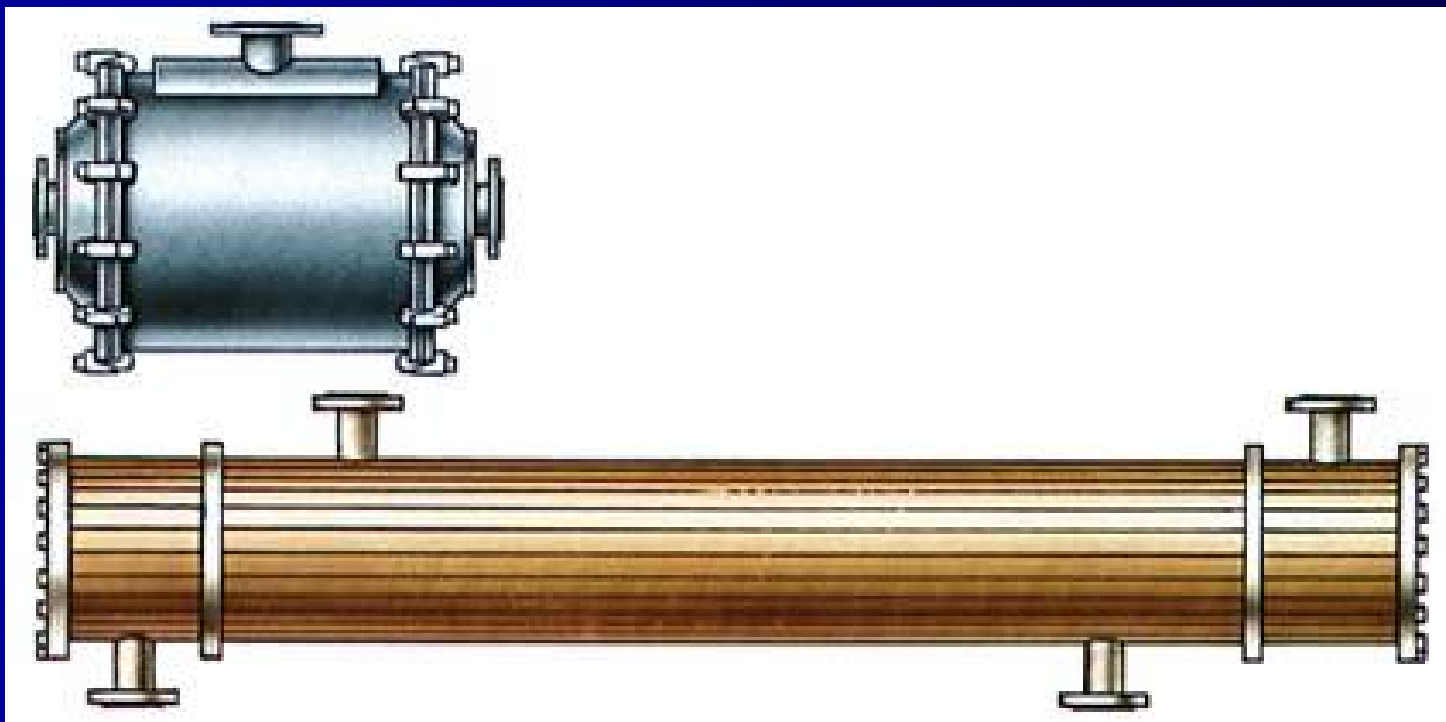
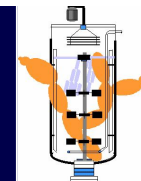
STERILEZÉS



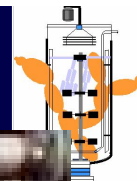
SPIRÁLH CSERÉL S



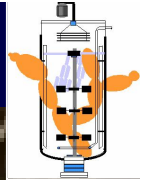
STERILEZÉS



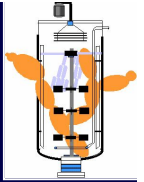
STERILEZÉS



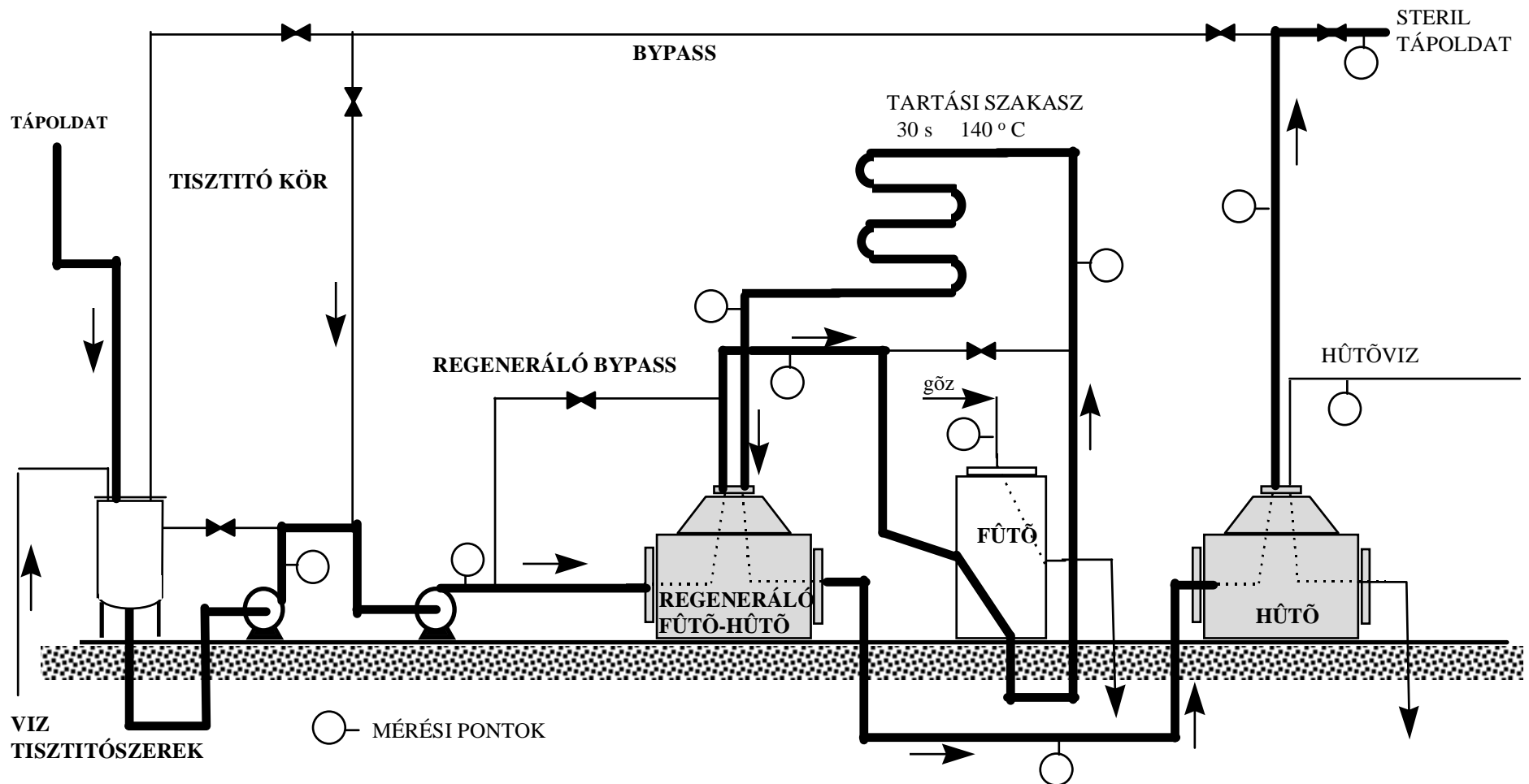
STERILEZÉS



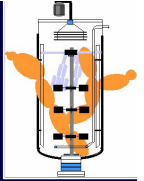
STERILEZÉS



Folytonos sterilizációs állomás kapcsolása



STERILEZÉS



nos tápoldat sterilizálók (tervezési) számítása

A tartási szakaszra:

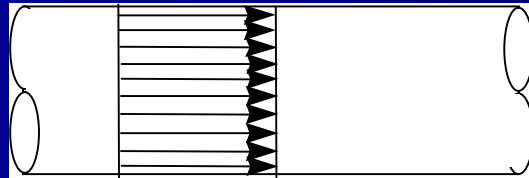
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = k\Delta t = k \frac{L}{\frac{w}{q}}$$

L - tartási szakasz hossza (m)

w - tápoldat térfogatárama (m³/min)

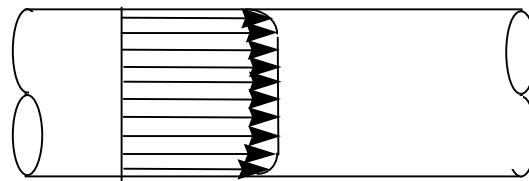
q - tartási szakasz cső keresztmetszete (m²)

DE!!!



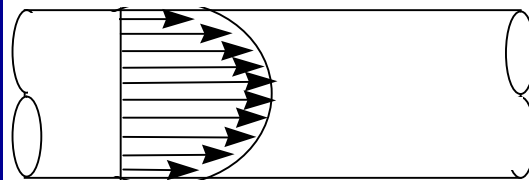
Dugóáram (plug flow)

$$\bar{u} = u_{\max}$$



Turbulens áramlás

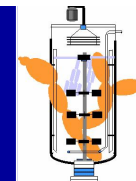
$$\bar{u} = 0,82 * u_{\max}$$



Lamináris áramlás

$$\bar{u} = 0,5 * u_{\max}$$

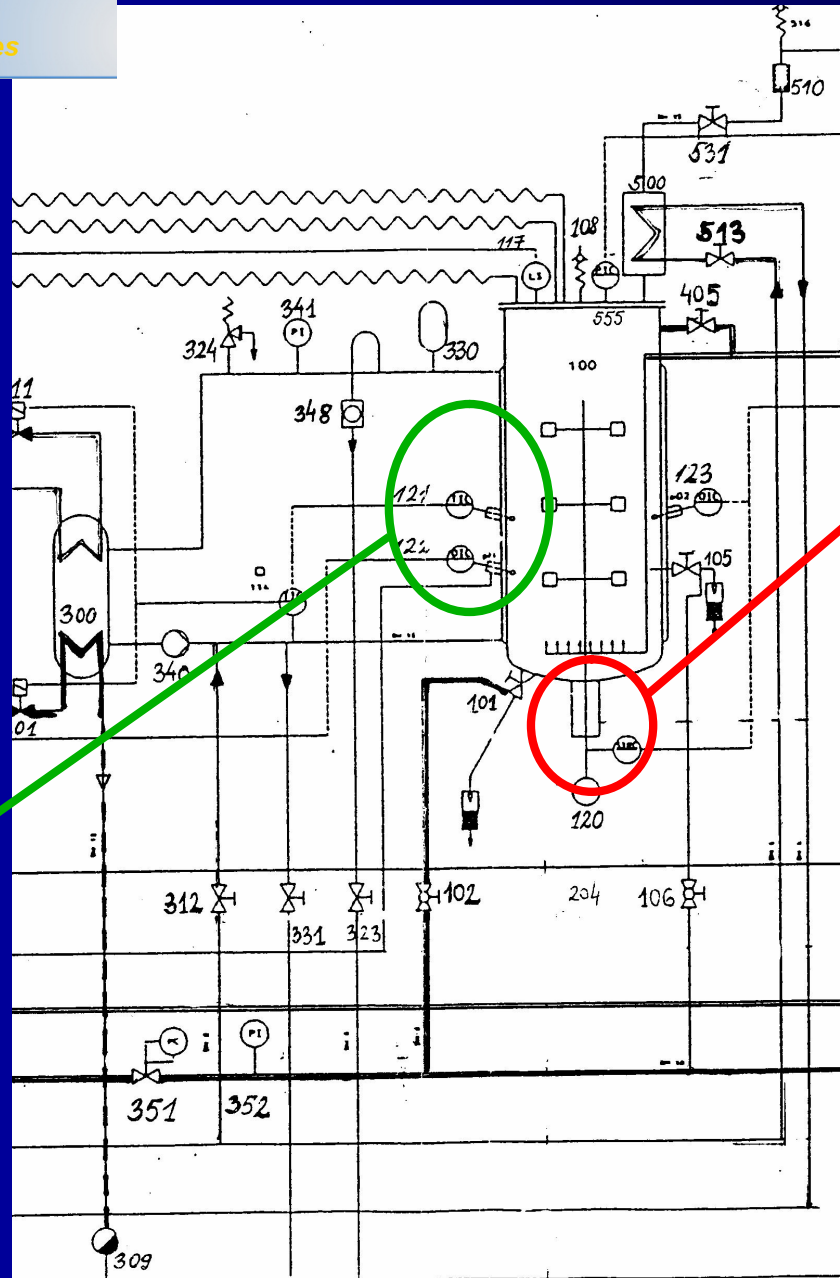
STERILEZÉS



FORRÓ PONTOK

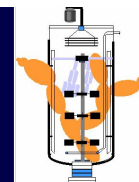
ALSÓMEGHAJTÁS

ELEKTRÓDOK



KEVER TENGYEL TÖMÍTÉS

STERILEZÉS



FORRÓ PONTOK

FELS MEGHAJTÁS

LEVEG SZ R

KEVER TENG. TÖMÍTÉS

INOKULUM

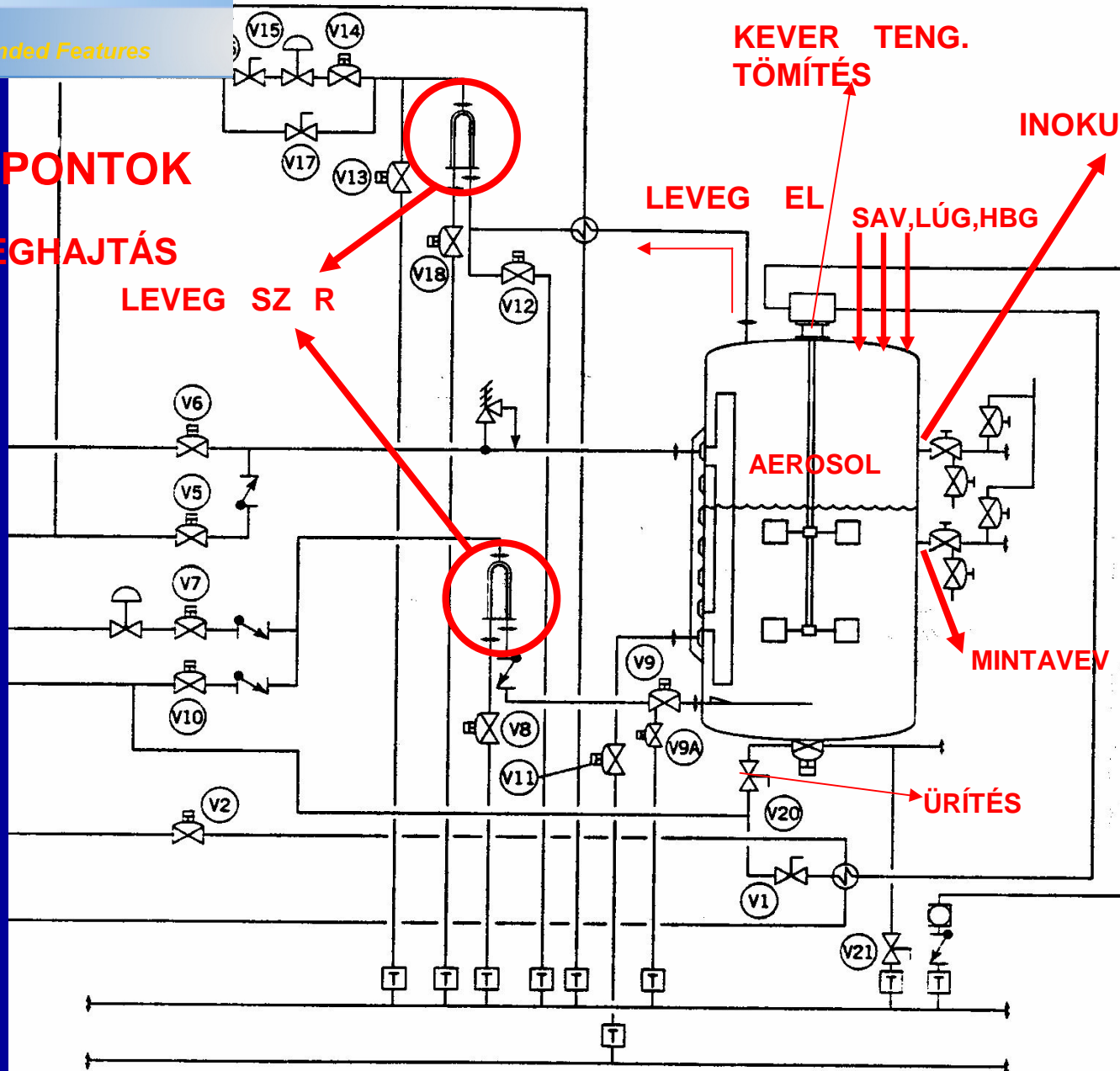
LEVEG EL

SAV, LÚG, HBG

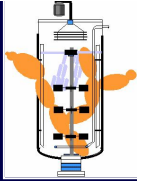
AEROSOL

MINTAVEV

ÜRÍTÉS



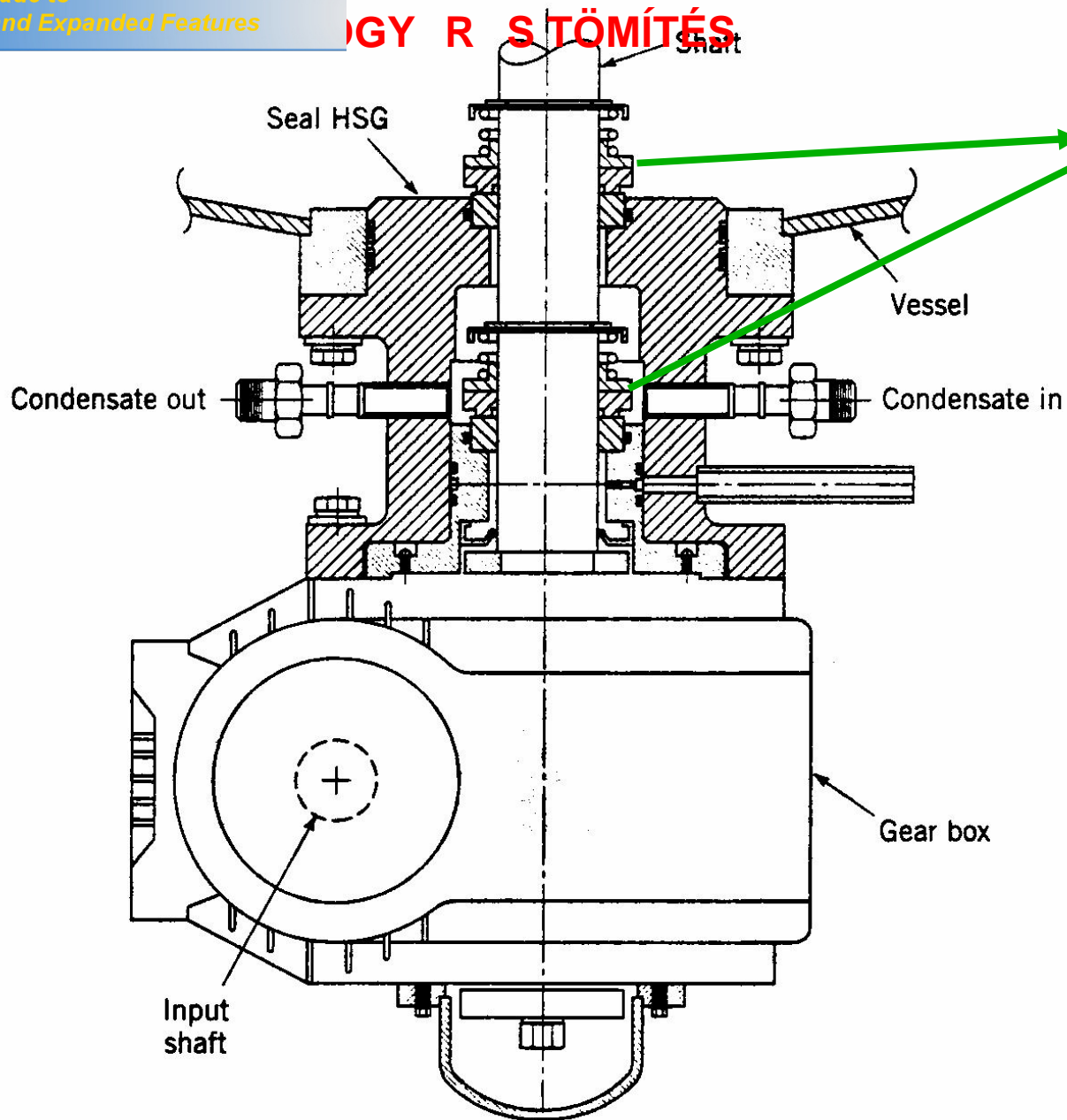
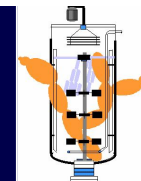
STERILEZÉS



**KEVER TENGELY
BE-,KI-LEVEG
ADALÉKOK:
CSÖVEK
SZELEPEK
INOKULUM VONAL
SZENZOROK
SZIVATTYÚK**

**DOWN-STREAM: STERIL
 NEMSTERIL**

STERILEZÉS

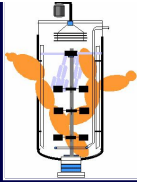


TELENY R STÖMÍTÉS

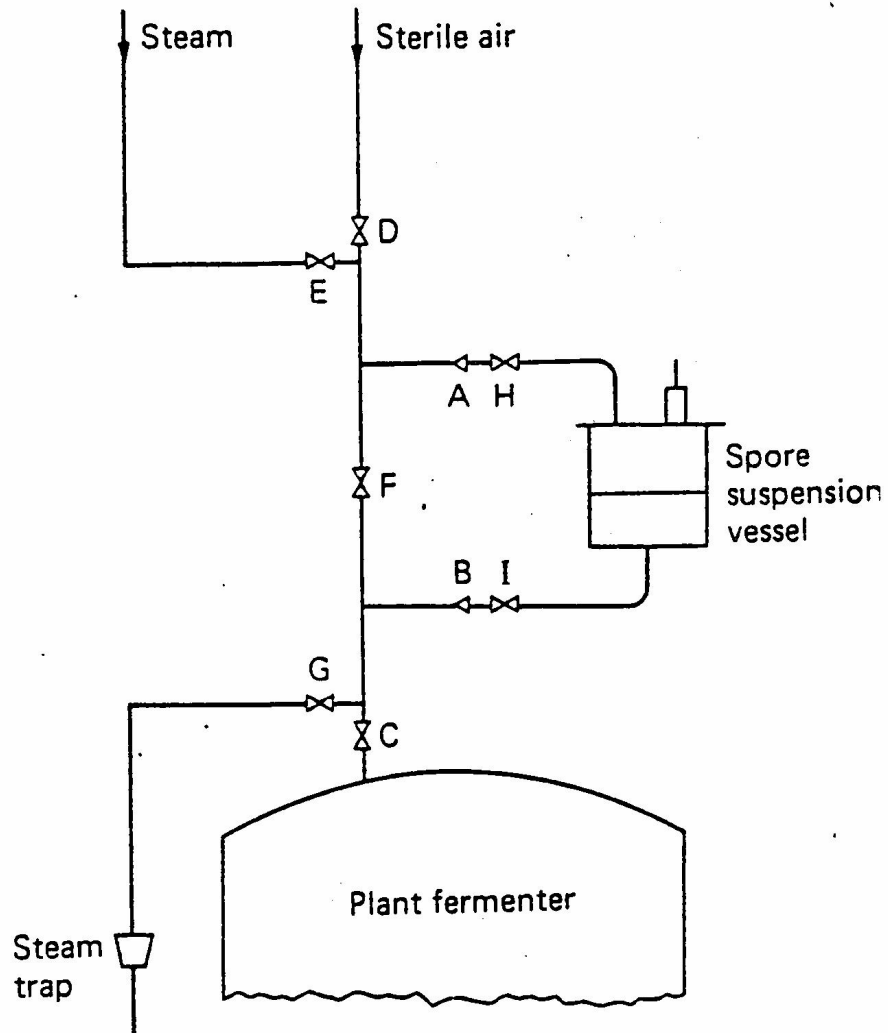
CSÚSZÓ FELÜLET

STERIL VÍZ - KENÉS

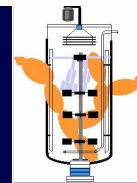
STERILEZÉS



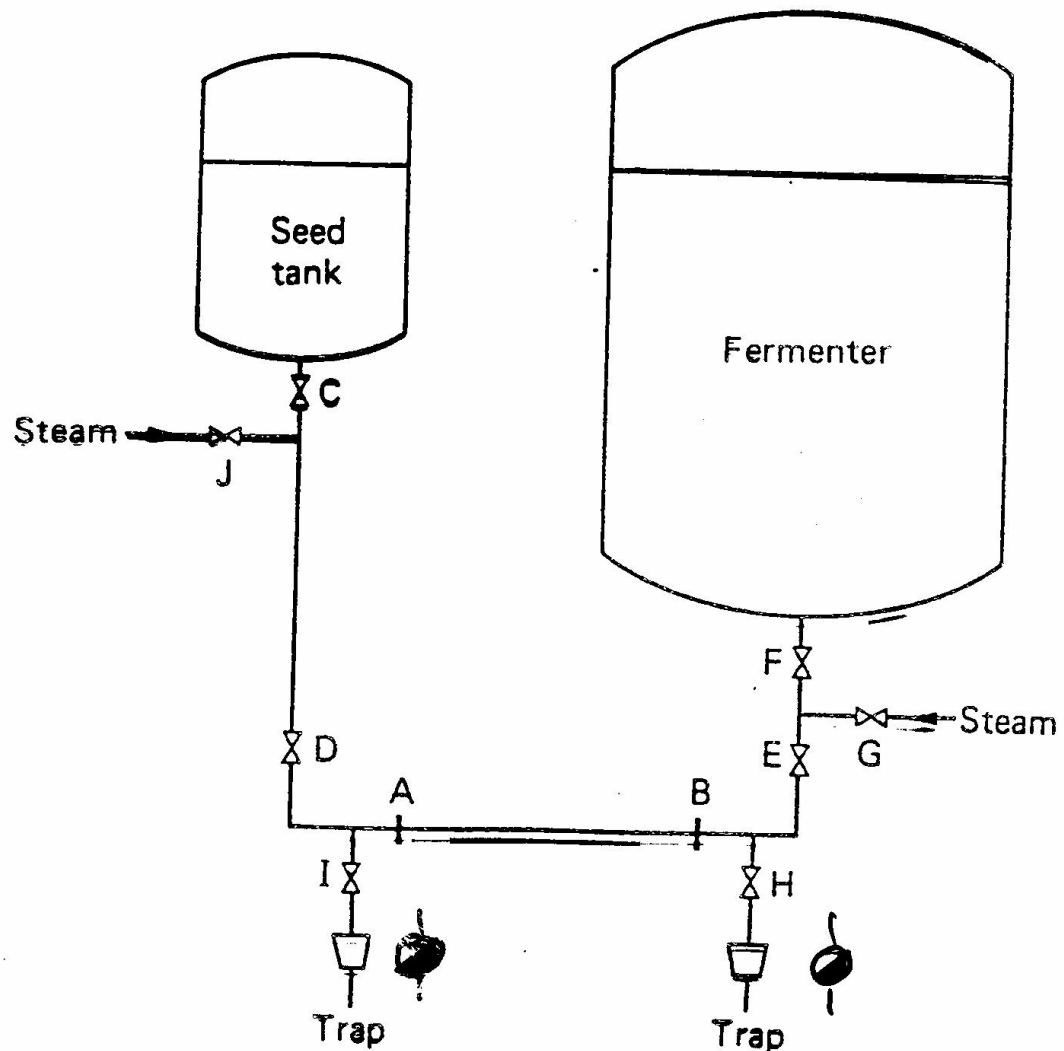
STERIL OLTÁS



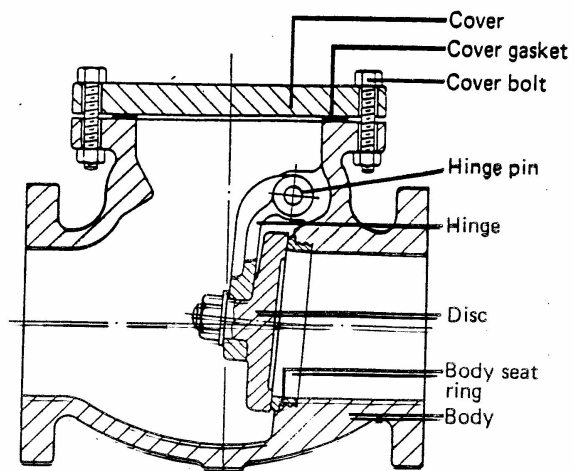
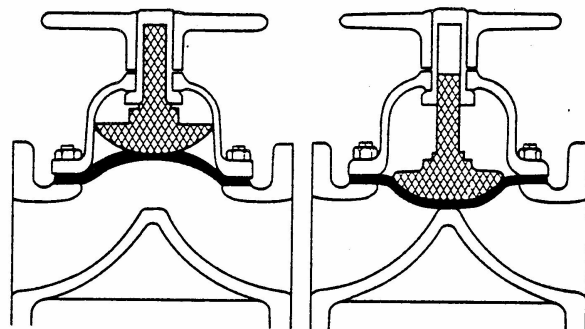
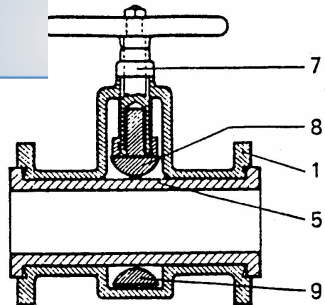
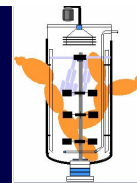
STERILEZÉS



STERIL OLTÁS 2



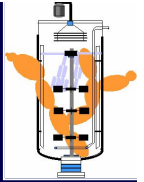
STERILEZÉS



MEMBRÁNSZELEPEK

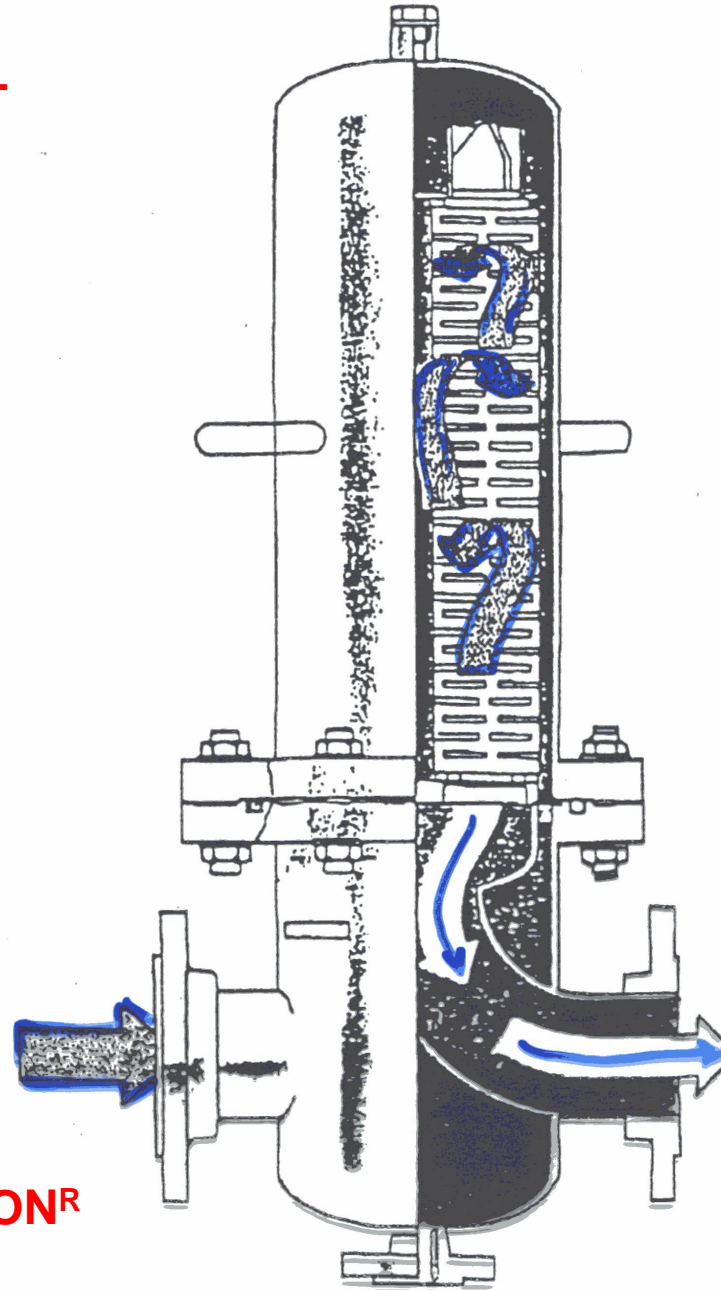
VISSZACSPÓSZELEP

STERILEZÉS



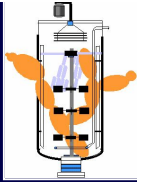
LEVEG SZ RÉS

PALL



EMFLON[®]

STERILEZÉS



CIP (CLEANING IN PLACE)

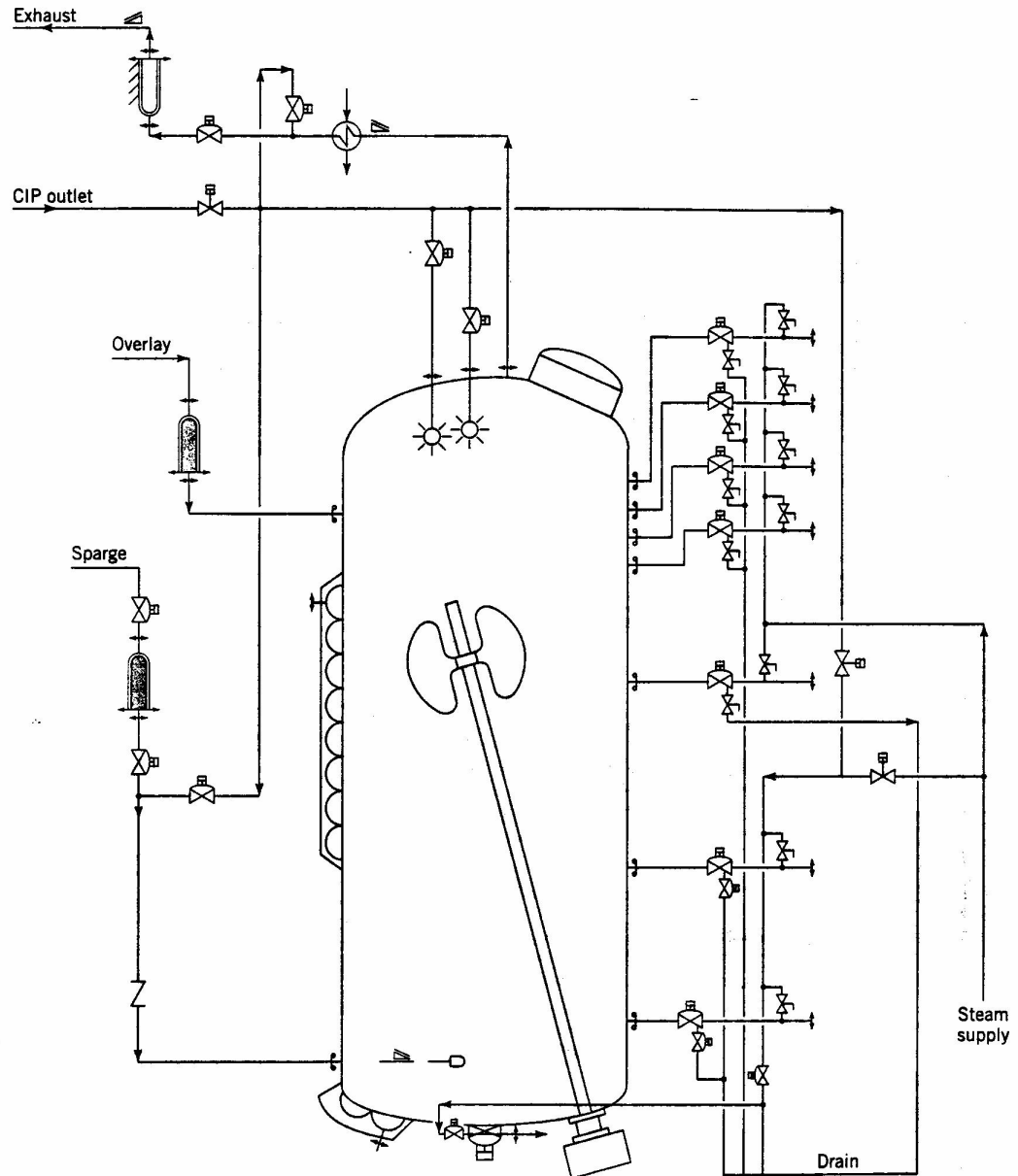


Figure 18. Simplified CIP piping diagram.