
Radyasyonla Sterilizasyon Dozunun Tespitine Yönelik TAEK'te Yapılan Çalışmalar

Dr. Tülay KONAÇ

TAEK-ANTHAM-Gıda Işınlama ve Sterilizasyon Bölümü, ANKARA

Ülkemiz, ilk kez radyasyonla sterilizasyon teknolojisinin endüstriyel boyutuyla, 1993 yılında TAEK-ANTHAM-GISB-Gama Işınlama tesisinin faaliyete geçmesi ile tanışmıştır. Tek kullanımlık tıbbi malzemelerin radyasyonla sterilizasyonu amacıyla kurulan bu tesisi, İstanbul'da özel sektör tarafından işletilen ikinci bir tesis izlemiştir.

Işınlama Tesisi

Macaristan Bilimler Akademisi İzotop Enstitüsü tarafından çok amaçlı ışınlama işlemleri için tasarlanmıştır. Radyoaktif kaynak olarak Co-60 radyoizotopu kullanılmakta olup şu anki aktivitesi 295.000 Curie'dir. Bu aktivite ile 25 kGy'lik sterilizasyon dozu yaklaşık 13 saatte verilmektedir. Işınlanacak ürünler, boyutları 45 x 45 x 90 cm olan 52 adet kutu içerisine yerleştirilerek ışınlama odasına bir ray sistemi ile gönderilmektedir (Resim 1). Işınlama işlemi; yığın veya sürekli olmak üzere iki şekilde yapılabilmektedir. Işınlama yapılmadığı durumlarda Co-60 kaynaklarının depolanması, ışınlama odası içinde bulunan 6 m derinliğindeki su ile dolu havuz içerisinde yapılmaktadır (Resim 2).

Test Laboratuvarları

Bölümümüzde, ışınlama tesisine ve özellikle de üretici firmalara bilimsel destek sağlamak amacıyla kurulmuş üç laboratuvar bulunmaktadır. Bunlardan; Radyasyon Mikrobiyolojisi Lab.; İstenilen sterilite güvence düzeyi (SAL) ve ürün mikrobiyal yüküne bağlı olarak sterilizasyon dozunun tespitine yönelik çalışırken, Dozimetre Lab.; ürünlere verilen radyasyon dozunun dozimetreler vasıtasıyla



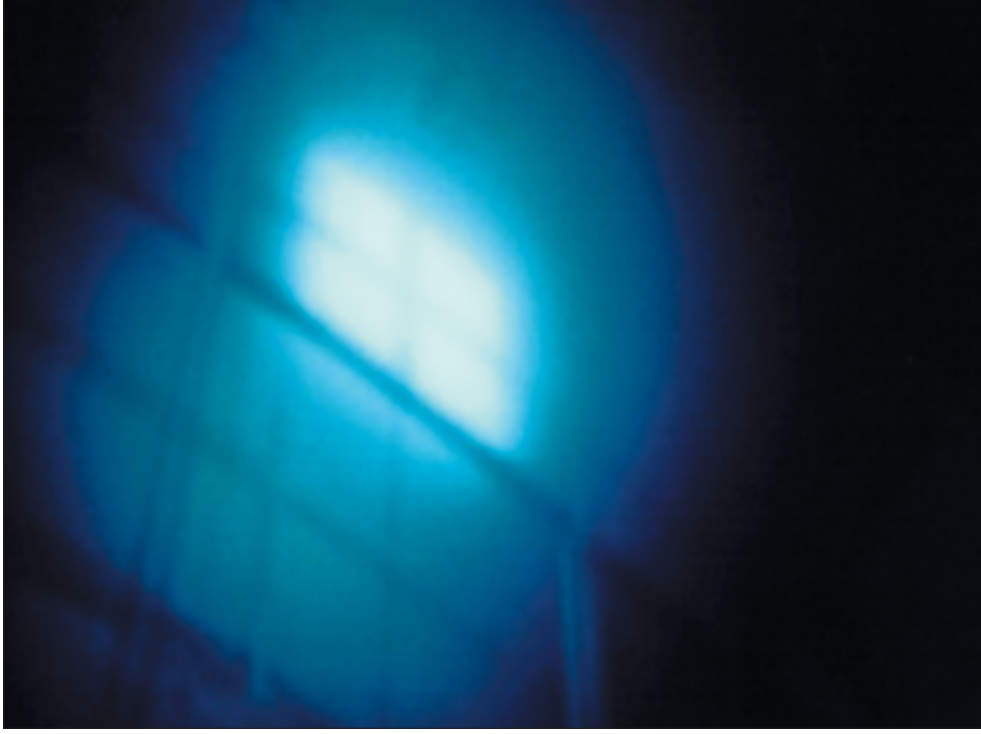
Resim 1. Işınlama tesisi.

doğrulanıp, kayıtlara geçilmesi konusunda ve Malzeme Uygunluğu laboratuvarı ise ışınlamanın malzeme özelliğini değiştirip değiştirmediğinin araştırılması konusunda çalışmaktadır.

Sterilizasyon Dozunun Tespiti

Geçerliliği gösterilmek koşulu ile 25 kGy'lik doz, 10^{-6} 'lık SAL sağlayan minimum sterilizasyon dozu olarak genel kabul görse de, sterilizasyon dozunun deneysel tespiti, insan sağlığını direkt etkileyen böylesine hassas bir konu için oldukça önemli ve akılcıdır. Sterilizasyon dozunun tespitine yönelik düzenlemeler, ISO 11137 ve EN 552 standartlarında yer almaktadır (1,2). Çok küçük uygulama farklılıkları içeren bu standartlar, "Association for Advancement of Medical Instrumentation (AAMI)" metotlarını temel alır (3). Bu standartlarda, istenilen SAL'ı sağlayacak (10^{-3} - 10^{-6}) radyasyon dozunun tespiti amacıyla düzenlenen "doz seçim metotları" B1 ve B2, tespit edilen dozun 3-6 aylık zaman dilimlerinde geçerliliğini kontrol eden "doz kontrol metodu" ise B5 metodu olarak isimlendirilmektedir.

B1 testi, ortalama mikrobiyal yükün tespitini gerektirir (4). Mikrobiyal yük (bioburden) Tablo 1'de, D_{10} değer aralıkları ve olasılıkları verilen homojen popülasyonların bir karışımı olarak kabul edilir (SDR). Ürün mikrobiyal yükünün Tablo 1'de verilen SDR'ye uyduğu hipotezi ile yola çıkılır. Bioburden tespiti için,



Resim 2. Havuz içerisinde kaynağın görüntüsü.

Tablo 1. AAMI doz seçim metotlarında kullanılan standart direnç dağılımı (SDR).

D_{10} Mrad	0.10	0.15	0.20	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.42
Frekans	0.65487	0.22493	0.06302	0.03179	0.01213	0.00786	0.00350	0.00111	0.00072	0.00007

üretimin sterilizasyon fazından hemen önce, üç farklı üretim partisinden (lot) rastgele seçilmiş en az 10 örnek teste alınır. Örnek tüm bir alet veya onun oransal bir parçası (SIP) olabilir. Üç partinin ayrı ayrı mikrobiyal yük ortalaması (OMY) hesaplanır. Ortalama yük değeri olarak; ya 3 lotun ortalaması (değerler arası fark 2 katından fazla değilse) ya da en yüksek lot ortalaması alınır. OMY değeri ve SIP kullanılarak Tablo 2'den, 10^{-2} SAL sağlayan “sınama dozu” seçilir. Belirlenen bu dozda ortalaması alınan lotun 100 örneği ışınlanır. Işınlanmış örnekler, Tryptone Soya Broth (TSB) besiyeri içerisinde $30-35^{\circ}\text{C}$ 'de 14 gün inkübe edilerek, sterilite testine alınırlar. İnkübasyon süresi sonunda 2 veya daha az örnekte üreme varsa, Tablo 3 kullanılarak istenilen SAL'a karşılık gelen sterilizasyon dozu belirlenir. İki den fazla üreme olması halinde B1 düşer, B2 metoduna geçilir.

Tablo 2. Gama sterilizasyonda sınama doz belirleme tablosu (Mrad).

SIP	Alet başına ortalama mikrobiyal yük (OMY)												
	2	5	10	50	100	500	1000	5000	10 ⁴	5 x 10 ⁴	10 ⁵	5 x 10 ⁵	10 ⁶
1.0	0.36	0.45	0.52	0.71	0.80	1.00	1.10	1.32	1.42	1.66	1.76	2.01	2.12
0.1	**	**	**	0.45	0.52	0.71	0.80	1.00	1.10	1.32	1.42	1.66	1.76
0.01	**	**	**	**	**	0.45	0.52	0.71	0.80	1.00	1.10	1.32	1.42
0.001	**	**	**	**	**	**	**	0.45	0.52	0.71	0.80	1.00	1.10

Tablo 3. Sterilizasyon dozu belirleme tablosu (Mrad).

SIP	OMY												
	2	5	10	50	100	500	1000	5000	10 ⁴	5 x 10 ⁴	10 ⁵	5 x 10 ⁵	10 ⁶
-3	0.60	0.71	0.80	1.00	1.10	1.32	1.42	1.66	1.76	2.01	2.12	2.37	2.49
-4	0.88	1.00	1.10	1.32	1.42	1.66	1.76	2.01	2.12	2.37	2.49	**	**
-5	1.19	1.32	1.42	1.66	1.76	2.01	2.12	2.37	2.49	**	**	**	**
-6	1.52	1.66	1.76	2.01	2.12	2.37	2.49	**	**	**	**	**	**

B2 testinde, ürün mikrobiyal yükünün radyorezistans dağılımının SDR'ye uymadığı ve dolayısı ile tespitinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla, üç üretim lotunun 280'er örneği Tablo 4'teki gibi sınıflandırılarak, artan dozlarda (0.2, 0.4.....1.8 Mrad) ışınlanır ve sterilite testine alınır. Test sonucu elde edilen pozitif değerler belirlenerek, her lot için 20 örnekten en az birinde üreme olmadığı (negatif = steril) ve 20'sinin de steril çıktığı ilk dozlar belirlenir. Bu dozlardan yola çıkarak B2 için geçerli sınama dozu (10⁻² SAL dozu) belirlenir. Belirlenen dozda 100 örnek ışınlanarak sterilite testine alınır. Elde edilen sonuçlarla, AAMI dokümanında yer alan istatistiksel temele dayalı bazı hesaplamalar ve aşağıdaki formül kullanılarak sterilizasyon dozu hesap edilir.

$$\text{SAL doz} = D^{**}\text{Mrad} + (-\log(\text{SAL}) - \log(\text{SIP}) - 2)(\text{DS})\text{Mrad}$$

D^{**}Mrad= Test örneklerinde 10⁻²'lik SAL temin eden doz

DS Mrad= D₁₀ Mrad'a benzerdir. Artan doz deneylerinden elde edilen bilgiler kullanılarak hesaplanır.

Tablo 4. Örnek sınıflama ve ışınlama tablosu.

	Artan dozlar (Mrad)									Sınama dozuyla ışınacak örnek	Gerekli toplam
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8		
Lot 1	20	20	20	20	20	20	20	20	20	100	280
Lot 2	20	20	20	20	20	20	20	20	20	100	280
Lot 3	20	20	20	20	20	20	20	20	20	100	280

B5 (doz kontrol) testi; doz bir kere belirlendikten sonra üretici firma tarafından belirlenen bir sıklıkla (3-6 ay) geçerliliğinin kontrolü amacıyla uygulanır. Üretici firmadan temin edilen 100 örnek orjinal sınaama dozunda (10^{-2} SAL doz) ışınlanarak sterilite testine alınır ve test sonucu elde edilen üreme sayısına (0+, 1+.....4+) göre Tablo 5'te verilen kararlardan biri uygulanır.

Uygulamadaki Güçlükler

İlgili standartlarda, üretici firma ve ışınlama tesisinin sorumlulukları ayrı ayrı belirtilmektedir. Sterilizasyon dozunun seçimi üretici firma sorumluluğunda iken, istenilen dozun verilmesi ışınlama tesisinin sorumluluğundadır. Üretici firmaya bu testler; zaman, numune temini ve test ücreti gibi birtakım yükler getirmektedir (Tablo 6).

Tüm dünyada zorlayıcı olan bu durum, bizim gibi yasal boşlukları olan, daha çok küçük ve orta ölçekli firmalara sahip, gelişmekte olan ülkelerde caydırıcı da olmaktadır. Bu nedenle firmalar zorunlu olmadıkça doz seçim testi yaptırmayıp,

Tablo 5. Doz kontrol kriterleri.

Düzeltilme derecesi		D**		Mrad'da kalite için kontrol kriterleri		
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
log (SAL)	(SIP)	0+	1+	2+	3+	4+
-3	1	A	A	A	C	R+(0.28)
-4	1	A	A	A	C	R+(0.32)
-5	1	A	A	C	C+(0.36)	R+(0.36)
-6	1	A	C	C	C+(0.40)	R+(0.40)
-3	0.1	A	A	A	C	R+(0.32)
-4	0.1	A	A	A	C+(0.36)	R+(0.36)
-5	0.1	A	C	C	C+(0.40)	R+(0.40)
-6	0.1	A	C	C+(0.38)	R+(0.44)	R+(0.44)
-3	0.01	A	A	C	C+(0.36)	R+(0.36)
-4	0.01	A	C	C	C+(0.40)	R+(0.40)
-5	0.01	A	C	C+(0.38)	R+(0.44)	R+(0.44)
-6	0.01	A	C+(0.33)	C+(0.41)	R+(0.48)	R+(0.48)
-3	0.001	A	C	C	C+(0.40)	R+(0.40)
-4	0.001	A	C	C+(0.38)	R+(0.44)	R+(0.44)
-5	0.001	A	C+(0.33)	C+(0.41)	R+(0.48)	R+(0.48)
-6	0.001	A	C+(0.53)	R+(0.44)	R+(0.52)	R+(0.52)

Karar;
A: Kabul, orjinal doz geçerlidir; **C:** Dikkat, orjinal doz arttırımı gerekebilir. GMP kontrol edilmelidir; **C+:** Dikkat, orjinal doz değışti. Parantez içindeki doz kadar arttırın. GMP kontrol edilmelidir; **R+:** Yeniden doz tespiti gerekli. Parantez içindeki doz kadar hemen arttırın ve sonra yeniden doz tespiti yapın. GMP kontrolü gereklidir.

	Örnek sayısı	Test süresi (gün)
B1 testi	110 x 3= 330 (200'ü iade edilmek üzere)	20-25
B2 testi	280 x 3= 840 (200'ü iade edilmek üzere)	40-50
B1 ve B2	770 adet	60-75
B5 testi	100 adet	15-20

genel kabul gören 25 kGy'lik dozla ürünlerini ışınlatılmaktadır. Oysa ki bu dozun uygulanması geçerliliğinin gösterilmesi koşulu ile mümkündür. Geçerleme işlemi ise mikrobiyolojik çalışma yani bir bakıma B1 testinin uygulanması anlamına gelmektedir. Tablo 7'de görüldüğü gibi laboratuvarımızda çalışılan bazı ürünlerde 10^{-6} SAL için gerekli doz 25 kGy'nin oldukça üstündedir.

Tıbbi malzemeler düşük mikrobiyal yükü garantileyecek GMP (iyi imalat şartları) şartlarında üretilmelidirler. Olumsuz üretim şartları, yüksek sterilizasyon dozu şeklinde sonuca yansır.

Ayrıca üretim aşamasında kalıplama gibi ısı işleminden geçen ürünlerde mikrobiyal eliminasyon söz konusu iken (enjektör gibi), gazlı bez gibi herhangi bir ısı işleminden geçmeyen doğal kaynaklı ürünlerde, kontaminasyon kaynaklarının fazla ve çeşitli olması nedeniyle yüksek mikrobiyal yük ve buna bağlı olarak da yüksek sterilizasyon dozunun elde edilmesi belki de kaçınılmazdır. Tablo 7'de verilen sonuçlar "doz seçim" testinin uygulanmasının zorunluluğunu çarpıcı olarak göstermektedir.

Güçlükleri Azaltmaya Yönelik Çalışmalar

Literatürler, son zamanlarda bu konuda yapılan çalışmaların, numune sayısı ve süresini azaltacak değişikliklerin bulunması üzerine yoğunlaştığını göster-

No	Numune	Doz seçim yöntemi	SAL	SAL doz (kGy)	Doz kontrol
1	Üfleme çubuğu	B1	10^{-3}	11	-
2	Üfleme çubuğu	B1 ve B2	10^{-3}	18.1	-
3	Gazlı bez	B1 ve B2	10^{-6}	37.5	-
4	Katgüt	B1 ve B2	10^{-6}	30.7	-
5	Cerrahi eldiven	B1 düştü B2 çalışılmadı	10^{-6}	-	-
6	Ameliyat maskesi	B1	10^{-6}	23.7	-
7	Arter-ven set	B1	10^{-6}	23.7	+
8	Polietilen film (10 L torba)	B1	10^{-3}	10.7	-
			10^{-6}	20.9	-
9	Cerrahi eldiven	B1	10^{-6}	22.5	-

mektedir (5-7). Sterilizasyon dozunun B1 testi ile belirlenmesi yani zorunlu olmadıkça B2'ye geçilmemesi zaman, numune sayısı ve maliyet konusunda bir tasarruf sağlayacaktır. Bu amaçla, laboratuvarımızda çalışılan ve sterilizasyon dozu B2 ile tespit edilen ürünlere ait deneysel veriler tekrar ele alınıp incelenmiştir. Tablo 7'deki 3, 4, 5 nolu ürünlerin 3 üretim partisine ait ortalama mikrobiyal yük (OMY) değerleri incelendiğinde değerler arası farkların oldukça fazla olduğu saptanmıştır. Bunun üzerine, OMY yerine maksimum mikrobiyal yük (MMY) değerinin alınması B2 testine geçişi engeller miydi? sorusuna yanıt bulmak amacıyla bir çalışma planlanmış ve bu ürünlerin B1 testleri MMY'e göre tekrarlanmıştır. Tablo 8'de özetlenmeye çalışılan deney sonuçları, aşağıda maddeler halinde tartışılmaktadır.

- Çalışılan her üç örnekte de B1 testleri düşmüş ve B2 testine geçilmiştir.
- Ameliyat eldiveni numunesi dışında diğer iki numunede B2 testi ile sterilizasyon dozu tespit edilmiştir.
- Bu da, numunelerimizin mikrobiyal yüklerinin radyorezistans dağılımlarının SDR'ye uymadığının bir göstergesidir.
- OMY tayini için kullanılan 30 (üç üretim partisine ait) numunenin mikrobiyal yükleri arası fark iki katından fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu da üretimde çalışan personel faktörünün fazla olduğunu göstermektedir.
- AAMI metotlarının uygulanması sırasında "lot içerisinde mikrobiyal yükler arası fark iki katından fazla ise MMY değeri OMY değeri olarak alınır" şeklinde

Tablo 8. OMY yerine MMY kullanılması ile elde edilen sonuçlar.

Numune	AAMI-B1	AAMI-B2	MMY-B1
1 Numune: Katgüt SAL: 10 ⁻⁶ SIP: 1	OMY: 18.3 Sınama doz: 5.9 kGy (+) sayısı: 6 SAL doz: 18.6 kGy Karar: Red	Sınama doz: 11.8 kGy (+) sayısı: 2 SAL doz: 30.7 kGy	MMY: 65 Sınama doz: 7.4 kGy (+) sayısı: 2 SAL doz: 20.5 kGy Karar: Kabul
2 Numune: Eldiven SAL: 10 ⁻⁶ SIP: 0.1	OMY: 41 Sınama doz: 6.8 kGy (+) sonuç: 5 SAL doz: 23.5 kGy Karar: Red	Yeterli numune olmadığı için çalışılmadı	MMY: 250 Sınama doz: 9.1 kGy (+) sonuç: 0 SAL doz: 26.4 kGy Karar: Kabul
3 Numune: Gazlı bez SAL: 10 ⁻⁶ SIP: 1	OMY: 558 Sınama doz: 10.2 kGy (+) sonuç: 36 SAL doz: 24 kGy Karar: Red	Sınama doz: 14.8 kGy (+) sayısı: 6 SAL doz: 37.5 kGy	MMY: 3750 Sınama doz: 12.8 kGy (+) sonuç: 7/52 SAL doz: 27.1 kGy Karar: Red

bir modifikasyona gidilmesi, doz seçim testi sırasında daha fazla zaman ve masraf gerektiren B2 testine geçişi bazı ürünlerde önleyebilecektir.

- Üç örnekten ikisinde, sözü edilen modifikasyon işe yaramış ve B1 metoduyla sonuç alınması sağlanmıştır. Gazlı bez numunesinde işe yaramamasının nedenleri;
 - o Gazlı bezin diğer 2 örnekten farklı olarak üretim sırasında kalıplama gibi ısı bir işleminden geçmemiş olması,
 - o Polimerik bir malzeme olmayıp, doğa kaynaklı bir malzeme olması. Buna bağlı olarak da mikrobiyal yükünün değişik kaynaklı ve fazla sayıda olması,
 - o Üretim ve paketleme alanının GMP koşullarına sahip bir tıbbi malzeme firması olma özelliğinden uzak olması sayılabilir.
 - o Ayrıca bu modifikasyonla elde edilen doz değeri B2 yönteminde elde edilen doz değerinden daha düşüktür (B1 < MMY < B2). Böylece malzeme gereksiz yere verilen fazla dozun zararlarından da korunmuş olacaktır.
 - o Elbetteki çalışılan 3 örneğe bakılarak bir genelleme yapmak erken veya yanlış olacaktır. Bundan sonraki çalışmalarımızın daha fazla örnek ve firma ile olması planlanmaktadır.

Deneysel ışınlamalar, bu amaçla kullanılan gama-kaynağında gerçekleştirilmiştir. Işınlayıcının doz hızı, 1.63 kGy/saat (Ocak-2004) olup, doz hızı “friche” referans standart dozimetreler, deneyler sırasında absorblanan doz ise Red-4034 dozimetreler kullanılarak ölçülmüştür.

KAYNAKLAR

1. ISO 11137/1994-Sterilization of health care products- Requirements for validation and routine control- Radiation sterilization.
2. TS-EN 552/1996- Tıbbi Gereçlerin Sterilizasyonu-Işınlama ile Sterilizasyonda Rutin kontrol ve geçerliliği.
3. AAMI RS 3 -84/1984-Process Control Guidelines for Gamma Radiation Sterilization.
4. TS EN 1174/1998; Tıbbi Cihazların Sterilizasyonu-Üründeki Mikroorganizma Populasyonunun Tahmin Edilmesi.
5. Taylor WA, Hansen JM. Alternative sample sizes for verification dose experiments and dose audits. Rad Phys And Chem 1999;54:65-75.
6. Kowalski JB, Tallentire A. Substantiation of 25 kGy as a sterilization dose: a rational approach to establishing verification dose. Rad Phys And Chem 1999;54:55-64.
7. Lambert BJ, Hansen JM. ISO Radiation Standarts. Rad Phys And Chem 1998;52:11-4.
8. TAEK-ANTHAM-GISB- Endüstride Radyasyonla Sterilizasyon Kurs Kitabı-2004.