

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi- ja materiaalitekniikka

2020

Anna-Kristiina Oksanen, Laura Salminen

# ANTI-hTSH MIKROTIITTERILEVY TUOTTEEN TUOTANTOPROSESSIEN OPTIMOINNIT

Anna-Kristiina Oksanen, Laura Salminen

## ANTI-hTSH MIKROTIITTERILEVYTUOTTEEN TUOTANTOPROSESSIEN OPTIMOINNIT

Opinnäytetyön aiheena oli Wallac Oy:n levyvalmistuksessa tuotettavien vasta-aineella pinnoitettujen Anti-hTSH mikrotiitterilevyjen tuotantoprosessien optimointi. Mikrotiitterilevyt ovat TSH- määritykseen käytettäviä kuoppalevyjä. Optimoinnin tavoitteena oli saada tuotantoprosesseja kehitettyä niin, että tuotantokapasiteetti nousee määrällisesti sekä nykyinen käytettävissä oleva laitteisto olisi hyödynnetty mahdollisimman tehokkaasti. Projektissa oli mukana kaksi eri tuotetta, joiden valmistusprosesseja optimoitiin eri tavoin. Näin ollen opinnäytetyö jaettiin tuotekohtaisesti kahteen eri osaan.

Opinnäytetyön ensimmäisessä osassa optimointi oli osa isompaa validointikokonaisuutta, jossa Anti-hTSH mikrotiitterilevyn tuotantoprosessin eräkoko haluttiin kasvattaa. Eräkoon kasvatuksen merkittävin muuttuva prosessiparametri oli pidentynyt tuotannon läpimenoaika. Tällöin myös prosessiin käytettävän vasta-aine liuoksen on säilyttävä pidempään käyttökelpoisena. Opinnäytetyössä karakterisoitiin liuoksen säilyvyys pidentyneessä prosessissa.

Karakterisointia varten valmistettiin normaalia pienempi testierä, jonka valmistukseen käytettäviä liuoksia seisotettiin ennen prosessin aloittamista. Valmistuneille levyille tehtiin laadunvalvontatestaukset, joiden tuloksista pääteltiin, ettei liuoksen säilymistä homogeenisena voida luotettavasti osoittaa. Levyjen tuotantoprosessin eräkoko tulee joko jättää kasvattamatta tai karakterisointia tulee jatkaa lisätestauksilla.

Opinnäytetyön toisessa osassa mahdollistettiin Anti- hTSH mikrotiitterilevyjen tuotantoprosessi rinnakkaisella tuotantolinjalla. Tuotantotilassa sijaitsevat kaksi tuotantolinjaa ovat samankaltaisia keskenään, jolloin rinnakkaisen tuotantolinjan soveltuvuutta levyjen valmistukseen tarkasteltiin riskiarviona. Riskiarvion perusteella todettiin tuotantolinjan soveltuvan Anti-hTSH mikrotiitterilevyjen valmistukseen ja tuotanto saatiin mahdollistettua rinnakkaiselle linjalle.

### ASIASANAT:

karakterisointi, immunometrinen määrittäminen, mikrotiitterilevy

BACHELOR'S | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Chemical and Materials Engineering

2020 | 46 pages, 1 appendice

Anna-Kristiina Oksanen, Laura Salminen

# OPTIMIZATION OF THE ANTI-hTSH MICROTITRATION STRIPS PRODUCTION PROCESS

Objective of this thesis was to optimize the manufacturing processes of two antibody-coated Anti-hTSH microtiter plates produced in Coated Plate Manufacturing at Wallac Oy. These microtiter plates are used for TSH assays. The aim of the optimization was to develop the manufacturing processes so that the manufacturing capacity would increase in quantity and the currently available equipment would be utilized as efficiently as possible. The project involved two different products, the manufacturing processes of which were optimized in different ways. Correspondingly, the thesis was divided into two different parts, and each product is discussed separately.

In the first part of the thesis project, the optimization was a part of a larger validation project, in which the batch size of the Anti-hTSH microtiter plate manufacturing process was to be increased. The most significant variable process parameter in batch size growth was the extended production lead time. With increased lead time, the antibody solution used in the process must also remain usable for a longer period. The preservation of the solution in an extended process was characterized in the thesis.

For characterization, a smaller than normal test batch was prepared. The solutions used for plate manufacturing were allowed to age before starting the process, and the finished plates were subjected to quality control tests. From the results it was concluded that the homogeneity of the solution could not be reliably ensured. The batch size of the manufacturing process should either not be increased or the characterization should be continued with further testing

## KEYWORDS:

characterization, immunometric assay, microtitration strips

# SISÄLTÖ

<b>KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO</b>	<b>8</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>1</b>
<b>2 MÄÄRITYSPERIAATE JA -TEKNOLOGIA</b>	<b>3</b>
2.1 hTSH immunomääritys	3
2.2 Aikaerotteinen fluorometria	6
2.3 AutoDELFLIA® -määrityslaitteen toimintaperiaate	7
2.4 GSP® -määrityslaitteen toimintaperiaate	9
<b>3 MUUTOKSENHALLINTA LAATUJÄRJESTELMÄSSÄ</b>	<b>10</b>
3.1 Laatu järjestelmä	10
3.2 Muutoksenhallinta	11
3.3 Karakterisointi	11
3.4 Verifiointi ja prosessi-validointi	11
3.5 Riskiarvio	12
3.6 Quality by Design	13
<b>4 MITTAKAAVAN NOSTAMINEN</b>	<b>14</b>
<b>5 TUOTANTOPROSESSI JA LAITETEKNIikka</b>	<b>15</b>
5.1 Vasta-aineannostelu	16
5.2 Pesu-kyllästysvaihe	17
5.3 Loppuaspirointi ja pakkaus	17
<b>6 LAADUNVALVONTA</b>	<b>19</b>
6.1 Kiihdytetty säilyvyys	20
<b>7 TUOTANNON OPTIMOINNIN MENETTELYT KÄYTÄNNÖSSÄ</b>	<b>23</b>
7.1 Optimointi osa 1: GSP – määritykseen käytettävä Anti-hTSH mikrotiiterilevy	23
7.1.1 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus	24
7.1.2 Liuosylimäärien pienentäminen	26
7.2 Optimointi osa 2: AutoDELFLIA – määritykseen käytettävä Anti-hTSH mikrotiiterilevy	30

7.2.1 Pesu- ja kyllästysvaiheiden sekä loppuaspiroinnin mahdollistaminen rinnakkaiselle linjalle (KOU3)	30
7.2.2 Pesu- ja kyllästysliuosten säätö- ja hyväksymisrajat	31
<b>8 TULOSTEN KÄSITTELY</b>	<b>33</b>
8.1 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus 0 pisteessä	33
8.1.1 Homogeenisuus	33
8.1.2 Kokoomalevytesti	34
8.1.3 Signaalitaso	36
8.2 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus kiihdytettyjen olosuhteiden jälkeen	37
8.2.1 Homogeenisuus	37
8.2.2 Kokoomalevytesti	38
8.2.3 Signaalitasotesti	39
8.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu: optimointi osa 1	40
8.4 Tulokset ja tulosten tarkastelu: optimointi osa 2	43
<b>9 YHTEENVETO</b>	<b>44</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>46</b>

## LIITTEET

Liite1. Levyvalmistusprosessin vuokaavio

## KAAVAT

Kaava 1. Biomolekyylien hajoamisen laskukaava	20
Kaava 2. Puoliintumisajan laskukaava	20
Kaava 3. Arrheniuksen yhtälö	21
Kaava 4. Kiihdytetyn säilyvyyden säilytysajan laskukaava	21
Kaava 5. Pesuliuoksen valmistuksen laskukaava. <sup>27</sup>	27
Kaava 3. Todellisen käyttömäärän laskukaava	27
Kaava 4. Kyllästysliuoksen valmistuksen laskukaava	29
Kaava 8. Standardin F kertoimen laskukaava	36

## KUVAT

Kuva 1. Ei-kilpaileva määrittys, IFMA <sup>30</sup>	5
Kuva 2. Kilpaileva määrittys, FIA <sup>30</sup>	5
Kuva 3. Aikaerotteisen fluorometrian toimintaperiaate.	7
Kuva 4. AutoDELFI <sup>®</sup> määrittyslaite. <sup>12</sup>	8
Kuva 5. GSP <sup>®</sup> määrittyslaite. <sup>13</sup>	9
Kuva 6. Mikroitterilevy on 96- kuoppainen levy, joka on rakennettu levykehystä ja kahdeksasta erillisistä 12 kuoppiasesta stripsistä.	15
Kuva 7. Karakterisointierän valmistus säilyvyydestä varten.	25
Kuva 8. Levyjen homogeenisuusmäärittysten signaalitasoja kuvaava signaalikäyrä, jossa on esitetty kaikki aikapisteet välillä 0-34 h.	41
Kuva 9. Kokoomalevytestin levyjen välinen signaalitaso verrattuna 0 pisteen ja 19 vuorokauden kiihdytettyjen säilytysolosuhteiden jälkeen.	42

## TAULUKOT

Taulukko 1. Anti-hTSH eräkokokohtaiset pesuliuostilavuudet	27
Taulukko 2. Pesuliuoksen käyttömäärä ja liuosylimäärä.	28
Taulukko 3. Pesuliuoksen liuosylimäärä pienemmällä eräkohtaisella ylimäärällä.	28
Taulukko 4. Kyllästysliuoksen valmistettava liuosmäärä	29
Taulukko 5. Kyllästysliuoksen käyttömäärä ja liuosylimäärä	29
Taulukko 6. Kyllästysliuoksen liuosylimäärät pienemmällä kertoimella.	30
Taulukko 7. Rinnakkaisten KOU4 ja KOU3 tuotantolinjojen mekaaniset erot	31
Taulukko 8. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset aikapisteissä 0h, 14h ja 24h	34
Taulukko 9. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset aikapisteissä 34h	34
Taulukko 10. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h	35
Taulukko 11. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0h, 14h, 24h ja 34h	35
Taulukko 12. Standardien mitatut pitoisuudet	36
Taulukko 13. Signaalitasotestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h	36
Taulukko 14. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset 19 vrk jälkeen aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h	37
Taulukko 15. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset 19 vrk jälkeen aikapisteissä 34 h	38
Taulukko 16. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h	38
Taulukko 17. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h	39
Taulukko 18. Standardien mitatut pitoisuudet	39

Taulukko 19. Taulukossa on esitetty signaalitasotestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h,  
24 h ja 34 h 40

## KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO

Aspirointi	Mikroitiitterilevyn jokaiselta kuopalta samanaikaisesti tapahtuva ylimääräliuoksen pois imeminen.
DELFI	Dissociation-enhanced lanthanide fluorescent immunoassay
Dispensointi	Mikroitiitterilevyn jokaiseen kuoppaan samanaikaisesti tapahtuva liuosannostelu
DTTA	Dietyleenitriamiinitetraetikkahappo, AutoDELFI <sup>®</sup> määrittelyssä käytetty kelatoiva aine
DTPA	Dietyleenitriamiinipentaetikkahappo, GSP <sup>®</sup> määrittelyssä käytetty kelatoiva aine
EDTA	Etyleenidiamiinitetraetikkahappo, kompleksiyhdisteitä muodostava aminohappo
EN standardi	Eurooppalainen standardi
Epitooppi	Antigeenin kohta, johon vasta-ainemolekyyli sitoutuu
FDA	Food and Drug Administration, Yhdysvaltojen Elintarvike- ja lääkevirasto
FIA	Fluoroimmunoassay, Kilpaileva immunomääritys
GSP	Genetic screening processor
hTSH	Human thyroid stimulating hormone, Kilpirauhasta stimuloiva hormoni
IFMA	Immuno fluorometric assay, Ei-kilpaileva immunomääritys
ISO standardi	International Organization for Standardization, Kansainvälinen standardi
Inkubointi	Reaktion tapahtuminen kontrolloiduissa olosuhteissa
Kouttaus	Kuoppalevyn kuoppien pinnoittaminen vasta-aineella
MDSAP	Medical device single audit program, Lääketieteellisten laitteiden auditointi ohjelma
TRF	Time-resolved Fluorometry, Aikaerotteinen fluorometria
VST	Validoinninohjausryhmä



QbD	Quality by Design
QMS	Quality Management System, Laadunhallintajärjestelmä
Spesifikaatio	Tuotteelle tai laitteelle asetettu vaatimus

# 1 JOHDANTO

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi PerkinElmer Wallac Oy. Turussa toimiva Wallac Oy on osa kansainvälistä Perkin Elmer Inc.-konsernia, joka kehittää ja valmistaa reagensseja, laitteita ja ohjelmistoja kliinisen seulonnan, bioanalyttisen tutkimuksen, lääkekehityksen, sekä kliinisen diagnostiikan tarpeisiin. Yrityksen tärkeimpiin tuotteisiin kuuluvat vastasyntyneiden ja sikiön raskauden aikana ilmenevien sairauksien seulontaan käytettävät laitteistot ja reagenssit. Seulonnoilla pyritään löytämään vastasyntyneistä harvinaisia ja vakavia synnynnäisiä sairauksia sairastavat, jotta hoito niihin sairauksiin voidaan aloittaa mahdollisimman ajoissa.<sup>1</sup>

Tämä opinnäytetyö suoritettiin Wallac Oy:n kemiantuotannon levyvalmistuksessa. Levyvalmistuksessa valmistetaan eri määryksiä varten vasta-aineilla koutattuja mikrotiitterilevyjä, jotka toimivat alustana suoritettavalle immunomääritykselle. Immunomäärityksiä suoritetaan Wallacin omilla määrityslaitteilla, joista tässä opinnäytetyössä käsitellään kahta: AutoDELFI<sup>®</sup> (dissociation-enhanced lanthanide fluorescence immunoassay) laitetta sekä GSP<sup>®</sup> (Genetic Screening Processor)- laitetta. Työn tavoite oli optimoida kahden eri Anti-hTSH vasta-aineella koutatun mikrotiitterilevyn tuotantoprosessia vastaamaan paremmin nykyistä kysyntää ja tuotannon tarpeita. Tuotteita käytetään samaan immunomääritykseen, jossa seulotaan vastasyntyneiden kilpirauhasen vajaatoimintaa. Tuotteiden levytyypit ja immunomääritykseen käytettävät määrityslaitteet ovat kuitenkin erit. Opinnäytetyön selkeyttämisen vuoksi tuotteet erotetaan toisistaan viittaamalla niihin niiden määrityslaitteen mukaisesti GSP-levyinä (GSP<sup>®</sup>-määritys) ja AutoDELFI<sup>®</sup>-levyinä (AutoDELFI<sup>®</sup>-määritys).

Opinnäytetyön ensimmäinen osa käsittelee GSP-Anti-hTSH levyjen eräkoonkasvatusta edeltävän koutausliuoksen säilyvyyden karakterisoinnin sekä liuosylimäärien vähentämisen kartoituksen. Säilyvyyden määrittäminen on välttämätön vaihe ennen GSP-Anti-hTSH mikrotiitterilevytuotteen maksimieräkoon nostamista ja verifiointia 5000 levystä 8500 levyn eräkoon. Eräkoon kasvatuksessa levyjen valmistusprosessissa merkittävimmät muuttuvat parametrit ovat suuremmat liuostilavuudet ja pidentynyt tuotantosarjan läpimenoaika. Nämä tekijät voivat vaikuttaa liuosten homogeenisuuteen sekä Anti-hTSH vasta-aineen säilyvyyteen koutausliuoksessa.

Opinnäytetyön toisessa osassa mahdollistettiin AutoDELFI<sup>®</sup>-Anti-hTSH levyjen tuotanto uudella tuotantolinjalla, mikä lisää kyseisen tuotteen tuotantoprosessin joustavuutta.

Samalla kyseisen tuotteen valmistusprosessin pesu-kyllästysvaiheen annostelussa otettiin käyttöön entistä laajemmat hyväksymisrajat. AutoDELFLIA-Anti-hTSH levyn tuotantoprosessin muutokset suoritettiin ilman käytännön testauksia riskiarviolla, jossa arvioitiin uuden tuotantolinjan käyttöönotosta koituvat riskit. Riskiarvion perusteella tehtiin päätös tuotantomuutoksen kanssa etenemisestä.

## 2 MÄÄRITYSPERIAATE JA -TEKNOLOGIA

Wallac Oy on PerkinElmerin suurimpia tuotekehitys- ja valmistusyksiköitä, jossa kehitetään ja valmistetaan tuotteita terveydenhuollon tarpeisiin. Laiteratkaisuja valmistetaan moniin käyttötarkoituksiin ja ne soveltuvat suuriin tuotantomittakaavan tarpeisiin ja myös pienempiin laboratorioihin. Tässä opinnäytetyössä käsitellyt laitteet ja tuotteet ovat vain pieni osa PerkinElmerin tarjoamista tuotekokonaisuuksista.<sup>29</sup>

### 2.1 hTSH immunomääritys

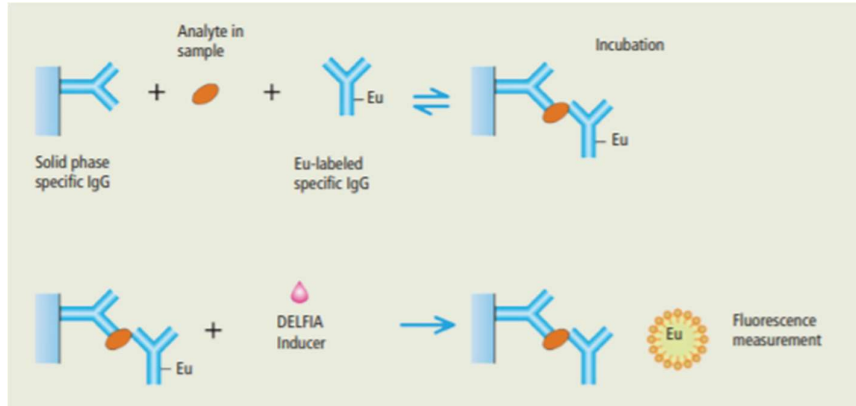
Vastasyntyneille tehtävällä hTSH (human thyroid stimulating hormone) -immunomäärityksellä määritetään kvalitatiivisesti ihmisen kilpirauhasta stimuloivan hormonin tyreotropiinin toimintaa. Tyreotropiini erittyy aivolisäkkeen etulohkosta ja sen ensisijainen tehtävä on säädellä tärkeimpien kilpirauhashormonien (tyroksiini, trijodityroniini) synteesiä ja eritystä. Synnyynnäinen kilpirauhasen vajaatoiminta on melko yleinen sairaus, jota esiintyy noin yhdellä vastasyntyneellä 3000:sta. Sairaus on helposti hoidettavissa tyroksiini-hoidolla, jos se havaitaan tarpeeksi ajoissa. Hoitamattomana sairaus voi johtaa peruuttamattomiin aivovaurioihin. Sairauden kliininen todentaminen on haastavaa, mutta se on selkeästi havaittavissa vastasyntyneen hTSH-hormoniarvojen kohoamisesta ja tyroksiiniarvojen laskusta. Korkean spesifisyytensä ja herkkyytensä ansiosta hTSH-testaus on nykyään paras tapa määrittää vastasyntyneiden kilpirauhasen vajaatoimintaa. Määritykseen käytetään Wallac Oy:llä tuotettuja ja kehitettyjä AutoDELFLIA®- sekä GSP®-laitteita ja teknologiaa.<sup>2</sup> Wallac Oy valmistaa kahta kilpirauhasen vajaatoimintaa seulovaa immunomäärityskittiä; Neonatal hTSH ja Neonatal Thyroxine (T4), joista hTSH seulonta suoritetaan vastasyntyneelle ensin. Jos hTSH tulokset viittaavat kilpirauhasen vajaatoimintaan, T4 seulonta voidaan suorittaa varmentavana seulontana kilpirauhasen vajaatoiminnan todentamiselle.<sup>30</sup>

Neonatal hTSH on fluori-immunometrinen määrittäminen, jossa tapahtuvan immunoreaktion tulokset mitataan aikaerotteisen fluorometrian avulla. hTSH määrittämisessä käytetään kahta hiirestä peräisin olevaa vasta-ainetta joista toinen on sidottuna kiinteään faasiin eli 96-mikrotiiterilevyn pintaan ja toinen on vapaana määrittämisessä käytettävissä puskuriliuoksessa. Molemmat vasta-aineet reagoivat hTSH-molekyylin eri epitoppien eli tunnistekohtien kanssa. Kuoppalevylle kiinnitetty vasta-aine sitoo hTSH-molekyylin

verinäytteestä kuoppalevylle. Määrityspuskurin vasta-aine puolestaan sisältää herkästi fluoresoivan leima-aineen.<sup>3</sup>

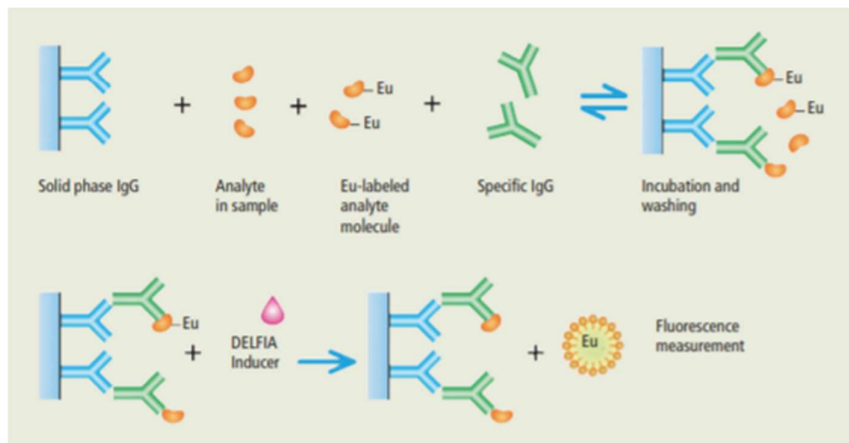
Leimana määrittämisessä hyödynnetään maametalleihin kuuluvia lantanideja kuten Europiumia, Samariumia ja Terbiumia.<sup>2</sup> Nämä lantanidi-alkuaineet ovat hyvin luminesoivia ionimuodoissaan, eli kun viritetyn lantanidi-ionin viritystila purkautuu se vapauttaa ylimääräisen energiansa säteilemällä valoa tietyllä aallonpituudella.<sup>4</sup> Lantanidi-iona ei sellaisenaan pystytä sitomaan vasta-aineeseen tai virittämään tehokkaasti, joten immunomäärityksessä näitä lantanidi-ioneja hyödynnetään sitomalla ne varauksien avulla kelaattirakenteeseen. Kelatointi mahdollistaa lantanidi-leiman sitoutumisen biologiseen yhdisteeseen. Vasta-aineeseen sidotut lantanidikelaatit eivät kuitenkaan ole fluoresoivia. Tämän vuoksi määrittämisessä käytetään mittaliuosta, jonka alhainen pH saa lantanidi-ionin irtoamaan vasta-aineeseen kiinnittyneestä kelaattirakenteestaan. Mittaliuoksessa lantanidi-ioni sitoutuu uuteen UV-valoa absorboivaan kelaattirakenteeseen.<sup>31</sup> Näin muodostunut kelaatti säteilee fluoresenssia, joka on mahdollista mitata aikaeroitteisella fluorometrialla. Sitoutumattomat leimavaste-aineet pestään pois määrittämisestä ennen mittaliuoksen lisäämistä, jolloin fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen näytteen hTSH-pitoisuuden kanssa.<sup>36</sup>

Immunomääritykset voidaan jakaa kahteen eri päätyyppiin: kilpaileva (FIA= fluoroimmunoassay) ja ei kilpaileva (IFMA= immunofluorometric assay). hTSH -määritys on esimerkki IFMA -määrittämisestä, jossa näyte ja leimattu vasta-aine lisätään määrittämisvaiheittain. IFMA -määrittämisen periaate on havainnollistettu kuvassa 1. Näytteessä oleva analyytti reagoi ensin kuoppalevyn kuoppiin koutatun vasta-aineen kanssa ja myöhemmin lisätty leimattu vasta-aine sitoutuu analyytin toiseen epitoppiin muodostaen niin kutsutun "sandwich"-mallin.<sup>32</sup>



Kuva 1. Ei-kilpaileva määrittys, IFMA<sup>30</sup>

Tyroksiinitasoja mittaava T4-määrittys on FIA -määrittys. FIA -määrittäksessä reagenssit lisätään yhtä aikaa, jolloin näytteen analyytti ja leimattu analyytti kilpailevat kuoppalevyn pintaan kouttautuneen vasta-aineen sitoutumispaikoista. FIA -määrittäksen periaate on havainnollistettu kuvassa 2. Päinvastoin kuin IFMA-määrittäksessä, FIA-määrittäksessä fluoresenssi-signaali pienenee sitä mukaan mitä suurempi määrä näytteessä olevaa, leimaamatonta analyyttiä sitoutuu kuoppalevyn pintaan eli mitattu fluoresenssi on kääntäen verrannollinen näytteen pitoisuuteen.<sup>32</sup>

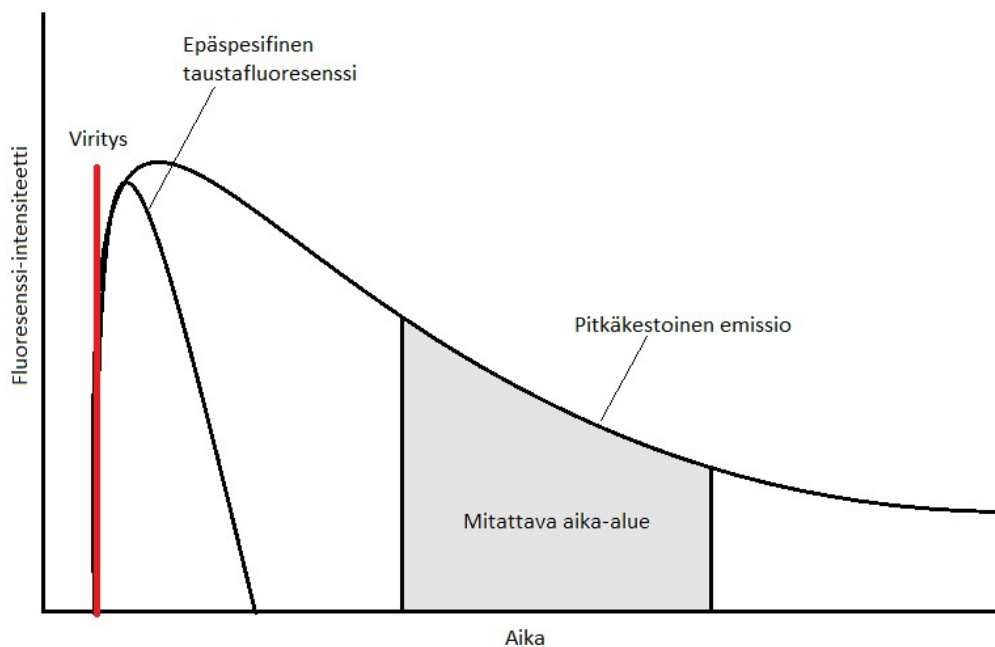


Kuva 2. Kilpaileva määrittys, FIA<sup>30</sup>

## 2.2 Aikaerotteinen fluorometria

Wallacin DELFIA<sup>®</sup> -teknologia perustuu aikaerotteiseen fluorometriaan, jossa luminesoiva leima-aine viritetään energianlähteellä, kuten fluorometrin laserilla korkeammalle energiatasolle.<sup>6</sup> hTSH-määrityksessä viritettävä kelaattirakenne absorboi itseensä valon energiaa, jonka se siirtää lantanidi-ionille.<sup>7</sup> Viritystilän purkautuessa ylimääräinen energia vapautuu valona kun lantanidi-ioni palaa alemmalle energiatasolle. Lantanidi-ionit säteilevät valoa tietyllä aallonpituudella, jota mittaamalla saadaan selvitettyä DELFIA-määrityksen tulokset.<sup>36</sup>

Perinteisen fluorometriamittauksen huonona puolena on määrittelyn taustafluoresenssi, joka voi johtaa virheellisiin tuloksiin ja vähentää määrittelyn herkkyyttä.<sup>6</sup> Tämän takia immunofluoresenssimittaukseen on yhdistetty aikaerotteinen mittaus, jonka periaate on esitetty kuvassa 3. Aikaerotteisen fluoresenssin mittaaminen vähentää huomattavasti lyhytkestoisen taustafluoresenssin vaikutusta määrittelytuloksiin pidentämällä aikaa fluoroforin virityksen ja fluoresenssinmittauksen välillä.<sup>7</sup> Lantanidi kelaateilla on muihin fluoroforeihin verrattuna pitkä fluoresenssin puoliintumisaika. Kun mittaus tehdään sopivalla aikaviivellä, muiden kuin lantanidi kelaattien tuottama fluoresenssi on ehtinyt vaimentua, eikä taustafluoresenssi pääse vaikuttamaan määrittelytuloksiin.<sup>8</sup>



Kuva 3. Aikaerotteisen fluorometrian toimintaperiaate.

### 2.3 AutoDELFI<sup>®</sup> -määrityslaitteen toimintaperiaate

DELFI<sup>®</sup> -teknologia on Wallac Oy:n kehittämä menetelmä immunomääritykselle. AutoDELFI<sup>®</sup> (kuva 4) on maailmanlaajuisesti käytetty immunomäärityslaitteisto raskauden ajan ja vastasyntyneiden seulontaan.<sup>9</sup> AutoDELFI<sup>®</sup> käyttämä fluoresenssi-immunomääritys on erittäin herkkä ja siinä ilmenevät biologisen näytteen autofluoresenssista johtuvat häiriöt ovat sen käyttämän aikaerotteisen mittausmenetelmän ansiosta vähäisiä.<sup>3</sup> AutoDELFI<sup>®</sup> -määrityksellä ei saada yhtä tarkkoja tuloksia kuin massaspektrometrialla, mutta sen teknologia on massaspektrometriaan verrattuna yksinkertaisempaa ja edullisempaa.<sup>10</sup> AutoDELFI<sup>®</sup> etuina toimivat sen automaattisuus ja helppokäyttöisyys, mikä on mahdollistanut sen laajan suosion immunomääritysten saralla.<sup>9</sup>

AutoDELFI<sup>®</sup> -laite suorittaa määrittämisen kaikki vaiheet automaattisesti. Määrityksellä voi testata seeruminäytteitä tai kuivattuja veritäplänäytteitä. Seeruminäytteet testataan näyteteprosessoriyksiköllä näyteteputkista. Laite laimentaa näytteet tarvittaessa automaattisesti



ennen mikrotiitterilevylle annostelua, minkä jälkeen mikrotiitterilevyt ladotaan automaattisesti laitteen levyprosessoriyksikköön. Veritäplänäytteiden testausta varten näyteprosessoriyksikkö korvataan automaatti-puncherilla, jolla yhdestä veritäplä näytteestä voidaan lävistää useita pienempiä näytteitä niiden analysointia varten. Wallac Oy valmistaa erilaisia puncher-laitteita, joilla näyte lävistetään suodatinpaperilta mikrotiitterilevylle reiättimen avulla. Yleisesti yhdestä veritäplänäytteestä saadaan lävistettyä viisi näytettä.<sup>11</sup>

AutoDELFIA®-laitteella ja sen kanssa tehtävillä määryyksillä on myös joitain heikkouksia. DELFIA-määryyksissä vasta-aine sidotaan lantanidi-leimaan käyttäen apuna dietyleenitriamiinitetra-asetattia (DTTA) Ln-DTTA kelaatteina. Määryyksen lopulla Ln-ioni irrotetaan leimattuun vasta-aineeseen sitoutuneesta kelaatista happamalla mittaliuoksella, joka sisältää 2-naftoyylitrifluoriasetonia (NTA). Ln ja 2-NTA muodostavat yhdessä erittäin fluoresoivan Ln-2-NTA kompleksiyhdisteen. Ln-DTTA kelaatit ovat kuitenkin herkkiä reagoimaan suuriin konsentraatioihin kompleksiyhdisteitä kuten EDTA (etyleenidiamiinitetraetikkahappo). Tämä häiriö johtaa lantanidi-leiman irtoamiseen ennen mittaliuoksen lisäämistä, mikä puolestaan johtaa väärin negatiivisiin tuloksiin. Määryystä voi häiritä myös korkeat metalli-ionipitoisuudet. Lisäksi laitteella on mahdollista suorittaa vain immunomääryyksiä ja vain yksi erä kerrallaan. Uutta määryystä ei voida aloittaa ennen aikaisemman määryyksen valmistumista ja erän tyhjentämistä laitteesta.<sup>10</sup>



Kuva 4. AutoDELFIA® määryyslaite.<sup>12</sup>

## 2.4 GSP<sup>®</sup> -määrityslaitteen toimintaperiaate

GSP<sup>®</sup> (Genetic Screening Processor, kuva 5) on suuren suoritustehon analysaattori, joka on tarkoitettu vastasyntyneiden seulontanäytteiden kvantitatiiviseen ja kvalitatiiviseen mittaamiseen 96-kaivon mikroitiiterilevyiltä.<sup>5</sup> Toisin kuin AutoDELFIA:lla GSP-laitteilla ei suoriteta laisinkaan raskauden ajan seulontoja, joihin käytetään seeruminäytteitä, vaan kaikki käytettävät näytteet ovat kuivattuina veritäplinä. GSP<sup>®</sup> on Wallac Oy:n uusin ja edistynein immuno-määrityslaite ja sitä markkinoidaan korvaavana laitteena AutoDELFIA:lle. Toiminnan periaate on sama kuin AutoDELFIA-laitteella, mutta sen suoritus on tarkempaa ja nopeampaa.<sup>3</sup>

GSP-laitteella on mahdollista tehdä useita määryksiä samanaikaisesti ja laitteelle on lisätty useita toiminnantarkastuksen menetelmiä virheellisten tulosten välttämiseksi, kuten näytteen eluoinnin tarkastus. GSP-laitteella tehtävien immunomääritysten virheellisiä tuloksia on onnistuttu vähentämään immunomäärityksessä keytettävän kelatoivan aineen vaihdolla. GSP -määrityksissä käytettävissä puskuriliuoksissa käytetään kelatoivana aineena DTTA:n sijasta dietyleenitriamiinipenta-asettaattia (DTPA). Ln-DTPA on Ln-DTTA yhdistettä stabiilimpi kompleksiyhdiste eikä näytteiden kontaminoituminen muilla kompleksiyhdisteillä, kuten EDTA, enää johda vääriin negatiivisiin tuloksiin.<sup>10</sup>



Kuva 5. GSP<sup>®</sup> määrityslaite.<sup>13</sup>

## 3 MUUTOKSENHALLINTA LAATUJÄRJESTELMÄSSÄ

Valmistettavaan tuotteeseen tai tuotantoprosessiin kohdistuvissa muutoksissa on tärkeää huomioida muutoksen vaikutukset tuotteen laatuun. Laadun takaaminen on aina Wallacilla prioriteetti ja tämän takia muutokset pyritään tekemään mahdollisimman hallitusti ja harkitusti. Eri mittakaavan tuotantomuutoksille on omat menettelytapansa, joista jokaisessa Wallacin laatujärjestelmä takaa tuotteen laadun.

### 3.1 Laatujärjestelmä

Tuotannollisen liiketoiminnan laatu politiikka perustuu laadunhallintajärjestelmään, joka koostuu toisiinsa vaikuttavista prosesseista. Prosessien avulla varmistetaan, että asiakkaille toimitetut tuotteet ja palvelut ovat turvallisia ja toimivia, sekä täyttävät asiakkaiden ja viranomaisten asettamat vaatimukset. Laadunhallinnan keskeinen väline on laatukäsikirja, jossa kuvataan laatustandardeihin perustuvat toimintatavat kattaen Wallac Oy:n tuotantoyksikköön liittyvät prosessit ja niiden toiminnan. Standardeihin perustuvan laatu politiikan ylläpitämistä valvotaan sekä ulkoisilla, että sisäisillä auditoinneilla.<sup>14</sup>

Wallac Oy:n laadunhallintajärjestelmä noudattaa terveydenhuollon laitteiden laatustandardia EN ISO 13485:2016, Euroopan parlamentin ja neuvoston lääkintälaitedirektiiviä 98/79/EY, amerikkaisen FDA:n laatujärjestelmäsäädöksiä ja QMS ISO 13485:2016 standardia MDSAP – säännöksen alla, sekä muita soveltuvia maakohtaisia viranomaismäärityksiä tarpeen mukaan.<sup>14</sup>

ISO 13485:2016 standardi määrittelee vaatimukset organisaatioille, jotka tuottavat ja tarjoavat lääkinnällisiä laitteita, ja niihin liittyviä palveluita. Standardi perustuu ISO 9001 – laatustandardiin, mutta on spesifinen ja vaatimustasoltaan korkeampi lääkinnällisten laitteiden ja palveluiden osalta.<sup>15</sup> Euroopan direktiivi 98/79/EY on in vitro – diagnostiikkaan tarkoitetuista lääkinnällisistä laitteista annettu Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi.<sup>16</sup> Amerikkalainen viranomaisen FDA valvoo lääkkeiden ja lääkinnällisten laitteiden myyntiä ja markkinointia USA:ssa.<sup>14</sup>

### 3.2 Muutoksenhallinta

Standardien mukaisessa tuotannon ohjauksessa prosessin muutokset viedään läpi vahingoittamatta tuotteita tai palveluja. Muutoksen voi aiheuttaa mm. asiakasvalitukset, poikkeamat laadussa, tarkastuksien huomautukset tai prosessin kehittämistarpeet. Wallac Oy:n muutostenhallintaprosessia kontrolloidaan tiedottamisella sekä laatujärjestelmän mukaisilla hyväksymis- ja käyttöönottoperiaatteilla.<sup>14</sup>

Tehokas muutostenhallinta kattaa riskien arvioinnin, verifiointi- ja validointitoimenpiteiden suunnittelun, vastuunjaon sekä aikataulun. Jäljitettävyyden takaamiseksi kaikki muutokset dokumentoidaan ja jokaisesta muutoksesta syntyy järjestelmään laatutalenne. Laatujärjestelmän mukaisen muutostenhallintapolitiikan tuloksena toimenpiteet on suoritettu vaatimusten mukaisesti, sekä tuotteet ja palvelut täyttävät edelleen niille asetetut spesifikaatiot.<sup>17</sup>

### 3.3 Karakterisointi

Karakterisointi on menettely jota käytetään jos prosessi tai testimenetelmä ei ole tarpeeksi tunnettu, jotta sitä voidaan toistettavasti kontrolloida. Tällaiset prosessit täytyy karakterisoida ja optimoida dokumentoitujen tutkimusten avulla. Karakterisoinnissa luodun prosessin toimivuus todennetaan validoinnissa. Karakterisointiraporttien täytyy olla hyväksytyjä ennen validointiprosessin aloittamista.<sup>18</sup>

Karakterisointitutkimukset voidaan tehdä ilman etukäteen hyväksytyä suunnitelmaa, koska karakterisointi ei vaadi ennalta asetettujen hyväksymiskriteerien täyttymistä. Suunnitelman tekeminen on kuitenkin suositeltavaa karakterisoinnin kattavuuden varmistamiseksi.<sup>18</sup>

### 3.4 Verifiointi ja prosessi-validointi

Verifiointi on tarkastukseen ja testaukseen perustuva varmistuminen siitä, että määritellyt vaatimukset on täytetty, kun taas validoinnilla tarkoitetaan tutkimukseen ja objektiiviseen näyttöön perustuvaa varmistumista siitä, että tiettyä käyttöä koskevat vaatimukset pystytään toistettavasti täyttämään. Käytännössä sellaiset tuotteiden valmistukseen liittyvät prosessit, joita ei ole mahdollista 100% tarkkuudella verifioida,

validoidaan, jotta varmistetaan siitä, että tuote täyttää sille asetetut vaatimukset toistettavasti.<sup>18</sup>

Validointi suoritetaan aina noudattamalla etukäteen hyväksyttyä validointisuunnitelmaa, joka sisältää hyväksymiskriteerit. Validoinnin tarve voi syntyä uuden tuotteen tai prosessin kehittämisestä tai muutoksesta jo olemassa olevaan prosessiin. Prosessivalidoinnissa tulee huomioida prosessin kaikkien osa-alueiden (materiaalien, laitteiden, ympäristön, ohjelmiston ja henkilöstön) erillistarpeet prosessikokonaisuuden toimivuuden todentamiseksi.<sup>18</sup>

Wallacilla validointi-, verifiointi- ja karakterisointi -suunnitelmat sekä vastaavat raportit käsitellään ja hyväksytään validoinnin ohjausryhmässä (VST). Wallacin käytäntöjen mukaan VST kokoontuu viikoittain ja edustettuina tulee olla laadun, tuotannon, tuotekehityksen ja validoinnin asiantuntijat. Validointisuunnitelma perustuu karakterisoinnissa toimiviksi osoitettuihin parametreihin ja niille asetettuihin toleransseihin.<sup>18</sup>

Ennen prosessivalidointia validointivastaavan on varmistettava, että käytettävät testimenetelmät ja -ohjelmistot ovat validoituja ja kaikki laitteistot on kvalifioitu sekä laitteistojen kalibroinnit ovat voimassa. Prosessivalidointi suoritetaan tuotantotiloissa siellä käytössäolevalla tuotannon laitteistolla. Validointisuunnitelma koulutetaan prosessin kanssa työskenteleville tuotannon työntekijöille, jotka suorittavat validoinnin testiajot<sup>18</sup>

### 3.5 Riskiarvio

Tuotantoprosesseissa ja laitteiden käytössä on olemassa riskejä, jotka voivat aiheuttaa merkittäviä tuottavuus-, tuotettavuus- tai kustannusongelmia. Tuotannollisten prosessien rieskienarvioinnilla etsitään vastauksia kysymykseen, "Mikä voi mennä vikaan?". Toimenpiteillä varmistetaan, että eri tuotteisiin liittyvät tuotantoprosessien mahdolliset riskit ovat huomioituna sekä niiden vaikutus pyritään minimoimaan. Jokaisella tuotantoprosessilla on omat ominaispiirteensä, mutta tuotannollisten riskien arvioinnin lähtökohdat ovat kokonaisriskin kannalta tuotettavuus, tuottavuus, taloudellisuus ja spesifikaatioiden mukaisuus. Riskiarvion tieto saadaan tyypillisesti aiemmasta datasta, faktoista, kokemuksista ja teoreettisista analyyseistä.<sup>19</sup>

### 3.6 Quality by Design

Quality by Design (QbD) on 2000-luvulla lääkkeiden ja analyttisten menetelmien kehityksessä käyttöön otettu lähestymistapa. Aikaisemmin tuotekehityksen ja tuotannon laadunvarmistus perustuivat valmistetun tuotteen laaduntarkkailuun ja testaukseen jolloin mahdolliset ongelmat havaittiin vasta valmiista tuotteesta. QbD:n idea on rakentaa laatu tuotteeseen jo tuotteen kehitysvaiheessa suunnittelemalla tuotteen valmistusprosessi tukemaan valmiin tuotteen suorituskykyä. QbD perustuu tuotantoprosessin jatkuvaan kehittämiseen seuraamalla ja keräämällä tietoa prosessin parametreista, materiaaliominaisuuksista ja kriittisistä laatuominaisuuksista. Ymmärtämällä näiden tekijöiden vaikutukset on mahdollista kehittää prosessia eteenpäin sekä viedä muutosprosessit läpi hallitusti riskejä arvioiden.<sup>34</sup>

Wallacilla tuotantoprosessit mukailevat QbD periaatteita, mutta prosessien validointimenettelyt seuraavat yleisesti perinteisen tuotekehityksen malleja, joissa tuotteen valmistusprosessi on ennalta määrätty, eikä prosessi ole helposti muokattavissa ilman uusia testauksia ja validointeja. Prosessin painopiste on sen optimoinnissa ja toistettavuudessa. QbD lähestymistapaa hyödyntämällä valmistusprosessia olisi mahdollista säätää ilman ylimääräistä validointia niin kutsutun suunnitteluavaruuden (design space) sisällä, joka koostuu prosessin tunnetuista kriittisistä prosessiparametreista ja laatutekijöistä. Sen tarkoituksena on rajata tuotekehityksen muuttujat ja niiden yhteisvaikutukset joustavasti säilyttäen lopputuotteen laadun hyvänä. Prosessiparametrien muuttumisesta huolimatta, valmistusprosessin kehitysvaiheessa todetut laatuun vaikuttavat tekijät pysyvät samoina niin kauan kun parametrit pysyvät suunnitteluavaruuden rajojen sisällä. QbD lähestymistavalla voitaisiin ainakin osittain korvata työläästä validointiprosessit ja säilyttää silti tuotteille kriittinen laatutaso korkeana.<sup>33</sup>

## 4 MITTAKAAVAN NOSTAMINEN

Kun prosessin tuottokapasiteetti ei enää riitä vastaamaan tuotannollista tarvetta, tulee mittakaavaa nostaa. Tavoitteena mittakaavan muuttamisessa suuremmaksi on tunnistaa kriittisesti vaikuttavat tekijät ja kehittää prosessia niin, että sillä voidaan edelleen tuottaa spesifikaatioiden mukaista tuotetta suuremmalla tuotannollisella kapasiteetilla. Oleellista on havaita kuinka muutokset mittakaavassa vaikuttavat prosessin fysikaalisiin ominaisuuksiin. On löydettävä siis prosessille sellaiset parametrit, että fysikaalinen samankaltaisuus toteutuu. Esimerkiksi huomattavasti suurempien liuosten valmistuksessa tulee huomioida, ettei sekoittamista voida suorittaa samoilla parametreilla tai sekoittimilla kuin pienemmässä mittakaavassa.

Fysikaalista samankaltaisuutta voidaan tarkastella eri näkökulmista riippuen siitä, millaiset ominaisuudet määräävät tuotteelle oikeat spesifikaatiot. Tarkastelun kohteena voivat olla geometriset, kinemaattiset ja dynaamiset ominaisuudet sekä lämpötiloihin tai kemialliseen reaktioon kuten liukenemiseen liittyvät tekijät.<sup>20</sup>

Tässä opinnäytetyössä mittakaavan nostamisen kohteena oli tuotantoprosessi, jossa lähtömittakaavaa voidaan pitää jo valmiiksi suurena. Tuotantovolyymi siis vaihtelee tuotantolaitteiston pysyessä samassa mittakaavassa. Tällaisessa panostyyppisessä prosessissa laitteistoon liitettävien astioiden ja liuosten volyyymi vaihtelee, jolloin suurimmat kriittiset tekijät mittakaavan nostamisessa ovat suuremmat liuostilavuudet sekä suuremmasta volyymista johtuva pidempi tuotantoprosessin läpimenoaika. Pidentynyt läpimenoaika vaikuttaa prosessissa käytettävien liuosten säilymiseen homogeenisena, joka on lopputuotteen spesifikaatioiden kannalta kriittinen tekijä.

## 5 TUOTANTOPROSESSI JA LAITETEKNIikka

Tuotantoprosessissa mikrotiiterilevyjä pinnoitetaan eli koutataan vasta-aineella. Levyn kuoppien pinta, joihin vasta-aine kiinnittyy, toimii immunomäärityksessä alustana tapahtuvalle reaktiolle.<sup>21</sup> Esimerkkinä mikrotiiterilevystä on esitetty kuvassa 6. Mikrotiiterilevy muodostuu levykehiksestä, johon on kiinnitetty kahdeksan levystripsiä. Jokainen levystripsi on irroitettavissa levystä sekä yhdistettävissä muihin saman mallin levyihin.



Kuva 6. Mikrotiiterilevy on 96- kuoppainen levy, joka on rakennettu levykehiksestä ja kahdeksasta erillisistä 12 kuoppiasesta stripsistä.

Tuotantotyyppi levyvalmistuksessa on erätuotantoa, eli valmistetaan tuotekohtaisia levyeriä.<sup>22</sup> Eri tuotteiden valmistusprosessit ovat periaatteeltaan samankaltaisia, mutta tuotekohtaiset liuokset ja prosessiparametrit vaihtelevat. Tuotantoprosessi jakaantuu liuosten valmistukseen, kouttaus-, pesu - ja kyllästys - sekä loppuaspiointi- ja pakkausvaiheisiin.<sup>21</sup>

Levyjä valmistetaan kahdessa eri tuotantotilassa (KOU- puoli ja OYS1 puoli), joiden laitetekniikka poikkeaa toisistaan prosessin ollessa kuitenkin sama. Kaikkien tuotantoerien liuokset valmistetaan tuotannon yhteyteen sijoitetussa



liuosvalmistustilassa. Vanhemmassa tuotantotilassa (OYS1) jokaista prosessivaihetta varten on omat linjansa, joihin on asennettu kaikki yhteen prosessivaiheeseen tarvittavat komponentit. Laitteissa prosessoitavien levyjen syöttö ja poisto linjalta suoritetaan manuaalisesti.

Tässä opinnäytetyössä tuotantoa optimoitiin myöhemmin käyttöön otetussa tilassa, jossa on kaksi toisiaan vastaavaa linjaa (KOU3 ja KOU4). Molemmilla linjoilla on mahdollista suorittaa levyvalmistuksen kolme ensimmäistä prosessivaihetta. Kaikkia linjoilla tapahtuvia toimintoja ohjataan käyttöliittymästä, josta kussakin vaiheessa on mahdollisuus valita käytettävät toiminnot erikseen. Linjat ovat osa automaatiojärjestelmää, jossa levyt kulkevat järjestelmän läpi levypaaleilla. Molemmilla linjoilla on oma siirto- ja käsittelyjärjestelmä, jonka kautta levyt siirretään samalle pakkauslaitteelle. Automatisoidumpi käsittely mahdollistaa mittakaavaltaan suuremman ja tehokkaaman tuotannon. Tuotantoprosessi on havainnollistettu vuokaaviossa liitteessä 1.<sup>23</sup>

## 5.1 Vasta-aineannostelu

Ensimmäisessä prosessivaiheessa vasta-aineliuos annostellaan levyille, jolloin vasta-aine kiinnittyy levyn kuoppiin. Levyjen pinnoittaminen eli kouttaaminen vasta-aineella on kriittinen prosessivaihe, koska levyjen toiminta on immunomäärityksen kannalta olennaista. Koutatun levyn tulee sisältää riittävä määrä vasta-ainetta jokaisessa kuopassa, annostelun tulee olla tasainen eikä levyssä saa esiintyä häiritseviä tekijöitä.

Linjan valmistelutöiden jälkeen levyt siirretään levypaaleissa levynsyöttöyksikköön, josta ne siirtyvät kamparadalle. Kamparadan tehtävänä on kuljettaa levyt prosessin läpi. Ennen annostelua suoritetaan staattisen sähkön poisto, levyjen orientaation tarkastus ja partikkelinpoisto. Mustesuihkutulostimilla levyihin merkitään viivakoodi sekä eräkohtaiset tuotetiedot. Tarkkuusannostelu tapahtuu annostelupäähän liitettujen letkujen ja ja pumpputorniin asennettujen kiertomäntäpumppujen avulla.<sup>21</sup>

Pumpuissa on laskurit, jotka säätelevät pumppujen nopeutta ja kierrosmäärää annostelun yhteydessä. Annostelun toistettavuus varmistetaan pumppujen säännöllisellä kalibroinnilla. Pumput pumpaavat tuotteelle määritellyn tilavuuden liuosta letkuja pitkin annostelupään pilleihin, joista liuos siirtyy levyn kuoppiin.<sup>24</sup>

Kouttausvaiheen annostelutilavuutta kontrolloidaan ajon aikana punnituslevyillä erän alussa, puolivälissä ja lopussa riippuen erän koosta. Kuoppien nestepinnan korkeus tarkastetaan jokaisesta levystä ultraäänilukijalla. Kouttausvaiheen päätteeksi levyt siirtyvät kamparadalta takaisin levypaletteille, jotka siirretään inkubointikärryihin. Inkubointivaiheessa vasta-aineen kiinnittymisreaktion levyn kuoppiin annetaan tapahtua kontrolloiduissa olosuhteissa.

## 5.2 Pesu-kyllästysvaihe

Tuotekohtaisen kouttausinkubointiajan täytyttyä prosessia jatketaan pesu-kyllästysvaiheella, jossa vuorotellaan pesu- ja kyllästysliuosten dispensoinnin ja aspiroinnin välillä. Dispensoinnin tarkoituksena on annostella riittävä määrä pesu- tai kyllästysliuosta levyn kuoppiin. Aspiroinnissa tavoitteena on minimoida aikaisemmin annostellun kouttaus- ja pesuliuoksen määrä kuopassa ennen uuden liuoksen dispensointia irrottamatta kuopan pintaan kouttaantunutta kerrosta. Aspirointien jäännöskosteudelle ja dispensointien annostelutilavuuksille on validoitu rajat, joita kontrolloidaan punnituslevyillä.

Levyjen syöttö ja kulkeminen linjalla toimii samalla periaatteella kuin kouttausvaiheessa, mutta nyt linjaan on kytketty aspirointi- ja dispensointipäät. Tuotteesta riippuen pesuliuoksia annostellaan levyille kahta tai kolmea eri tyyppiä ja viimeisessä vaiheessa suoritetaan yksi kyllästysliuosannostelu. Liuosten annostelu tapahtuu paljepumppuilla, jotka pumppaavat liuosta dispensointipäiden pillien kautta levyjen kuoppiin. Aspirointi suoritetaan pumppaamalla liuos levyn kuopista aspirointipäillä, joiden imupillien kautta liuos siirtyy jätesäiliöön. Kyllästysliuoksen annostelun jälkeen levyt siirretään jälleen levypaletteissa inkubointikärryihin.

## 5.3 Loppuaspirointi ja pakkaus

Kyllästysinkuboinnin päätyttyä viimeisessä prosessivaiheessa kyllästysliuos aspiroidaan pois. Loppuaspiroinnille on määritelty tuotekohtainen jäännöskosteus ja aspiroinnin imupaine säädetään erillisestä järjestelmästä. Jäännöskosteutta kontrolloidaan punnituslevyillä, joille on määritelty hyväksymisrajat. Punnituslevyistä tarkastetaan visuaalisesti myös aspiroinnin tasaisuus.<sup>23</sup>

Aspirointivaiheen päätteeksi levyt kulkeutuvat pakkauslinjalle levyjen automaattisen siirto- ja kuljetuslinjan avulla. Pakkausvaihe alkaa pohjamateriaalin muovauksella syvävetoyksikössä. Muovattuun pakkauksen alapohjaan asetetaan kuivapussi erillisestä kuivapussien syöttöyksiköstä. Tämän jälkeen loppuaspirointivaiheen läpikäyneet levyt asetetaan muovattuihin levyrasioihin. Pakkauksen päällinen muodostuu laminaatista, johon tulostetaan tuotekohtainen etikettitunniste.

Etiketöinnin jälkeen laminaatti saumataan levyrasiaan ja pakkausrasiat leikataan oikean kokoisiksi. Pakkauslinjalta valmistuneet levyt tarkastetaan visuaalisesti, ja ajon aikana kerätään myös laadunvalvontaan menevät näytelevyt. Pakkausvaiheen jälkeen levyt siirretään komponenttivarastoon odottamaan kitteihin pakkausta. Jokaiselle valmistuvalle erälle tehdään tuotekohtaiset laadunvalvontatestaukset ennen tuotteiden myyntiin hyväksymistä.<sup>21</sup>

## 6 LAADUNVALVONTA

Levyvalmistuksessa valmistetut tuotteet käyvät läpi analyttikohtaisen laadunvalvonnan. Levyjen laadunvalvonta tehdään eräohjeen mukaan AutoDELFIÄ määrityslaitteella. Anti-hTSH tuotteen normaaliin laadunvalvontaan kuuluvat homogeenisuus-, tausta- ja signaalitaso-, sekä kokoomalevytesti.<sup>27</sup>

Homogeenisuustesti on levyerää mittaava signaalitasotesti. Testissä mitataan mikrotitterilevyjen ja kuoppien välistä tasalaatuisuutta vertaamalla levyjen sisäistä ja välistä signaalitason suhteellista keskihajontaa eli CV-prosenttia.<sup>28</sup> Levyjen sisäiselle ja väliselle keskihajonnalle on Wallacilla määritetty tietyt rajat, joiden mukaan määritetään onko kyseinen levyerä homogeeninen. Tuotantoerän homogeenisuuden testausta varten erästä otetaan 8 levyä tasaisesti läpi erän, mukaanlukien erän ensimmäinen ja viimeinen hyväksytty levy.<sup>27</sup>

Tausta- ja signaalitasotestillä testataan levyn fluoresenssi-signaalin riittävää erottumista taustafluoresenssista eli tuotteen signaali-tausta-suhdetta. Tätä testiä varten tarvitaan yksi levy satunaisesta kohdasta erää.

Kokoomalevytestin tarkoitus on mitata levyerän homogeenisuutta, mutta testiin käytetään vain neljää tuotantoerän levyä; 1 alusta, 2 keskeltä ja 1 lopusta. Mikrotitterilevyt koostuvat levykehystä sekä irroitettavista levystripseistä jotka muodostuva erillisistä kuopista. Kokoomalevytestissä levyistä kootaan kaksi kokoomalevyä poimimalla jokaisesta levystä kaksi levystripsiä samalle levykehykselle. Näin on mahdollista saada kuoppien välisen tasalaatuisuuden lisäksi tietoa myös levyjen välisestä vaihtelusta.<sup>27</sup>

Normaalin laadunvalvonnan lisäksi kuoppalevyille voidaan tehdä erikoistapauksissa lisälaadunvalvontaa. Näin toimitaan esimerkiksi kun tuotannon aikana on tapahtunut poikkeamia. Myös testierille on yleisenä käytäntönä tehdä lisälaadunvalvontatestejä ja normaalia laadunvalvontaa laajempia testejä, kuten kombinaatiotesti ja kiihdytetty säilyvyystesti. Kombinaatiotesti mittaa koko määrityskitin toimivuutta, testaamalla komponenttien yhteensopivuutta ja niiden toimivuutta spesifikaatioiden mukaisesti oikeilla näytteillä.

## 6.1 Kiihdytetty säilyvyys

Jokaiselle tuotteelle on määritelty säilyvyysaika ja olosuhteet, joissa valmistaja takaa tuotteen täyttävän spesifikaatioiden, eli tuotteelle asetettujen vaatimustenmukaisen toimivuuden. Koska tuotteen säilyvyyden tutkiminen reaaliajassa testattavien prosessimuutosten kohdalla on erittäin hidas projekti, on säilyvyys mahdollista testata myös kiihdytettyjen olosuhteiden avulla. Menetelmässä kiihdytettyjä olosuhteita verrataan normaaleihin säilytysolosuhteisiin. Normaaleilla olosuhteilla tarkoitetaan tuotteelle määriteltyjä säilytysolosuhteita, jossa tuote säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.<sup>35</sup>

Kun sovelletaan kiihdytettyjä säilytysolosuhteita, on tehtävä tiettyjä kemiallisia oletuksia, jotta matemaattinen malli on mahdollista muodostaa. Oletetaan, että hajoaminen on kemiallinen reaktio ja mitä korkeammaksi lämpötila nousee, sitä nopeammin hajoaminen tapahtuu. Kun muodostetaan yhtälöä biomolekyylien hajoamisesta, voidaan olettaa, että biomolekyylien hajoaminen noudattaa ensimmäisen asteen reaktiokinetiikkaa, joka on esitetty kaavassa 1.

$$\ln C = kt + b, \text{ missä}$$

C = konsentraatio

k = nopeusvakio

t = aika

b = vakio

Kaava 1. Biomolekyylien hajoamisen laskukaava

Puoliintumisaika ei ole konsentraatiosta riippuvainen, joten kiihdytetty säilyvyystutkimus voidaan tehdä käyttäen yhtä konsentraatiota. Puoliintumisajan laskeminen on esitetty kaavassa 2.

$$k = \ln 2 / t_{1/2}, \text{ missä}$$

$t_{1/2}$  = puoliintumisaika.

Kaava 2. Puoliintumisajan laskukaava

Biomolekyylien hajoamisnopeus noudattaa Arrheniuksen yhtälöä, joka on esitetty kaavassa 3

$$k = se^{\frac{-E}{RT}}, \text{ missä}$$

k = nopeusvakio

s = frekvenssitekijä

E = aktivaatioenergia

R = kaasuvakio (8,314 JK<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)

T = absoluuttinen lämpötila K (273.15 K + lämpötila)

Kaava 3. Arrheniuksen yhtälö

Käytettäessä Arrheniuksen yhtälöä on kuitenkin edellytettävä, että biomolekyylien hajoamisreaktio noudattaa ensimmäisen asteen reaktiokinetiikkaa. Tämä on testattavissa mittaamalla biologista aktiivisuutta ajan funktiona, jolloin voidaan todeta, että piirretty kuvaaja on lineaarinen. Arrheniuksen yhtälöä voidaan käyttää, kun halutaan laskea millainen aika kiihdytetyissä olosuhteissa vastaa yhdisteen normaalia säilytyslämpötilaa. Yleisesti biomolekyylien hajoamiselle on käytössä aktivaatioenergian approksimaatio 83 736 J/mol. Kyseisten tietojen avulla tietyille lämpötiloille on laskettu valmiiksi vastaavuusaikoja ja kertoimia, joilla mahdollista arvioida tarvittava säilytysaika kiihdytetyssä lämpötilassa.<sup>35</sup>

Esimerkiksi tässä opinnäytetyössä tutkittavan tuotteen normaali säilytyslämpötila on +4 °C (+2- +8 °C) ja säilyvyys 720 vuorokautta. Kiihdytetty säilyvyyslämpötila on 35 °C, jolloin aktivaatioenergian 83 736 J/mol vastaavuuskerroin on 39. Säilytysajaksi saadaan tällöin kaavalla 4 laskettuna

$$\frac{730 \text{ vrk}}{39} = 19 \text{ vrk.}$$

Kaava 4. Kiihdytetyn säilyvyyden säilytysajan laskukaava

Pyöritys tehdään ylöspäin kokonaiseksi vuorokaudeksi. Kiihdytetyn säilyvyystutkimuksen hyväksyntärajoina käytetään tuotteen loppulaadunvalvontatestien hyväksymisrajoja.<sup>35</sup>

## 7 TUOTANNON OPTIMOINNIN MENETTELYT KÄYTÄNNÖSSÄ

Käytännön osuus koostui kahden eri tuotteen tuotantoprosessin optimoinnista. Tuotteet ovat molemmat Anti-hTSH määrittämiseen käytettäviä mikrotiiterilevyjä, mutta poikkeavat toisistaan kuitenkin määrittämiseen käytettävän laitteen osalta. Opinnäytetyön selkeyttämisen vuoksi tuotteet erotetaan toisistaan viittaamalla niihin niiden määrittämlaitteen mukaisesti GSP-levyinä (GSP®-määrittäml) ja AutoDELFIA-levyinä (AutoDELFIA®-määrittäml).

### 7.1 Optimointi osa 1: GSP – määrittämliseen käytettävä Anti-hTSH mikrotiiterilevy

Tuotantoprosessien optimoinnin ensimmäinen osuus liittyi Anti-hTSH mikrotiiterilevytuotteen eräkoon kasvattamiseen nykyisestä 5000 levystä 8500 levyyn. Kyseinen levy on käytössä GSP Neonatal hTSH -kriteissä, joiden kysyntä on nousussa. Ennen varsinaista eräkoon kasvatuksen aloittamista verifiointierällä oli määrittämlävä lopputuotteen kannalta prosessin kriittiset tekijät ja kuinka mittakaavan nosto vaikuttaa näihin. Levyjen valmistusprosessin merkittävimmät muuttuvat parametrit olivat suuremmat liuostilavuudet sekä pidentynyt tuotantosarjan läpimenoaika.

Karakterisoinnin suunnittelu aloitettiin kartoittamalla vanhojen eräkoon kasvatuksen ja validointien perusteella, mitä tulisi testata ja missä oli mahdollista vedota olemassa olevaan dokumentaatioon. Karakterisoinnin mallina käytettiin Anti-rabbit IgG mikrotiiterilevytuotteelle tehtyä eräkoon kasvatuksista, sillä sen valmistusprosessi ja siinä käytettävät liuokset ovat hyvin samankaltaisia Anti-hTSH mikrotiiterilevytuotteen kanssa.

Valmistusprosessiin vaadittava vaaka, propellisekoittimet sekä pesu- ja kyllästysliuosastiat oli jo karakterisoitu Anti-rabbit IgG mikrotiiterilevytuotteen eräkoon kasvatuksen yhteydessä 9000 levyn vaatimien liuosmäärien valmistamiseen. Aikaisempaan karakterisointiin perustuen astioiden ja sekoittimien todettiin soveltuvan myös Anti-hTSH mikrotiiterilevytuotteen liuosten valmistukseen kun eräkkö nostetaan 8500 levyyn, eikä välineide uudelleen karakterisointia nähty tarpeelliseksi.



Anti-rabbit ja Anti-hTSH mikrotiitterilevytuotteiden valmistuksessa käytettävät kouttaus-, pesu-, ja kyllästysliuokset ovat myös hyvin samankaltaisia keskenään, osa jopa identtisiä. Kouttausliuokset eroavat toisistaan liuosten vasta-aineiden ja siihen lisättävän väriainekonsentraatin osalta. Kouttausliuokset sisältävät suoloja (Natriumdivetyfosfaatti ja di-Na-vetyfosfaatti) sekä proteiineja (vasta-aineet), jolloin niiden koostumuksen voidaan sanoa sekoituksen näkökulmasta olevan lähes samankaltainen. Myös kyllästysliuosten välillä on eroavaisuutta, mutta pitoisuudet ovat näissä niin pieniä, ettei niiden käyttäytyminen mekaanisen käsittelyn näkökulmasta juuri poikkea toisistaan. Näihin tietoihin ja Anti-rabbit mikrotiitterilevyn eräkoonkasvatuksen yhteydessä tehtyyn aikaisempaan liuossekoituskarakterisointiin vedoten todettiin, ettei liuosten valmistusvaihetta suuremilla liuostilavuuksilla ollut tarvetta karakterisoida uudelleen.

Mittakaavan kasvaessa prosessin läpimenoaika linjalla pidentyy ja näin ollen kouttausliuos seisoo linjalla pidemmän ajan. Anti-hTSH vasta-aineen säilyminen stabiilina ja liuoksen pysyminen homogeenisena pidentyneessä prosesissa olivat kouttausliuoksen kohdalla tuntemattomia tekijöitä, joten annosteluvaiheen pidentymisen vaikutus tuotteeseen oli selvitettävä. Ennen testausta karakterisoinnista luotiin suunnitelma. Karakterisointisuunnitelma ja tulevat toimenpiteet hyväksyttiin validoinnin ohjausryhmässä.

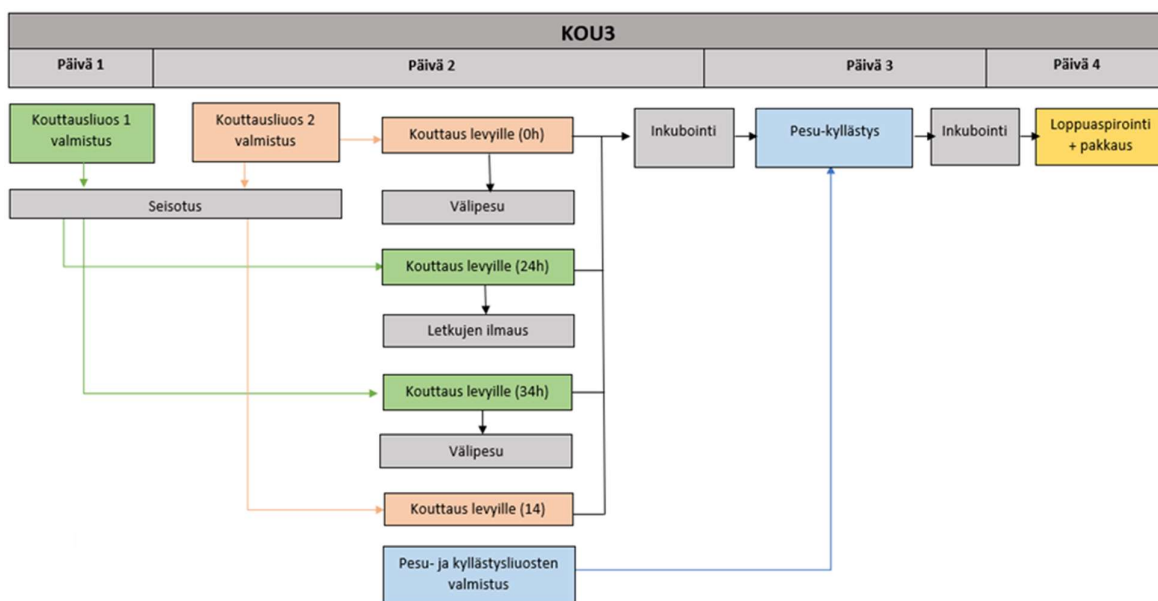
#### 7.1.1 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus

Annostelunopeus 100 µl annostelutilavuudella KOU4 -linjalla on noin 820 levyä tunnissa ja KOU3 -linjalla 743 levyä tunnissa. Ero läpimenoajoissa johtuu kiertomäntäpumppujen eri lukumääristä pumpputorneissa. Molemmilla linjoilla 8500 levyn kouttaus on mahdollista tehdä kahdessa vuorossa. Tuotannon tehokkuuden maksimoimiseksi käytännössä levyjä koutataan tällä hetkellä vain KOU4 -linjalla jolloin KOU3 -linja toimii varavaihtoehtona Anti-hTSH mikrotiitterilevytuotteen valmistuksessa.

Kouttausliuoksen säilyvyyttä testattiin valmistamalla normaalia pienempi testierä. Tuotannon pidempää läpimenoaikaä jäljiteltiin seisottamalla kouttausliuoksia huoneenlämmössä ennen prosessin aloittamista. Seisotusajoiksi valittiin 14, 24 ja 34 tuntia. Tuotannon läpimenoajan minimivaatimus on 14 tuntia, jolloin 8500 levyn erä koko on mahdollista valmistaa kahdessa vuorossa. Aikaisemmin tehdyssä Anti-Rabbit IgG mikrotiitterilevytuotteen eräkoon kasvatuksessa säilyvyyttä tutkittiin 24 tuntiin asti. Mikäli tämä säilyvyys saavutettaisiin myös Anti-hTSH mikrotiitterilevyn kohdalla saataisiin

eräohjeisiin yhteneväisyyttä. Tuotannollisia ongelmatilanteita varten valittiin mukaan myös huomattavan pitkä seisotusaika 34 tuntia. Tämän perusteella haluttiin tietoa siitä, miten mahdolliset tuotantoseisokit vaikuttavat levyjen laatuun.

Testierä valmistettiin kahdesta eri Anti-hTSH kouttausliuoksesta A ja B, jotka valmistettiin peräkkäisinä päivinä. Näin saatiin toteutettua pitkät seisotusajat sekä suoritettua testierän valmistaminen häiritsemättä mahdollisimman vähän muuta tuotantoa. Kouttausliuoksen A valmistuksessa hyödynnettiin Anti-hTSH tuotantoerää, josta kouttausliuosta jätettiin seisomaan 200 levyä vastaava liuosmäärä. Tästä liuoksesta valmistettiin 24 ja 34 tunnin aikapisteiden testilevyt. Liuoksen B nollapiste-levyt, joihin muita aikapisteitä verrattiin, valmistettiin tuotantoerän yhteydessä. Kouttausliuos B valmistettiin testierän valmistuspäivän aamuna ja tästä liuoksesta valmistettiin 14 tunnin aikapisteen testilevyt. Mukaan koutattiin myös liuoksen B nollapiste. Testierän valmistus on havainnollistettu kuvassa 7.



Kuva 7. Karakterisointierän valmistus säilyvyystestausta varten.

Testierän kouttaus-, pesu-, kyllästys- ja pakkausvaiheet suoritettiin KOU3-linjalla. Jokaisen aikapisteen kouttauksessa annostelutilavuudet tarkastettiin punnituslevyillä annosteluiden alussa ja lopussa. Kouttausvaiheessa suoritettiin pumpputornienvälipesu kouttausliuosten vaihtojen välillä. Käytettäessä samaa liuosta, pumpputornienvälipesu suoritettiin ajamalla letkuissa seisonutta liuosta hylkyyn noin 500 ml ennen kouttausta.

Pesu- ja kyllästysvaiheet suoritettiin kaikille levyille seuraavana päivänä niin, että kouttausinkubointiaika oli vaatimusten mukainen. Tässä vaiheessa prosessia kouttausliuoksilla A ja B prosessoidut levyt yhdistyivät yhdeksi testieräksi, ja levyt prosessoitiin loppuun samoilla pesu- ja kyllästysliuoksilla. Annostelutilavuudet tarkastettiin punnituslevyillä ajon alussa ja lopussa. Mikäli eri aika-pisteissä koutattuja levyjä prosessoitiin linjalla samanaikaisesti, pidettiin levyt erillään syöttämällä levyjen väliin merkattuja punnituslevyjä. Neljäntenä päivänä suoritettiin loppuaspirointi ja pakkaus niin, että kyllästysinkubointiaika oli vaatimusten mukainen. Loppuaspiroinnin jäännöskosteus tarkastettiin punnituslevyillä.

Testierän levyille tehtiin nimikkeen eräohjeen mukainen laadunvalvonta eli levyn TSH-homogeenisuustesti, kokoomalevytesti sekä NEO-TSH- signaalitasotesti. Lisäksi levyille tehtiin kiihdytetty säilyvyystestaus homogeenisuuden sekä tausta- ja signaalitason osalta. Kiihdytettävät levyt säilytettiin lämpökaapissa 19 vuorokautta 35 °C lämpötilassa. Laadunvalvonta- ja säilyvyystestauksissa 0, 14 ja 24 tunnin aikapisteet olivat oma kokonaisuutensa. Pisimmän seisotusajan eli 34 tunnin aikapiste pidettiin testeissä erillisenä, sillä oli odotettavissa, että huomattavan pitkän kouttausliuoksen seisotusajan jälkeen tulokset poikkeavat merkittävästi verrattaessa muihin aikapisteisiin. Tähän varauduttiin valmiiksi, jotta tulosten tulkinta tulisi olemaan helpompaa. Testauksissa levyt jaoteltiin kahteen eri laitteeseen. Vaikka kyseessä oli GSP-määritykselle kehitetty tuote, tehtiin kaikki mittaukset käyttäen AutoDELFIÄ - laitetta nimikkeen eräohjeen mukaisen laadunvalvonnan mukaisesti.

### 7.1.2 Liuosylimäärien pienentäminen

Tuotannon pesu- ja kyllästysliuosylimääriä pyritään optimoimaan tuotannon kulujen minimoimiseksi ja fosfaattipitoisen jätekuorman pienentämiseksi. Liuosylimäärien pienentämisen konkreettinen testaus suoritetaan vasta verifiointierän yhteydessä, mutta liuoslaskut ja pienentämisen teoreettiset mahdollisuudet kartoitettiin jo karakterisoinnin suunnittelun yhteydessä.<sup>25</sup>

Eräkoon kasvatuksen myötä pesu- ja kyllästysliuoksien astiat vaihtuvat suurempiin astioihin, joiden venttiili on noin 4 cm astian alareunasta. Astioiden hukkatilavuudeksi on laskettu tämän perusteella noin 13 litraa, mutta mittaamalla havaittiin kuitenkin astioiden hukkatilavuuden olevan käytännössä lähempänä 20 litraa. Pesuliuoksen käyttömäärään lisätään tällä hetkellä 23 litran eräkohtainen liuosylimäärä, jonka lisäksi lisätään myös

levykohtainen ylimäärä: 1,24 ml/levy. Käytetty levykohtainen liosylimäärä on suurin syy, miksi eräkoon kasvatus kasvattaa myös tuotannossa syntyvän liuosylimäärän määrää.<sup>26</sup>

Liuosylimäärää pienentäessä on otettava huomioon tuotantoerään kuluvan liuoksen lisäksi erän alkupesuissa ja vikatilanteissa kuluvan liuoksen määrä.

### Pesuliuos

Levyvalmistuksen pesuliuostilavuudet lasketaan kaavan 5 mukaisesti, johon on otettu mukaan levykohtainen ja eräkohtainen liuosylimäärä.<sup>27</sup> Eri eräkokojen pesuliuoksen liuostilavuudet on laskettu taulukkoon 1.

$$\text{valmistettava liuostilavuus} = \text{levymäärä}(kpl) \times 0.031 l + 23 l$$

Kaava 5. Pesuliuoksen valmistuksen laskukaava.<sup>27</sup>

Taulukko 1. Anti-hTSH eräkokokohtaiset pesuliuostilavuudet

Erä koko (kpl)	Pesuliuos tilavuus (l)
5000	178
7000	240
8500	287

Kerrottaessa levymäärä kuoppalevyn kuoppien määrällä ja annostelutilavuudella saadaan todellinen käyttömäärä.<sup>26</sup> Taulukkoon 2 on kaavaa 2 käyttäen laskettu liuoksen todellinen käyttömäärä eri eräkoissa annostelutilavuuksittain. Todellinen käyttömäärä on sitten vähennetty valmistetusta määrästä, jota kautta on saatu tuotannosta ylijäävän liuoksen määrä.

$$\text{todellinen käyttömäärä} = \text{levymäärä}(kpl) \times 96 \times \text{annostelutilavuus}(l)$$

Kaava 6. Todellisen käyttömäärän laskukaava

Taulukko 2. Pesuliuoksen käyttömäärä ja liuosylimäärä.

Annostelutilavuus (µl)	Todellinen käyttömäärä (l)		Liuosylimäärä (l)	
	5000 levyä	8500 levyä	5000 levyä	8500 levyä
290	140	237	38	50
300	144	245	34	42
310	149	253	29	34

Minimi liuosylimäärän määräksi mitattiin 20 litraa.<sup>26</sup> Laskujen perusteella pesuliuoksen eräkohtainen 23:n litran liuosylimäärä voidaan 8500 levyn eräkoossa laskea 15:sta litraan, koska erä- ja levykohtaisen liuoksen yhteisylimäärä on 34-50 litraa, mikä on reilusti yli vaadittavan 20 litran. Taulukkoon 3 on laskettu liuosylimäärät kun eräkohtainen ylimäärä lasketaan 23:sta 15 litraan.

Taulukko 3. Pesuliuoksen liuosylimäärä pienemmällä eräkohtaisella ylimäärällä.

Annostelutilavuus (µl)	Liuosmäärät, kun 23 ylimäärä lasketaan 15 litraan	
	5000 levyä	8500 levyä
290	30	41
300	26	34
310	21	26

5000:n levyn eräkoolle olisi myös teoriassa mahdollista vähentää eräkohtainen liuosylimäärä 15:sta litraan. Kokonaisliuosylimäärä jäisi tällöin kuitenkin niin lähelle minimivaatimusta, että riski liuoksen kesken loppumisesta olisi liian suuri. Tuotannossa sattuvat vikatilanteet kuluttavat liuoksia arvaamattomia määriä, mihin ei voida varautua muuten kuin riittävällä liuosylimäärällä.

### Kyllästysliuos

Valmistettavan kyllästysliuoksen määrä lasketaan kaavalla 4. Laskuissa käytetään kerrointa n, joka määräytyy aina eräkoon mukaan jakamalla käytetty erä koko 5000:lla.

$$\text{valmistettava liuostilavuus} = (n \times 174\text{kg}) \times \text{tiheys}$$

#### Kaava 7. Kyllästysliuoksen valmistuksen laskukaava

Taulukossa 4 on laskettu kerroin n, 5000:n ja 8500:n levyn eräkoille ja sitä käyttäen laskettu valmistettavan kyllästysliuoksen määrä näillä eräkoilla.

#### Taulukko 4. Kyllästysliuoksen valmistettava liuosmäärä

Eräkkö	n	Liuostilavuus (l)
5000	1	167
8500	1,7	285

Todellinen käyttömäärä laskettiin käyttäen samaa kaavaa kuin pesuliuksille (kaava 2). Taulukkoon 5 on laskettu kyllästysliuoksen todellinen käyttömäärä sekä liuosylimäärä kun liuosta valmistetaan eräohjeen mukainen määrä.

#### Taulukko 5. Kyllästysliuoksen käyttömäärä ja liuosylimäärä

Annostelutilavuus (µl)	Todellinen käyttömäärä (l)		Liuosylimäärä (l)	
	5000 levyä	8500 levyä	5000 levyä	8500 levyä
255	123	209	44	76
265	128	217	39	68
275	132	225	35	60

Eräkoon kasvatus 8500:aan levyyn kasvattaa huomattavasti kyllästysliuoksen ylimääräliuoksen määrää. Määrän pienentämiseksi kerrointa n laskettiin 1,7:stä 1,5:een. Uudella kertoimella lasketut liuosylimäärät on taulukoitu annostelutilavuuksittain taulukkoon 6.

Taulukko 6. Kyllästysliuoksen liuosylimäärät pienimmällä kertoimella.

Annostelutilavuus (µl)	8500:n levyn eräköön liuosylimäärä kun kerroin n lasketaan 1,7 → 1,5
255	42
265	34
275	26

Kertoimen laskeminen vähentäisi kyllästysliuoksen liuosylimäärää vähintään 18:lla litralla kun annostelu on sille asetetuissa rajoissa.

## 7.2 Optimointi osa 2: AutoDELFIA – määrittämiseen käytettävä Anti-hTSH mikrotitterilevy

Tuotantoprosessien optimoinnin toinen osuus liittyy AutoDELFIA laitteella määritettävän Anti-hTSH mikrotitterilevytuotteen tuotantoprosessin jokaisen prosessivaiheen mahdollistamiseen rinnakkaisella tuotantolinjalla ja sen pesu- kyllästysliuosten hyväksymisrajojen käyttöönottoon. Optimoinnin tavoitteena oli lisätä tuotantoprosessin joustavuutta ja näin helpottaa tuotannon suunnittelutyötä.

### 7.2.1 Pesu- ja kyllästysvaiheiden sekä loppuaspiroinnin mahdollistaminen rinnakkaiselle linjalle (KOU3)

Levyvalmistuksen KOU-tuotantotiloissa käytössä oleva KOU4-linja on validoitu tuotantokäyttöön vuonna 2012 ja sen yhteydessä on myös karakterisoitu kyseisen linjan toimivuus Anti-hTSH mikrotitterilevyjen pesu-kyllästys- ja loppuaspiointivaiheiden tuotantolinjana. Kyseisen validoinnin aikana KOU3-linja ei ollut vielä tuotantokäytössä, minkä takia tuotetta ei validoitu molemmille linjoille samaan aikaan. KOU3 -tuotantolinja on myöhemmin osoitettu riskiarvioiden avulla toiminnallisilta ominaisuuksiltaan vastaavaksi linjaksi Anti-hTSH mikrotitterilevyjen tuotannon kouttausvaiheessa. Myös pesu-kyllästys- ja loppuaspiointi haluttiin nyt mahdollistaa KOU3-tuotantolinjalle, jotta tuotantoprosessin joustavuutta saatiin lisättyä.

KOU4 ja KOU3 linjat ovat samankaltaisia keskenään ja nykyisin uudet levyerät karakterisoidaan molemmille linjoille yhdellä kertaa. Linjojen mekaaniset erot on listattu taulukkoon 7.

Taulukko 7. Rinnakkaisten KOU4 ja KOU3 tuotantolinjojen mekaaniset erot

KOU4	KOU3
16 + 16 kiertomäntäpumpun pumpputornit	24 kiertomäntäpumpun pumpputorni
Linjalla automaattinen hylkyasema viallisia levyjä varten	Linja pysähtyy kun se havaitsee viallisen levyn, levy poistetaan manuaalisesti
Nopeammin reagoivat sensorit mistä johtuen hieman nopeampi tuotantolinja KOU3:een verrattuna	Hitaammin reagoivat sensorit mistä johtuen hieman hitaampi tuotantolinja KOU4:ään verrattuna

KOU3 linjan mahdollistaminen rinnakkaislinjana päätettiin suorittaa riskiarviona, sillä linjat ovat niin samankaltaisia ettei muutoksesta aiheudu tarpeita validointiaktiiviteeteille tai käytännönteille. Riskiarviossa- vedottiin linjojen samankaltaisuuden lisäksi KOU3-linjalla jo valmistettaviin tuotteisiin, joista Anti-IRT tuote on Anti-hTSH:n kanssa hyvin samankaltainen. Riskiarvioinnin perusteella KOU3 -linjan todettiin soveltuvan Anti-hTSH mikrotiiterilevyjen tuotantoprosessille myös pesu-kyllästys- sekä loppuaspiointivaiheissa.

#### 7.2.2 Pesu- ja kyllästysliuosten säätö- ja hyväksymisrajat

Anti-hTSH- levyjä valmistetaan levyvalmistuksen molemmissa tuotantotiloissa OYS1- ja KOU -puolella. KOU -puolen eräohjeisiin on tuotannon pesu-kyllästys vaiheeseen määritelty kyseisten liuosten annostelutilavuuksille pelkät säätörajat kun taas OYS1-puolen pesu-kyllästyslinjalle PPL1 on määritelty säätörajojen lisäksi myös laajemmat hyväksymisrajat. Samat hyväksymisrajat halutaan käyttöön myös KOU-puolen linjoilla prosessien yhdenmukaistamiseksi ja, jotta vältetään aiheettomilta poikkeamilta.

Optimoinnin kohteena olevan Anti-hTSH mikrotiiterilevytuotetta valmistetaan levyvalmistuksen kaikilla tuotantolinjoilla, joista PPL1- linjalla annostelutilavuuksien hyväksymisrajat ovat jo käytössä. Hyväksymisrajat ovat todettu toimiviksi rajoiksi OYS1-puolella jolloin tähän vedoten voidaan samat hyväksymisrajat ottaa käyttöön myös KOU-



puolen tuotantolinjoilla kyseisen tuotteen tuotantoprosessissa. Muutos ei tällöin tuo uusia riskejä Anti-hTHS- mikrotiitterilevytuotteen tuotantoprosessiin.

## 8 TULOSTEN KÄSITTELY

Tulosten käsittelyssä optimointi osa 1:en osalta tulkittiin kuinka vasta-aineliuos säilyi stabiilina pidennetyneessä tuotannon läpimenonajassa. Tarkastelun alla oli levyjen laadunvalvontatestausten määräyksissä antama signaalitaso ja signaalitasossa tapahtuva lasku eri aikapisteissä. Testejä tehtiin levyille niiden 0-pisteessä sekä kiihdyteyn säilyvyyden jälkeen. Testauksien tuloksia verrattiin keskenään ja stabiilisuutta arvioitiin myös vertailemalla tuloksia varsinaisille tuotantoerille tehtävien laadunvalvontatestien tuloksiin.

Optimointi osa 2:en kohdalla tarkasteltiin mitä jatkotoimia tuotannonoptimointi tuotti ja pohdittiin miten yritys voisi tulevaisuudessa käsitellä ja tehostaa tuotantoprosessiensa optimoinnin menettelytapojaan.

### 8.1 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus 0 pisteessä

Vasta-aineliuoksen stabiilisuutta tutkittiin ensin 0 pisteessä. Tässä tapauksessa 0-pisteellä tarkoitetaan ajankohtaa heti tuotannollisen vaiheen jälkeen, jolloin levyt eivät vielä ole käyneet läpi kiihdytettyjen olosuhteiden rasiutusta. Näin saadaan tietää valmistetuneiden mikrotiitterilevyjen antama signaalitaso ilman mahdollisia ajan aiheuttamia muutoksia tuoteessa. Testierän levyistä määritettiin levyvalmistuksen eräohjeistuksen mukaisesti levyjen homogeenisuus, kokoomalevy- sekä signaalitasotesti.

#### 8.1.1 Homogeenisuus

Homogeenisuusmääritys suoritettiin kahdeksalla levyllä, jotka kerättiin testierän läpi. Levyt jaoteltiin kahteen eri AutoDELFIÄ – laitteeseen niin, että kumpaankin laitteeseen tuli neljä levyä. Aikapisteelle 34h suoritettiin oma homogeenisuusmääritys samalla periaatteella. Liuosten A ja B nollapiste -levyjen antamista tuloksistalaskettiin keskiarvo. Tulokset on esitetty taulukoissa 8 ja 9

Taulukko 8. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset aikapisteissä 0h, 14h ja 24h

	AutoDELFI	Levy nro	Aikapiste/liuos	Signaali mediaani (cps)	CV%	OK
1	D	83	0h /A	24926	1,2	x
2	D	41	0h /B		1,7	x
3	D	329	14h /B	22189	1,9	x
4	D	130	24h /A	23327	1,5	x
5	M	119	0h /A	22769	1,5	x
6	M	89	0h /B		1,9	x
7	M	403	14 /B	22030	1,8	x
8	M	208	24h /A	20556	2	x

Taulukko 9. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärittelyn tulokset aikapisteessä 34h

	AutoDELFI	Levy nro	Aikapiste/liuos	Signaali mediaani (cps)	CV%	OK
1	D	231	34h /B	22133	2,2	x
2	D	253	34h /B	21944	1,9	x
3	D	273	34h /B	22081	2,2	x
4	D	302	34h /B	22098	1,9	x
5	M	245	34h /B	20963	1,8	x
6	M	265	34h /B	19834	1,9	x
7	M	286	34h /B	20704	2,2	x
8	M	299	34h /B	19671	1,6	x

Molemmissa mittauksissa levykohtaiset CV -prosentit olivat hyväksymisrajoissa. Signaalitaso laskee 0 ja 24 tunnin aikavälillä, jolloin levyjen välinen CV - prosentti oli korkea.

#### 8.1.2 Kokoomalevytesti

Kokoomalevyt valmistettiin keräämällä stripejä kahdeksalta eri levytä neljälle eri levyfreimille seuraavasti:

1. Kokoomalevylle stripsit A ja E aikapisteistä 0h A, 0h B, 14 h ja 24 h
2. Kokoomalevylle stripsit G ja C aikapisteistä 0h A, 0h B, 14 h ja 24 h
3. Kokoomalevylle stripsit A ja E aikapisteistä 0h A, 14 h, 24 h ja 34 h
4. Kokoomalevylle stripsit G ja C aikapisteistä 0h A, 14 h, 24 h ja 34 h

Kokoomalevytestin tulokset on esitetty taulukoissa 10 ja 11. Levyjen CV-% laskennassa olivat mukana kahden eri testiliuoksen A ja B lähtötilanne eli 0 h A ja 0 h B.

Taulukko 10. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h

Kokoomalevy 1 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	0h B	14 h	24 h	Koko levy	CV-%
A ja E keskiarvo	22304	22353	21508	21399	21891.2	2.3
Kokoomalevy 2 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	0h B	14 h	24 h	Koko levy	CV-%
G ja C keskiarvo	21631	21618	20708	20664	21155.1	2.6
<b>Levyjen välinen CV-%</b>						2.4

Taulukko 11. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0h, 14h, 24h ja 34h

Kokoomalevy 3 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	14 h	24 h	34 h	Koko levy	CV-%
A ja E keskiarvo	22541	22631	21318	21268	21939.4	3.4
Kokoomalevyt 4 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	14 h	24 h	34 h	Koko levy	CV-%
G ja C keskiarvo	21507	21530	20004	20139	20794.9	4.0
<b>Levyjen välinen CV-%</b>						3.7

Kokoomalevytestissä 0-24 tunnin aikapisteistä muodostettujen levyjen välinen CV-prosentti oli hyväksymisrajoissa. Kokoomalevyt, joissa oli mukana myös 34 tunnin aikapiste eivät olleet hyväksymisrajoissa, vaan levyjen välinen CV- prosentti kasvoi liian suureksi.

### 8.1.3 Signaalitaso

Signaalitasotestiin kerätiin jokaisesta aikapisteestä satunnaisesti yksi levy. Standardi F:n signaalitaso lasketaan standardipitoisuuden huomioon ottavan kertoimen avulla (kaava 8). Standardien mitatut pitoisuudet on esitetty taulukossa 12.

$$\text{Kerroin} = \frac{250 \text{ ng/ml}}{\text{käytetyn standardi F:n pitoisuus}} = 0,9$$

Kaava 8. Standardin F kertoimen laskukaava

Standardien pitoisuudet ja signaalitasotestin mitatut signaalit sekä lasketut standardi F:n pitoisuudet on esitetty taulukoissa 12 ja 13. Tulokset olivat niille asetetuissa rajoissa.

Taulukko 12. Standardien mitatut pitoisuudet

Standardien pitoisuudet (ng/ml)	
A	0,8
B	10,2
C	25,9
D	52,3
E	106
F	266

Taulukossa 13 on esitetty signaalitasotestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h. Standardille F ei ole sellaisenaan määritetty hyväksymiskriteerejä, mistä johtuen sen signaalitasoa voidaan tulkita vasta kaavan 8 mukaisen kertoimen huomioimisen jälkeen.

Taulukko 13. Signaalitasotestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h

Signaali (cps)	0h A	0h B	14 h	24 h	34 h	OK	Yli
<b>Standardi A</b>	1177	1285	1179	1107	1227	x	
<b>Standardi F</b>	165054	143052	143696	137600	144790	-	-

<b>Standardi F jossa kerroin huomioitu</b>	148549	128747	129326	123840	130311	x	
--	--------	--------	--------	--------	--------	---	--

## 8.2 Vasta-aineliuoksen stabiilisuus kiihdytettyjen olosuhteiden jälkeen

Vasta-aineliuoksen stabiilisuutta selvitettiin myös testaamalla levyjen signaalitasoa kiihdytettyjen olosuhteiden jälkeen. Tällä selvitettiin säilyvätkö levyt käyttökelpoisina viimeiseen käyttöpäiväänsä asti. Levyjä säilytettiin kiihdytetyissä oloissa kaavan 4 mukaan lasketun 19 vuorokauden ajan, minkä jälkeen niille suoritettiin samat laadunvalvontatellit kuin 0-pisteen levyille

### 8.2.1 Homogeenisuus

Homogeenisuusmääritys suoritettiin jälleen kahdeksalla levyllä, jotka kerättiin tasaisesti testierän läpi. Levyt jaoteltiin kahteen eri AutoDELFIA – laitteeseen niin, että kumpaankin laitteeseen tuli neljä levyä. Aikapisteelle 34 h suoritettiin oma homogeenisuusmittaus samalla periaatteella. Liuosten A ja B nolapisteiden signaaleista laskettiin keskiarvo. Tulokset on esitetty taulukoissa 14 ja 15.

Taulukko 14. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärityksen tulokset 19 vrk jälkeen aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h

	AutoDELFIA	Levy nro	Aikapiste/liuos	Signaali mediaani (cps)	CV%	OK
1	D	84	0h /A	23196	1,6	x
2	D	34	0h /B		2,4	x
3	D	326	14h /B	21853	2,1	x
4	D	131	24h /A	22047	1,7	x
5	M	118	0h /A	21781	1,8	x
6	M	88	0h /B		3,1	x
7	M	400	14 /B	21034	2	x
8	M	207	24h /A	19840	2	x

Taulukko 15. Taulukossa on esitetty homogeenisuusmäärityksen tulokset 19 vrk jälkeen aikapisteessä 34 h

	AutoDELFIGIA	Levy nro	Aikapiste/liuos	Signaali mediaani (cps)	CV%	OK
1	D	232	34h/A	20971	1,7	x
2	D	262	34h/A	21241	2,2	x
3	D	282	34h/A	21112	1,6	x
4	D	304	34h/A	21303	1,7	x
5	M	242	34h/A	20473	2,4	x
6	M	252	34h/A	19611	1,8	x
7	M	272	34h/A	20392	2	x
8	M	290	34h/A	20012	2,2	x

Molemmissa mittauksissa levykohtaiset CV -prosentit olivat hyväksymisrajoissa. Signaalitaso laskee 0 pisteen ja 24 tunnin aikapisteen välillä, jolloin levyjen välinen CV -prosentti oli korkea.

### 8.2.2 Kokoomalevytesti

Kokoomalevyt valmistettiin jälleen keräämällä stripsejä kahdeksalta eri levytä neljälle eri levyfreimille samoin kuin kohdassa 8.1.2, Tulokset on esitetty taulukoissa 16 ja 17. . Levyjen CV-% laskennassa olivat mukana kahden eri testiliuoksen A ja B lähtötilanne eli 0 h A ja 0 h B.

Taulukko 16. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h ja 24 h

Kokoomalevy 1 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	0hB	14h	24h	Koko levy	CV-%
A ja E keskiarvo	21643	21747	21146	21235	21442.7	1.4
Kokoomalevy 2 signaalit (cps)						
Stripsit	0h A	0hB	14h	24h	Koko levy	CV-%
G ja C keskiarvo	21171	20898	19994	20127	20547.6	2.8

<b>Levyjen välinen CV-%</b>	2.2
-----------------------------	-----

Taulukko 17. Taulukossa on esitetty kokoomalevytestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h

<b>Kokoomalevy 3 signaalit (cps)</b>						
<b>Stripsit</b>	<b>0h A</b>	<b>14 h</b>	<b>24 h</b>	<b>34 h</b>	<b>Koko levy</b>	<b>CV-%</b>
A ja E keskiarvo	21741	21653	20547	20644	21146.2	3.0
<b>Kokoomalevyt 4 signaalit (cps)</b>						
<b>Stripsit</b>	<b>0h A</b>	<b>14 h</b>	<b>24 h</b>	<b>34 h</b>	<b>Koko levy</b>	<b>CV-%</b>
G ja C keskiarvo	20948	21021	19753	19798	20379.9	3.4
<b>Levyjen välinen CV-%</b>						3.2

Kokoomalevytestissä 0-24 tunnin aikapisteistä muodostettujen levyjen välinen CV- prosentti oli hyväksymisrajoissa. Kokoomalevyt, joissa oli mukana myös 34 tunnin aikapiste eivät olleet hyväksymisrajoissa, vaan levyjen välinen CV- prosentti kasvoi liian suureksi.

### 8.2.3 Signaalitasotesti

Signaalitasotestiin kerätiin jokaisesta aikapisteestä satunnaisesti yksi levy. Standardi F:n pitoisuuden laskemisessa toimittiin samoin kuin kohdassa 7.1.3.

Standardien pitoisuudet ja signaalitasotestin mitatut signaalit sekä lasketut standardi F:n pitoisuudet on esitetty taulukoissa 18 ja 19. Tulokset olivat niille asetetuissa rajoissa.

Taulukko 18. Standardien mitatut pitoisuudet

<b>Kalibraattorien pitoisuudet (ng/ml)</b>	
A	0,8
B	10,2
C	25,9



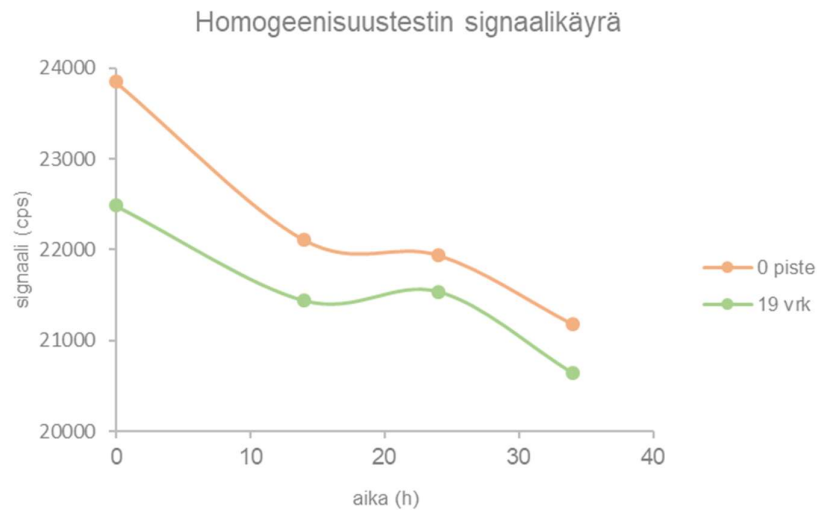
D	52,3
E	106
F	266

Taulukko 19. Taulukossa on esitetty signaalitasotestin tulokset aikapisteissä 0 h, 14 h, 24 h ja 34 h

Signaali (cps)	0h A	0h B	14h	24h	34h	OK	Yli
<b>Standardi A</b>	1060	1199	1109	1120	1195	x	
<b>Standardi F</b>	158028	143966	141020	146094	138996	-	-
<b>Standardi F jossa kerroin huomioitu</b>	142225	129569	126918	131485	125096	x	

### 8.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu: optimointi osa 1

Homogeenisuustestin tuloksista muodostettiin eri koutausliuoksen säilytysajoilla koutattujen levyjen signaalitasokuvaaja (kuva 8). Kuvaajassa 0-pisteen signaali on koutausliuoksilla A ja B 0-pisteessä koutattujen levyjen signaalien keskiarvo kahdella AutoDELFI – laitteella määritettynä. 34 tunnin aikapisteen mittaus haluttiin alun perin pitää erillään, sillä oli odotettavissa, että signaalitaso poikkeaa muiden aikapisteiden tuloksista merkittävästi. Signaalit eivät kuitenkaan lopullisissa tuloksissa osoittaneet merkittävää eroa 14 h ja 24 h aikapisteisiin ja kaikilla aikapisteillä 14 ja 34 h välillä todettiin olevan eroa verrattuna 0h aikapisteeseen. Näin ollen 34 tunnin aikapiste yhdistettiin samaan kuvaajaan.

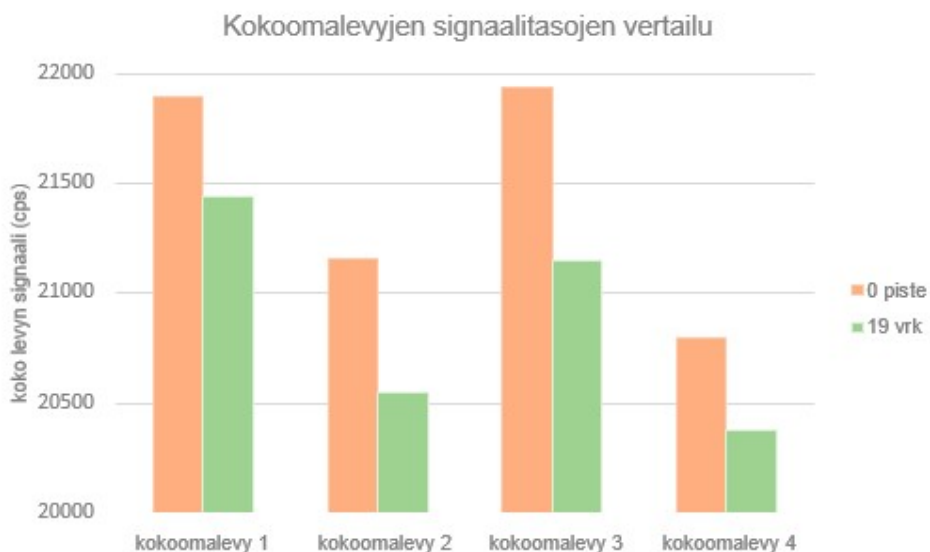


Kuva 8. Levyjen homogeenisuusmäärittysten signaalitasoja kuvaava signaalikäyrä, jossa on esitetty kaikki aikapisteet välillä 0-34 h.

Signaali laskee 0 ja 34 tunnin aikapisteiden välillä melko lineaarisesti. On havaittavissa kuitenkin, että 14 ja 24 tunnin aikapisteiden välillä ei merkittävää muutosta tapahdu kunnes signaali lähtee uudelleen laskuun. Verrattaessa homogeenisuustestin tuloksia 0-pisteessä sekä 19 vuorokauden kiihdytettyjen olosuhteiden rasituksen jälkeen, on havaittavissa signaalin vaihtelun noudattavan molemmissa tapauksissa lähes samanlaista muutosta alaspäin.

Signaalitasojen tippumista tarkasteltiin prosentuaalisesti 0 pisteessä ja 19 vuorokauden rasituksen jälkeen. 0-pisteessä vasta-aineliuksen 14 h seisotus ennen kouttausta laskee signaalitasoa 7 %, 24h seisotus 8 % ja 34h seisotus 11 %. Kiihdytettyjen olosuhteiden rasituksen jälkeen vastaavat prosentuaaliset arvot olivat 14 h seisotuksen jälkeen 5 %, 24 h seisotuksen jälkeen 4 % ja 34 h seisotuksen jälkeen 8 %. Vertailun vuoksi laskettiin tuotantoerien homogeenisuusmäärittelyistä ensimmäisten ja viimeisten levyjen signaalitasoeroja ja havaittiin, että muutos näiden välillä oli noin 0,5 % luokkaa.

Kokoomalevytestin tuloksista muodostettiin pylväskuvaaja (kuva 9), jossa vertaillaan levykohtaista signaalia kokoomalevyittäin.



Kuva 9. Kokoomalevytestin levyjen välinen signaalitaso verrattuna 0 pisteen ja 19 vuorokauden kiihdytettyjen säilytysolosuhteiden jälkeen.

Kokoomalevytesti mittaa myös levyerän homogeenisuutta, mutta eri stripseistä samalle levykehykselle kootut levyt antavat enemmän tietoa levyjen välisestä vaihtelusta. Kokoomalevyt 1 ja 2 on muodostettu aikapisteiden 0 h, 14 h, 24h levyjen stripseistä. Levyjen välillä signaalitaso laskee hieman, mutta levyjen välinen CV-prosentti jää kuitenkin hyväksymisrajoihin. Kokoomalevyissä 3 ja 4 on mukana kaikki aikapisteet 0-34 h. Signaalin ero näiden levyjen välillä on suurempi. Sekä levykohtainen että levyjen välinen CV – prosentti on melko korkea ja ylittää hyväksymisrajat.

Homogeenisuustestin perusteella olisi mahdollista todeta, että kouttausliuos säilyy signaalin laskusta huolimatta, sillä kaikkien levyjen CV-prosentit olivat hyväksymisrajoissa. Kuitenkin kokoomalevytestissä havaittu levyjen välinen vaihtelu osoittaa, että testierä ei ole homogeeninen.

Kiihdytettyjen olosuhteiden rasituksen jälkeen signaaleissa tapahtui muutoksia alaspäin, jolloin ero ennen rasitusta mitattujen levyjen signaaleihin oli 2-7% välillä. Signaalien lasku ja vaihtelu noudattaa lähes samanlaista kaavaa 0 pisteessä sekä 19 vuorokauden rasituksen jälkeen. Tulosten perusteella ei ole mahdollista luotettavasti osoittaa, että kouttausliuos säilyisi pidentyneessä tuotannon läpimenoajassa.

#### 8.4 Tulokset ja tulosten tarkastelu: optimointi osa 2

Optimoinnin toisessa osuudessa AutoDELFI Anti-hTSH mikrotiiterilevyjen tuotantoprosessille ei suoritettu käytännön testauksia vaan optimointi perustui tuotantoprosessin muutoksesta johtuvien riskien arviointiin. Riskiarviossa todettiin, että prosessiin tehtävät muutokset eivät luo uusia riskejä tuotantoprosessiin. Riskiarvioinnin hyväksynnän jälkeen avattiin muutosehdotus, jonka pohjalta tuotantolinjojen ohjeisiin ja dokumentaatioon tehtiin muutokset KOU3 -linjan soveltuvuudesta kyseiseen prosessivaiheeseen Anti-hTSH mikrotiiterilevyjen valmistuksessa. Myös pesu- ja kyllästysliuosten annostelun säätörajat laajennettiin hyväksymisrajoihin.

Tuotannon kehittäminen riskiarviolla mukaillee Quality by Design lähestymistapaa, jossa tuotannon optimoinnit suoritetaan ilman validointeja perehtymällä kyseisen prosessin kriittisiin kohtiin. Tulevaisuudessa Wallacilla olisi hyvät edellytykset korvata tuotantoprosessin optimointeja Quality by Design:iin perustuvien menetelmin, sillä Wallacin tuotantoprosessien eri parametreista ja ominaisuuksista on yrityksessä paljon tietoa. Tätä tietoa hyväksikäyttämällä voitaisiin selventää prosessien kriittiset parametrit, joita QbD hyödyntää.

## 9 YHTEENVETO

Tuotantoprosessien optimoinnin ensimmäinen osuus liittyi Anti-hTSH mikrotiitterilevytuotteen (GSP määräty) eräkoon kasvattamiseen nykyisestä 5000 levystä 8500 levyyn. Ennen varsinaista eräkoon kasvatuksen aloittamista verifointierällä oli määritettävä lopputuotteen kannalta prosessin kriittiset tekijät, ja kuinka tuotantomittakaavan nosto vaikuttaa näihin. Prosessin merkittävin muuttuja oli tuotteen pidempi läpimenoaika linjalla, jolloin annosteltavan vasta-aineliuoksen säilyvyys pidentyneessä prosessissa oli karakterisoitava.

Säilyvyys testattiin testierällä, joissa pidentynyttä läpimenoaikaa jäljiteltiin liuosten seisottamisella ja kouttaamalla liuosta levyille eri aikapisteissä. Testierän valmistuksen jälkeen levyille tehtiin homogeenisuusmääritys, kokoomalevytesti sekä Neo-TSH signaalitasotesti. Osa testituloksista oli laadunvalvontatesteille osoitetuissa rajoissa. Levyjen välistä vaihtelua tarkasteltaessa ei tulosten perusteella ollut mahdollista luotettavasti osoittaa, että kouttausliuos säilyisi pidentyneen prosessin ajan homogeenisena.

Optimoinnin ensimmäiseen osuuteen liittyi myös eräkoon kasvatuksen yhteydessä tehtävä liuosylimäärien pienentäminen. Tuotannon pesu- ja kyllästysliuosylimääriä pyrittiin optimoimaan tuotannon kulujen minimoimiseksi ja fosfaattipitoisen jätekuorman pienentämiseksi. Käytännössä liuosylimäärien mahdollinen pienentäminen tulisi ajankohtaiseksi vasta eräkoon kasvatuksen verifointierien yhteydessä, mutta alustavia laskelmia tehtiin karakterisointivaiheessa.

Toisessa osassa optimoitiin Anti-hTSH mikrotiitterilevytuotteen (AutoDELFIÄ määräty) pesu, kyllästys-, ja loppuaspiointivaihetta. Tuotantotilassa, johon kyseinen tuotenimike on validoitu, sijaitsee kaksi toisiaan vastaavaa linjaa (KOU3 ja KOU4). Tuotteen valmistusprosessissa pesu- ja kyllästysvaihe oli mahdollista tehdä vain toisella linjalla (KOU4). Prosessin joustavuuden maksimoimiseksi kyseinen prosessivaihe haluttiin mahdollistaa myös toiselle linjalle (KOU3). Linjojen samankaltaisuuteen pohjautuen KOU3 linjan mahdollistaminen päätettiin suorittaa riskiarviona. Riskiarvioinnin perusteella todettiin ettei muutoksesta aiheutuisi tarpeita validointiaktiiviteeteille tai testierien valmistukselle. Näin ollen KOU3-linjan todettiin soveltuvan Anti-hTSH -levyjen tuotantoprosessille myös pesu-, kyllästys-, ja loppuaspiointivaiheissa.

Tuotantoprosessin pesu- ja kyllästysvaiheeseen haluttiin tehdä muutoksia myös annostelutilavuuksien rajojen määrittelyyn. KOU -puolen eräohjeisiin on tuotannon pesu- ja kyllästysvaiheeseen määritelty liuosten annostelutilavuuksille pelkät säätörajat ja niitä haluttiin laajentaa ottamalla käyttöön lisäksi hyväksymisrajat. Hyväksymisrajoiden riskien kartoittaminen sisällytettiin riskiarvioon. Riskiarviossa todettiin ettei hyväksymisrajoiden käyttöönotto KOU -puolen tuotantoprosessissa luo prosessiin uusia riskejä, sillä kyseiset säätö- ja hyväksymisrajat ovat jo tälle tuotteelle käytössä toisella tuotantolinjalla (OYS1).

Tavoitteena Anti-hTSH mikroitiitterilevytuotteen (GSP) tuotantoprosessin eräkoon kasvatuksen kohdalla oli päästä jatkamaan liuoskarakterisoinnin jälkeen validointivaiheeseen. Karakterisoinnin testitulokset eivät kuitenkaan antaneet yksiselitteisen selkeää tietoa kuinka hyvin liuos oli seisotusten jälkeen säilynyt. Tämän perusteella pääteltiin, että karakterisointia on vielä jatkettava lisätestauksilla kouttausliuoksen säilyvyyden osalta. On kuitenkin myös mahdollista, ettei kouttausliuos tule säilymään pidentyneessä prosessissa homogeenisena.

Tuotannon optimoinnin toinen osa; Anti-hTSH (AutoDELFI) levyn tuotantoprosessi mahdollistaminen kaikilla tuotantolinjoilla, suoritettiin onnistuneesti riskiarviolla. Tämä lisäsi kyseisen tuotantoprosessin joustavuutta, mikä puolestaan helpottaa tuotannon suunnittelua ja parantaa tuotantokapasiteettia.

## LÄHTEET

- 1 PerkinElmer. 2019. About Us. Viitattu 15.10.2019  
<https://www.perkinelmer.com/uk/corporate/company/about-us/>
- 2 Wallac Oy. 2018. SOP 13904643 AutoDELFI A Neonatal hTSH.
- 3 Martins De Castro, S.; Flippon, L.; Souza, A. Weber, R.; 2016. Evaluation of the Genetic Screening Processor for the Performance of Newborn Screening Tests. Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening. Volume 4: 1-5. Viitattu 21.03.2020  
<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/2326409816669370>
- 4 Wild, D. 2005. Immunoassay Handbook. Kolmas painos. Elsevier.
- 5 PerkinElmer. 2017. GSP® Newborn screening system – the most advanced system for screening NBS disorders. Viitattu 19.12.2020  
[https://newbornscreening.perkinelmer.com/files/318/GSP\\_newborn\\_screening\\_system\\_brochure\\_\(Outside\\_US\)\\_lowres\\_Jan2018\\_1599-9791-2.pdf](https://newbornscreening.perkinelmer.com/files/318/GSP_newborn_screening_system_brochure_(Outside_US)_lowres_Jan2018_1599-9791-2.pdf)
- 6 Nissinen, M. 2011. Homogeeninen fluoresenssiin perustuva filamenttifaagin titterimääritys. Viitattu 28.03.2020  
[https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/29621/Nissinen\\_Miia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/29621/Nissinen_Miia.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- 7 Degorse, F.; Card, A.; Soh, S.; Trinquet, E.; Knapik, G.; Xie, B. 2009. HTRF: A Technology Tailored for Drug Discovery- A Review of Theoretical Aspects and Recent Applications. Viitattu 26.03.2020  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2802762/>
- 8 Cisbio. HTRF® theory in brief. Viitattu 30.03.2020  
<https://auroscience.hu/docs/bros-htrf.pdf>
- 9 PerkinElmer. 2015. Introducing the new AutoDELFI A® immunoassay system for newborn screening. Viitattu 30.03.2020  
[https://newbornscreening.perkinelmer.com/files/188/AutoDELFI\\_A\\_NEO\\_BRO\\_12.11.2015\\_1599-9800.pdf](https://newbornscreening.perkinelmer.com/files/188/AutoDELFI_A_NEO_BRO_12.11.2015_1599-9800.pdf)
- 10 Fingerhut, R.; Torresani, T. 2013. Evaluation of the genetic screening processor (GSP) for newborn screening. Viitattu 30.03.2020  
[https://www.researchgate.net/publication/272136152\\_Evaluation\\_of\\_the\\_genetic\\_screening\\_processor\\_GSP\\_TM\\_for\\_newborn\\_screening](https://www.researchgate.net/publication/272136152_Evaluation_of_the_genetic_screening_processor_GSP_TM_for_newborn_screening)
- 11 PerkinElmer. 2006. The AutoDELFI A® immunoassay system for screening programs and routine diagnostics. Viitattu 30.03.2020  
[https://www.perkinelmer.com.cn/lab-solutions/resources/docs/BRO\\_US-GS\\_AutoDELFI\\_AutoImmunoassaySystem.pdf](https://www.perkinelmer.com.cn/lab-solutions/resources/docs/BRO_US-GS_AutoDELFI_AutoImmunoassaySystem.pdf)
- 12 PerkinElmer. 2020. Tuoteseloste. Viitattu 30.03.2020  
<https://www.perkinelmer.com/fi/product/autodelfia-plate-processor-incl-pc-1235-5110>
- 13 PerkinElmer. 2020. Tuoteseloste. Viitattu 30.03.2020  
<https://www.perkinelmer.com/fi/product/genetic-screening-processor-2021-2021-0010>
- 14 Wallac Oy. 2020. SOP 13905076 Quality Management System Manual.

- 15 BSI Group America Inc. 2016. ISO 13485:2016 Frequently asked questions. Viitattu 30.03.2020 [https://www.bsigroup.com/LocalFiles/tr-TR/ISO-13485-2016-FAQ%20\(1\).pdf](https://www.bsigroup.com/LocalFiles/tr-TR/ISO-13485-2016-FAQ%20(1).pdf)
- 16 Euroopan Parlamentin ja neuvoston direktiivi 98/79/EY. 1998. Viitattu 30.03.2020 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/ALL/?uri=CELEX%3A31998L0079>
- 17 Wallac Oy. 2020. SOP 13902276 Muutostenhallinta.
- 18 Wallac Oy. 2019. SOP 13903492 Validointipolitiikka ja -menettelyt.
- 19 Wallac Oy. 2018. SOP 13907859 Tuotannollisten riskien hallinta.
- 20 Elson, T. 2007. Concepts on Chemical Engineering 4 Chemists, Chapter 6 Scale up in chemical engineering s.171- 172. Cambridge.
- 21 Wallac Oy. 2019. SOP 13904679 Levyvalmistuksen yleiset menettelyt.
- 22 Logistiikan maailma. Viitattu 30.03.2020 <http://www.logistiikanmaailma.fi/tuotanto/>
- 23 Wallac Oy. 2020. SOP 13907740 Levyjen automaattisen siirto- ja käsitt.
- 24 Oyster Bay Pump Works Inc. Tuoteseloste. <https://pdf.medicaexpo.com/pdf/oyster-bay-pump-works/versafill-dispensing-system/77852-166565.html#open>
- 25 Salminen, V. 2018. Fosforipäästöjen hallinta. Viitattu 31.03.2020 [https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/157902/Salminen\\_Ville.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/157902/Salminen_Ville.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- 26 PerkinElmer. 2016. PL16-5868 Karakterisointiraportti.
- 27 Wallac Oy. 2020. Anti-hTSH Microtitration Strips eräohje.
- 28 Mellin, I. 2005. Johdatus tilastotieteeseen: Yhteensopivuuden, homogeenisuuden ja riippumattomuuden testaaminen. Viitattu 31.03.2020 <http://math.tkk.fi/opetus/sovtoda/luennot/vanhat/TILYH100.pdf>
- 29 PerkinElmer Suomessa. Viitattu 26.05.2020. <https://www.perkinelmerfinland.fi/>
- 30 PerkinElmer. 2013. GSP Tuote-esite. Viitattu 24.04.2020 [https://www.perkinelmer.com.cn/CMSResources/Images/46-135533BRO\\_GSPNeonatalKit\\_HR\\_low.pdf](https://www.perkinelmer.com.cn/CMSResources/Images/46-135533BRO_GSPNeonatalKit_HR_low.pdf)
- 31 Czarnik, A.W.; Mei, H. 2007. Comprehensive Medicinal Chemistry ||
- 32 Hurskainen, P. DELFIA:n perusteet. Turku : Wallac Oy
- 33 Jukka, J. 2016. QbD-lähestymistapa NIR-spektroskopisen kalibraatiomallin kehityksessä ja menetelmän validoinnissa. Viitattu 24.04.2020 [https://epublications.uef.fi/pub/urn\\_nbn\\_fi\\_uef-20160478/urn\\_nbn\\_fi\\_uef-20160478.pdf](https://epublications.uef.fi/pub/urn_nbn_fi_uef-20160478/urn_nbn_fi_uef-20160478.pdf)
- 34 Bhutani, H.; Beg, S. 2014. Quality by Design (QbD) in Analytic Sciences: An Overview. Viitattu 24.04.2020



[https://www.researchgate.net/publication/267034239\\_Quality\\_by\\_Design\\_QbD\\_in\\_Analytical\\_Sciences\\_An\\_Overview](https://www.researchgate.net/publication/267034239_Quality_by_Design_QbD_in_Analytical_Sciences_An_Overview)

- 35 Wallac Oy. 2018. SOP 13905993 IVD- reagenssien säilyvyytestauskäytännöt kiihdytetyissä tutkimuksissa.
- 36 Hemmilä, I. 1995. Luminescent lanthanide chelates – a way to more sensitive diagnostic methods. Journal of Alloys and Compounds. Elsevier.

## Levyvalmistusprosessin vuokaavio

PK = Prosessin kontrollointi  
(annostelutilavuuden  
tarkastus/jäännöskosteuden  
tarkastus)  
KA = Kouttausliuoksen annostelu

A1 = Kouttausliuoksen aspirointi  
D1 = Pesuliuoksen 1 dispensointi  
A2 = Pesuliuoksen 1 aspirointi  
D2 = Pesuliuoksen 2/saliiniliuoksen  
dispensointi  
A3 = Pesuliuoksen 2/ saliiniliuoksen  
aspirointi  
D3 = Kyllästysliuoksen dispensointi

A4 = Kyllästysliuoksen aspirointi

