

Monitoring im Reinraum

Frank Böttcher

HWI pharma services GmbH, Rülzheim

Die mikrobiologische Reinheit ist eines der entscheidenden Qualitätskriterien für Arzneimittel und Medizinprodukte, insbesondere für die, die steril sein müssen. Mikrobiologische Verunreinigungen werden aus der Umwelt in das Produkt eingetragen, dies kann durch geeignete, validierte Prozesse und entsprechend qualifizierte Anlagen vermieden werden. Eine qualifizierte und mikrobiologisch überwachte Produktionsumgebung der unterschiedlichen Reinraumklassen ist eine wichtige Voraussetzung für den Schutz der Produkte. Die Kontrolle der Prozesse und der finalen Produkte erfolgt über das mikrobiologische Monitoring und die Prüfung des Fertigprodukts, wenn keine parametrische Freigabe vorgesehen ist.

Unter mikrobiologischen Aspekten qualifizierte Reinräume sind für die Herstellung steriler oder mikrobiologisch kritischer Darreichungsformen notwendig. So muss das Design ein hygienisch einwandfreies Arbeiten ermöglichen, die Räume und Einrichtungen müssen einfach zu reinigen und zu desinfizieren sein. Reinigungs- und Desinfektionsmittel müssen qualifiziert werden, eine mikrobiologische Reinigungsvalidierung ist durchzuführen und das Überwachungssystem für diese Verfahren, ein mikrobiologisches Reinraummonitoring, ist zu etablieren. Das Monitoring sollte nach einem risikobasierten Ansatz auf der Grundlage verschiedener Risikobewertungen aufgesetzt werden, die die verschiedenen Aspekte bei den Tätigkeiten im Reinraum berücksichtigen. Im Draft des Annex 1 [1] ist dieser risikobasierte Ansatz zur Etablierung des Reinraummonitorings folgendermaßen beschrieben:

“9.4 In order to establish a robust environmental monitoring program, i.e. locations, frequency of monitoring and incubation conditions (e.g. time, temperature(s) and aerobic and or an-

aerobic), appropriate risk assessments should be conducted based on detailed knowledge of the process inputs, the facility, equipment, specific processes, operations involved and knowledge of the typical microbial flora found, consideration of other aspects such as air visualization studies should also be included. These risk assessments should be re-evaluated at defined intervals in order to confirm the effectiveness of the site's environmental monitoring program, and they should be considered in the overall context of the trend analysis and the contamination control strategy for the site.”

“9.7 For grade A monitoring, it is important that sampling should be performed at locations posing the highest risk of contamination to the sterile equipment surfaces, container-closures and product in order to evaluate maintenance of aseptic conditions during critical operations.”

Die Risikobetrachtung sollte auf die anzunehmenden Worst-Case-Bedingungen abgestellt werden, die im Rahmen des Betriebs eines Reinraums auftreten könnten. Allerdings sollte vermieden werden, unnötig Risiken zu konstruieren. Gerade zum

mikrobiologischen Monitoring in Reinräumen hat sich bzgl. der Bewertung der erhaltenen Ergebnisse eine Diskussion entwickelt, die oft die wissenschaftliche Bewertung außer Acht lässt. Akers und Agallaco [11] behaupten sogar in ihrer Publikation *Environmental Monitoring: Myths and Misapplications*: „We contend that no area of sterile product manufacturing is as veiled in myth and hyperbole as environmental monitoring“.

Es muss berücksichtigt werden, dass es sich bei den im Rahmen des Monitorings ermittelten Werten aus folgenden Gründen nicht um absolute, für alle Stellen des Reinraums und zu jeder Zeit der Herstellung und Prüfung gültige Werte handeln kann, sondern nur um eine Momentaufnahme und einen Ausschnitt aus dem tatsächlichen Zustand des Reinraums [6]:

- Ein mikrobiologisches Risiko stellt die Probenahme dar, denn genau wie Ausgangsstoffe, Zwischenprodukte oder Arzneimittel artifiziell mikrobiologisch kontaminiert werden können, können die Monitoringmedien wie Abklatsch- und Sedimentationsplatten sekundär, insbesondere durch das Probenahmepersonal kontaminiert werden, ohne dass die Ursache erkennbar ist.
- Luftkeimzählsammler variieren sehr stark in der Wiederfindung von Mikroorganismen aus der Luft. Die Werte stellen zudem nur einen zeitlich sehr begrenzten Ausschnitt aus der Produktions- oder Prüfumgebung dar.
- Befunde in der aktiven Luftkeimzählsammlung bedeuten nicht unbedingt, dass das Produkt oder der Steriltest ebenfalls kontaminiert sein müssen. Beim Monitoring wird ein Kubikmeter Luft aktiv an-

gesaugt, während Keime und Sporen in der Luft und auf Oberflächen unbeweglich sind und nur durch Zufall in die Abfüllung oder den Test gelangen können.

- Die Repräsentativität des Probenahmeplatzes für die passive Messung mittels Sedimentationsplatten ist schwer zu beurteilen. Sedimentationsplatten decken nur eine sehr kleine Oberfläche ab, die zufällig von Keimen/Sporen aus der Luft getroffen werden muss, damit ein Mikroorganismus erkannt werden kann.
- Die Schwankungsbreite mikrobiologischer Methoden ist sehr hoch. So ist die Wiederfindung der Keimzählung nach Ph. Eur. 2.6.12 [10] noch akzeptabel, wenn sie nur 50 % beträgt, die Wiederfindung von Sporen auf Bioindikatoren dürfen laut USP $\pm 0,48$ log betragen [12].
- Im Oberflächenmonitoring kann nur ein kleiner Teil der Gesamtoberfläche betrachtet werden. Die Oberflächen sind oft mit Desinfektionsmitteln belegt. Keime wachsen nur an, wenn sie durch das verwendete Monitoringmedium tatsächlich von der Oberfläche abgelöst und nicht vom Desinfektionsmittel auf der Oberfläche im Wachstum gehemmt werden.
- Die Wiederfindung von Keimen auf den Kontaktmedien ist z. B. stark von der zu bemusternden Oberfläche abhängig. Verschiedene Sporen können in Gegenwart von Desinfektionsmitteln, die von der Oberfläche auf die Kontaktmedien gelangen, nicht nachgewiesen werden, weil sie nicht in der vegetativen Form vorliegen, aber wachsen, wenn sie in eine Nährmedienlösung gelangen, weil dann das Desinfektionsmittel stärker verdünnt wird und nicht mehr wirksam ist.
- Das Oberflächenmonitoring stellt zudem nur einen begrenzten Ausschnitt dar, da viele vegetative Keime – im Gegensatz zu Sporen – auf den Oberflächen im Reinraum nicht lange überlebensfähig sind. Das bedeutet, dass Keime z. B. über

das Personal eingetragen werden und ggf. zu einer Kontamination des Produkts oder der Prüfung führen, ohne dass sie später im Monitoring erkannt werden können.

- Anaerobier können nur schlecht im Monitoring nachgewiesen werden. Auch sie werden hauptsächlich durch das Prüfpersonal eingetragen. Auf diesem Auge bleibt das Monitoring oft blind, auch wenn versucht wird, anaerob zu bebrüten.

Da das Monitoring also keine absolut korrekten Daten über die mikrobiologische Belastung liefern kann, ist es umso wichtiger, die Ergebnisse mit dem notwendigen Sachverstand und ausreichender Erfahrung zu bewerten. Einzelne Überschreitungen von Aktionsgrenzen lassen nicht darauf schließen, dass die Charge kontaminiert ist, die Sterilprüfung invalide sein wird oder der Hygienestatus des Reinraums außer Kontrolle gerät. Belegbar ist dies u. a. durch Trends in Steriltesteinrichtungen. Hier kommt es – wie in Produktionsbereichen auch – bisweilen zu Überschreitungen der Warn- und Aktionsgrenzen, ohne dass die durchgeführten Sterilprüfungen oder Negativkontrollen in diesen Fällen positiv ausfallen würden. Die im Monitoring gefundenen Keime sind also nachweislich nicht in das „Produkt“ – hier das Steriltestsystem – übertragen worden.

Das Monitoring ist vielmehr nur geeignet, um zu belegen, dass sich die mikrobiologischen Bedingungen im Reinraum nicht verschlechtern und den üblichen, z. B. bei Validierungsläufen mit Nährmedien, vorliegenden Bedingungen vergleichbar sind. Das bedeutet andererseits aber auch, dass alle Änderungen im Monitoringssystem, sei es der Einsatz neuer Medien wie Abklatsch- oder Sedimentationsplatten, Einsatz anderer Luftkeimzählsammler, Änderung der durch die Qualifizierung festgelegten Monitoringstellen und Monitoringfrequenzen oder Änderungen im Desinfektionssystem kritisch hinterfragt werden müssen. Die Ergebnisse des Monitorings können durch jede

Änderung mehr oder weniger stark variieren, ohne dass sich der Hygienestatus des Reinraums tatsächlich geändert hätte. Andererseits kann sich auch der Status des Reinraums ändern, ohne dass dies im Hygienemonitoring erkennbar wird. Hier sind weitreichende Risikobewertungen vor Änderung der Verfahren bzw. zur Bewertung der Trends erforderlich. Letzteres ist für die Reinraumklassen A und B aber schwierig, da wenige von „Null“ abweichende Ergebnisse vorkommen und so die Trendanalyse oft nicht genügend Aussagekraft besitzt. Es ist also notwendig, insbesondere im Rahmen der Qualifizierung und dem späteren Hygienemonitoring ausreichend viele Punkte zu bemustern, um eine ausreichende Datenlage zu schaffen, die eine sichere Bewertung des Hygienestatus ermöglicht.

1. Partikelmonitoring

In den Reinraumklassen A und B ist ein kontinuierliches Partikelmonitoring vorzusehen. Partikel spielen allerdings im Vergleich zur Halbleiterindustrie in der pharmazeutischen Herstellung eine nicht so bedeutende Rolle für die direkte Kontamination des Produkts, auch wenn das Produkt Spezifikationsanforderungen hinsichtlich Partikelfreiheit erfüllen muss. Bedingt durch die Herstellung ist aber ein Partikeleintrag in die nahezu geschlossenen Systeme über die Luft eher unwahrscheinlich. Partikelkontaminationen des Produkts selbst stammen bei Arzneimitteln eher aus Ausgangsstoffen, Filtern und anderen produktberührenden Teilen. In erster Linie werden Partikel in der Luft in der Fertigung von sterilen Arzneimitteln betrachtet, weil sie Träger von Keimen sein können, die über Luftströmungen verteilt und in das Produkt gelangen könnten [4]. Außerdem ist das Partikelmonitoring wichtig für die kontinuierliche Überprüfung der Luftfilter.

Bereits im Annex 1 zum EU-GMP-Leitfaden [3] ist gefordert, dass während der gesamten Dauer der kriti-

sehen Fertigung ein Partikelmonitoring zu erfolgen hat. Das kontinuierliche Monitoring erfolgt über fest eingebaute Messsonden, somit ist es auch nur ein Indiz bzw. ein Baustein der Gesamtbetrachtung des Reinraumzustands und ermöglicht keine 100%ige Kontrolle des gesamten Raumes. Die Verwendung eines gleichwertigen Systems für Klasse-B-Bereiche wird empfohlen. Der Klasse-B-Bereich sollte so häufig und mit angemessenem Probenvolumen überwacht werden, dass Änderungen im Level der Kontamination und jede Verschlechterung des Systems erfasst werden.

Es sollen die unmittelbar für die Prüfungsdurchführung relevanten Räume und Arbeitsplätze überwacht werden. Bei längeren Eingriffen des Personals in den Abfüllbereich, bei Desinfektionsmitteleinsatz oder Wartungen, ist die Partikelzählung ggf. zu unterbrechen bzw. sind die Messsonden zu schützen, da bei diesen Arbeitsschritten Partikel entstehen, die sonst als Artefakte gemessen werden. Da das Partikelmonitoring in erster Linie für die Bewertung der Filterintegrität der in Betrieb befindlichen HVAC-Anlage¹⁾ erforderlich ist, ist es unkritisch, während der Eingriffe das Partikelmonitoring auszusetzen, weil diese Daten nicht repräsentativ für den Zustand der Filter sind oder der Luftqualität bei der Fertigung entsprechen. Außerdem wird nach Eingriffen und den darauffolgenden, notwendigen Desinfektionsschritten und über eine validierte Clean-up-Phase wieder der qualifizierte Zustand der Einrichtung erreicht, der dann weiter kontinuierlich überwacht werden kann.

Probleme tauchen beim Partikelmonitoring immer dann auf, wenn artifiziell Partikel eingebracht werden. Schwierig ist das kontinuierliche Partikelmonitoring unter den Bedingungen des Steriltests, da hier das Personal permanent unter Laminarflow

(LF) arbeitet, die ganze Zeit also in die Reinraumklasse A eingreift und so Partikel erzeugt, eingebracht und verwirbelt werden können. Im Gegensatz dazu ist das Partikelmonitoring in der Produktion in den Zeiten, in denen keine Eingriffe erfolgen, deutlich weniger anfällig für Artefakte. Bei der aseptischen Abfüllung von Pulvern ist grundsätzlich mit Partikeln aus dem Produkt selbst zu rechnen, hier müssen ggf. Kompromisse bei der Platzierung der Sonden in Kauf genommen werden.

Bei der kontinuierlichen Partikelmessung wird pro Zeiteinheit ein definiertes Volumen Luft geprüft. Gemäß einer Risikobewertung wird vorab eine Zeit definiert, bei der ein Alarm über das Monitoringsystem ausgelöst wird. Treten Alarme auf, sind z. B. folgende Maßnahmen/Prüfungen in Betracht zu ziehen, um die Ursache zu ermitteln und den Fehler zu beheben:

Zuerst wird geprüft, ob das Messsystem einwandfrei arbeitet, ggf. die Messsonde verunreinigt ist oder Partikel artifiziell erzeugt wurden. Dies ist aber in nahezu geschlossenen Restricted-Access-Barrier-System(RABS)-Anlagen und Reinräumen, in denen die Arbeiten wie das Abfüllen automatisch erfolgen und bei denen praktisch kein Eingriff durch Personal erfolgen darf, eher unwahrscheinlich. Bei Eingriffen und Desinfektionsschritten nach Eingriffen sollten die Sonden abgedeckt sein und vor dem Wiederanfahren der Anlage ist die Zeit einzuhalten, die benötigt wird, um den Reinraum wieder in die vorgesehene Reinraumklasse zu versetzen.

Danach ist zu prüfen, ob die Sicherheitswerkbank/LF-Einheit einwandfrei funktioniert und welche Arbeiten in betreffenden Bereichen durchgeführt wurden (z. B. löst Abflammen von Kunststoff, wie es bei der Sterilprüfung praktiziert wird, Alarme aus), ob in unmittelbarer Nähe zur Sonde eine Sprühdesinfektion durchgeführt wurde, die Druckkaskade aufrechterhalten wurde, die Mitarbeiteranzahl im Raum der definier-

ten maximalen Belegung entspricht oder ob atypisch viel Personal im Raum anwesend war. Die Materialien im betroffenen Bereich werden daraufhin überprüft, ob es hier ein potenzielles Risiko für den Partikeleintrag gibt. Ebenso werden Arbeiten, bei denen Partikel erzeugt oder verteilt werden können, untersucht. Das können z. B. das Nachfüllen von Material wie Stopfen oder auch das Öffnen von Sterilverpackungen unter LF sein. Zudem kann eine Trend-Kontrolle des Monitoringsystems durchgeführt werden, um mögliche negative Beeinträchtigungen an den Filtersystemen frühzeitig, z. B. durch einen kontinuierlichen Anstieg der Partikelzahlen, erkennen zu können.

Ein diskontinuierliches Partikelmonitoring wird in den an die Reinraumklasse B angrenzenden Reinraumbereichen wie Schleusen bzw. den Räumen der Reinraumklasse C oder D (bei kritischen Produktionsprozessen oder Produkten) eingerichtet. Das Monitoring ist auch hier zur Überwachung der Filterintegrität erforderlich, kann aber ggf. auch Hinweise auf Eintragswege von partikelgetragenen Keimen bzw. Partikeln in die Klassen A/B geben.

Diskontinuierliche Messungen werden nicht mit stationären Einrichtungen durchgeführt, sondern i. d. R. mit einem mobilen Gerät. Dies bietet den Vorteil, dass z. B. bei der Ursachenforschung zu Abweichungen verschiedene Stellen im Raum untersucht werden können. Für das Routinemonitoring sind aber die in der Qualifizierung ermittelten und festgelegten Messpunkte zu nutzen, damit die Messergebnisse zur Bewertung des Lüftungssystems vergleichbar bleiben und eine sinnvolle Trendauswertung erfolgen kann. Im Zuge der Requalifizierung von Reinräumen werden nach einer auf Basis der Qualifizierung erstellten Risikobetrachtung zusätzliche Messungen der Partikel in allen Klassen durchgeführt. Grenzwerte für das Partikelmonitoring sind im Annex 1 aufgeführt (Tab. 1):

¹⁾ HVAC = Heating, Ventilation and Air Conditioning.

■ **Tabelle 1**

Grenzwerte für das Partikelmonitoring laut Annex 1 [3].

Reinraumklasse (RRK)	In operation (EU-GMP-Leitfaden)		At rest (EU-GMP-Leitfaden)	
	$\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	$\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	$\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	$\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$
A	3 520	20	3 520	20
B	352 000	2 900	3 520	29
C	3 520 000	29 000	352 000	2 900
D	nicht definiert	nicht definiert	3 520 000	29 000

Im Draft des überarbeiteten Annex 1 wird nur noch auf die Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$ eingegangen, Grenzen für $\geq 5 \mu\text{m}$ sind nicht mehr festgelegt.

“5.25 For classification, the airborne particles equal to or greater than $0.5 \mu\text{m}$ should be measured. This measurement should be performed both at rest and in operation.” [1]

Werden die Grenzwerte bei der Messung mit einem mobilen Gerät überschritten, wird die Messung üblicherweise wiederholt, um Messfehler ausschließen zu können. Dies ist plausibel, da bei den Messungen immer Artefakte auftreten können. Sind die Wiederholungsmessungen auch außerhalb der spezifizierten Warn- bzw. Aktionsgrenzen, muss von einem Defekt der Filter oder anderen systematischen Fehlerquellen ausgegangen werden, die einen maßgeblich negati-

ven Einfluss auf den Zustand der Reinräume haben können. Wenn die Werte bei wiederholter Messung nicht entsprechen, können folgende Maßnahmen in Betracht kommen, die wie andere Abweichungen auch nach einem definierten Abweichungsprozess zu untersuchen und zu dokumentieren sind:

Zuerst muss überprüft werden, ob das Messgerät kalibriert ist und einwandfrei arbeitet, ggf. die Messsonde verunreinigt ist, was in der Praxis häufiger vorkommen kann. Eine kurzfristige Überprüfung kann dann z. B. durch Vergleichsmessungen in anderen Räumen erfolgen. Es muss sicher festgestellt werden, ob die Messung korrekt durchgeführt wurde oder ob der Operator möglicherweise falsch gemessen hat oder sogar Partikel, die von ihm stam-

men, vom Messgerät detektiert wurden.

Wenn sichergestellt ist, dass das Messgerät einwandfrei arbeitet und es nicht zu artifiziellen Kontaminationen gekommen ist, muss von einem Fehler in der Lüftungstechnischen Anlage ausgegangen werden, dies kann ein Defekt der Filter sein oder die Druckkaskade zwischen den einzelnen Reinraumklassen konnte nicht aufrechterhalten werden und den definierten Differenzdruck einhalten.

2. Mikrobiologisches Monitoring

Im Reinraum ist eine regelmäßige Sterilisation, wie z. B. im Isolator, nicht möglich. Die hier üblicherweise angewendete Sprühdeseinfektion mit einem Sporen abtötenden Desinfektionsmittel hat die Nachteile, dass nicht jede „Ecke“ erreicht werden kann und die Desinfektionsmittel die Oberflächen stark beanspruchen.

Ob das Rüsten und die nachfolgende Desinfektion erfolgreich waren, wird im Rahmen des Routinemonitorings überprüft (Tab. 2). Dabei wird auch kontrolliert, ob Keime über die verschiedenen Eintragswege über die Lüftung, das Personal oder Materialien während des Betriebs

Kalibrierung,
Qualifizierung,
Validierung &
GxP-Services

Testo Industrial Services GmbH
gmp@testotis.de · Fon 07661 90901-8000

www.testotis.de



Be sure. **testo**

Mehr Service, mehr Sicherheit.
Full Service für Ihre GMP Compliance und Ihre Reinräume.

■ **Tabelle 2**

Die Monitoringfrequenzen sind nur als Richtwert zu verstehen und müssen risikobasiert für jede Abfülleinrichtung individuell festgelegt werden.

	RRK D	RRK C	RRK B	RRK A
Luftkeimzahlmessung aktiv	monatlich bis vierteljährlich	täglich (kritische aseptische Fertigung) bis vierteljährlich	während der Chargenfertigung ggf. nach kritischen Prozessschritten	chargenbezogen zu Beginn und ggf. Ende einer Charge
Luftkeimzahlmessung Sedimentationsplatten	monatlich bis vierteljährlich	täglich (kritische aseptische Fertigung) bis vierteljährlich	chargenbezogen	chargenbezogen, über die Herstellung der Charge, max. Standzeit 4 Std., dann Plattenwechsel
Oberflächenabklatsch Anlage, Maschinen, Wände, Vorhänge, Einhausung der Anlage	monatlich bis halbjährlich je nach Risiko der Fertigung	wöchentlich (aseptische Fertigung) bis vierteljährlich, je nach Risiko der Fertigung	nach dem Rüsten vor dem Desinfizieren/Sterilisieren, am Ende einer Schicht, nach kritischen Prozessschritten, während der Nutzung	nach dem Rüsten vor dem Desinfizieren/Sterilisieren, am Ende einer Schicht, nach kritischen Prozessschritten, während der Nutzung
Oberflächenabklatsch Boden	monatlich bis halbjährlich je nach Risiko der Fertigung	wöchentlich (aseptische Fertigung) bis vierteljährlich, je nach Risiko der Fertigung	eine bis mehrere Messungen arbeitstäglich	eine bis mehrere Messungen arbeitstäglich
Personal: Fingerprints, bei kritischen aseptischen Prozessen, wie direkte Eingriffe durch Personal in die RRK A bei der Sterilprüfung oder dem Compounding	n. a.	n. a.	chargenbezogen und nach kritischen Tätigkeiten/Eingriffen, nach dem Rüsten der Anlage mindestens Anfang und Ende einer Schicht	
Personal: Unterarmstulpen, bei kritischen aseptischen Prozessen, wie direkte Eingriffe durch Personal in die RRK A bei der Sterilprüfung oder dem Compounding	n. a.	n. a.	chargenbezogen und nach kritischen Tätigkeiten/Eingriffen, nach dem Rüsten der Anlage mindestens Anfang und Ende einer Schicht	
Personal (Haube, Reinraumoverall)	n. a.	n. a.	bei besonders kritischen Produkten/Prozessen täglich bei Schichtende, sonst in größeren Intervallen, z. B. einmal pro Monat grundsätzlich im Prozess der Requalifizierung der Mitarbeiter alle 6 bzw. 12 Monate, je nach Festlegung	

n. a. = nicht anwendbar.

eingebraucht worden sind und ob die Reinigungs- und Desinfektionsverfahren ausreichend sicher gewirkt haben. Ebenso wird kontrolliert, ob Eingriffe während der Produktion adäquat, d. h., unter Beachtung der aseptischen Grundsätze erfolgt sind und so die definierte Reinraumklasse über die Zeit der Abfüllung bzw. Herstellung hinweg aufrechterhalten werden konnte. Bei aseptisch hergestellten Produkten gehören auch diese Daten direkt zur Chargendokumentation und müssen bei der Frei-

gabe mit berücksichtigt werden, da sie ein wichtiger Beleg dafür sind, dass die vorgegebenen aseptischen Bedingungen während der Herstellung eingehalten wurden.

Der Zeitpunkt der Probenahme hängt vom Untersuchungszweck ab. Zur Ermittlung des Status quo werden die Proben direkt nach dem Rüsten der Anlage vor der finalen Desinfektion, wo immer dies möglich ist, während der laufenden Produktion und am Ende der Herstellung/Abfüllung gezogen. Aus Sicherheitsgründen wer-

den bei der aseptischen Abfüllung Muster nicht während der laufenden Abfüllung, sondern nach dem Rüsten bzw. zu Beginn und am Ende der Schicht sowie nach Eingriffen in den Reinraumbereich A genommen.

3. Mikrobiologisches Monitoring der Luft

Die aktive Luftkeimsammlung wird diskontinuierlich durchgeführt und wird daher zur Betrachtung des Zustands zu einem bestimmten Zeit-

Zur Verwendung mit freundlicher Genehmigung des Verlages / For use with permission of the publisher

raum herangezogen, dies kann der Zustand nach dem Rüsten der Anlage und nach Abschluss der Abfüllung sein.

Für die aktive Luftmessung können unterschiedliche Geräte verwendet werden. Die Geräte ermöglichen eine quantitative Abscheidung der luftgetragenen Mikroorganismen aus einem definierten Volumen Luft. Dabei werden die luftgetragenen Keime auf den darin befindlichen Luftkeimindikator aufgeschleudert. Als Nährmedien werden z. B. RCS-Streifen²⁾ oder Agarplatten zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl verwendet. Diese Nährmedien eignen sich zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl aerober und fakultativ anaerober Bakterien und Pilze in der Luft. Bei Bedarf können auch Spezialmedien zur Bestimmung von Hefen und Schimmelpilzen zum Einsatz kommen.

Die Überprüfung mittels Sedimentationsplatten wird im Gegensatz zur aktiven Luftkeimzahlkontrolle kontinuierlich über den Zeitraum der Abfüllung durchgeführt, um eine Stichprobe zum Status der Luft im Reinraumbereich auch während des laufenden Prozesses zu haben. Die Daten können auch ein Bild über mögliche Eintrittswege von Keimen in die Abfüllanlage aufzeigen. Zur Luftkeimzahlbestimmung werden i. d. R. Trypticase-Soja-Agar-Platten, die einen geeigneten Enthemmerzusatz enthalten können, verwendet. Bei Bedarf können auch Spezialnährmedien, wie z. B. Sabouraud-Agar, zur Schimmelpilzbestimmung genutzt werden.

Die aktive Luftkeimmessung ist der aussagekräftigere Parameter, wenn die Qualität der Lüftungsanlage und die Gesamtkeimbelastung der Luft unter dem LF bewertet werden soll, da hier die Gesamtkeimzahl in einem definierten Volumen bestimmt werden kann und durch die

aktive Ansaugung eine größere Wahrscheinlichkeit gegeben ist, potenziell in der Luft vorhandene Keime zu detektieren. Die passive Messung mittels Sedimentationsplatten kann an kritischen Punkten zusätzliche Informationen geben, z. B. ob bei Eingriffen an kritischen Stellen der Produktionseinrichtung Keime durch das Personal eingebracht worden sind. Dies ist z. B. zur Überprüfung des Rüstens der Anlage und bei aseptischen Umschlüssen erforderlich. Hierzu verbleiben die Platten beim Eingriff selbst geöffnet, werden anschließend für die Desinfektion nach dem Eingriff abgedeckt und dann wieder geöffnet oder zur Bebrütung und Auswertung entnommen und durch neue Platten ersetzt.

Die Standzeit beträgt max. 4 Stunden [3]. Bei Schichtwechsel sollten die Sedimentationsplatten ausgetauscht werden, auch wenn diese noch keine 4 Stunden verwendet worden sind. Die maximale Standzeit für die Platten von 4 Stunden ist zu validieren, damit mögliche Effekte wie das Austrocknen unter LF-Strömung usw. vermieden werden können. Bei der Oberflächendesinfektion ist darauf zu achten, dass das verwendete Desinfektionsmittel nicht auf die Sedimentationsplatte gelangt, zudem können geeignete Enthemmer gegen das verwendete Desinfektionsmittel eingesetzt werden, deren Wirksamkeit dann in Validierungsstudien nachzuweisen ist.

4. Keimzahl in Druckluft und anderen Gasen

Diese Untersuchungen können mit den Geräten für die aktive Luftkeimzahlbestimmung durchgeführt werden, wenn diese mit einem geeigneten Adapter an die Gasleitungen angeschlossen werden können. Die zulässigen Grenzwerte orientieren sich dabei an denen der aktiven Luftkeimzahlbestimmung in der Reinraumklasse A, da die Gase i. d. R. produktberührend sind. Zusätzlich sollte ggf. auf Anaerobier geprüft werden.

²⁾ RCS®: Luftkeimsammler nach dem Prinzip der Zentrifugal-Impaktion nach Reuter (Warenzeichen der Fa. Merck).

YOU CAN
COUNT ON ME.
schuett colonyQuant

For automated colony counting
In a matter of seconds
Fast • Precise • Individual



Routine analysis with only „2 clicks“

COUNT ON

The *schuett colonyQuant* is able to count up to 400 Petri dishes per hour with up to 1.000 colonies per Petri dish.

SIMPLE, SELF-EXPLANATORY OPTIMISATION

The *schuett colonyQuant* enables Individual presetting of setcards. Switch over by mouse click from agar plates to filter discs, to spiral plating or to inhibition zone analysis etc.

TEAMPLAYER

The *schuett colonyQuant* is an indispensable employee. Reproducible results with exact documentation.

THE ONLY ONE

The *schuett colonyQuant* is unique. Its development represents a quantum leap in colony counting ... and worldwide.

IN FOCUS

Its convenient 3-level-image-system enables the *schuett colonyQuant* to bring even the smallest or most indistinct bacterial colonies into focus.

INDIVIDUAL

AddOn software features, added according to requirements. We configure the *schuett colonyQuant* specifically for your requirements by individualizing it for you with our modular system.

SPECIAL FEATURES

- 21 CFR Pt. 11-compliant
- PLC Interface i.e. to Bioburden Robot System

You will only buy what you really need.



More information:
colonyQuant.de

schuett biotec.de

schuett-biotec GmbH
Rudolf-Wissell-Str. 13
37079 Göttingen

+49 (0) 551 / 5 04 10-0
+49 (0) 551 / 5 04 10-99
info@schuett-biotec.de
schuett-biotec.de

5. Mikrobiologisches Monitoring von Oberflächen

Die Ergebnisse des Monitorings auf den Oberflächen zeigen den Zustand des Reinraums. Ein gutes Oberflächenmonitoring ist allerdings kein „Freibrief“ für eine mikrobiologisch einwandfreie Charge, da das Monitoring i. d. R. nicht direkt an den kritischen Stellen in der Abfüllanlage, den produktberührenden Teilen, erfolgen kann. Jede Monitoring-Probenahme birgt ein Kontaminationsrisiko und daher können die direkt produktberührenden Teile nicht im Monitoring nach der finalen Desinfektion vor der Abfüllung berücksichtigt werden. Die Monitoringfrequenzen sind aus der Risikobetrachtung für das zu fertigende Produkt und unter Berücksichtigung der Reinraumklassen, Produktions- bzw. Prüfschritte in den jeweiligen Reinraumbereichen abzuleiten.

Für das Monitoring von Oberflächen werden je nach Einsatzzweck verschleißbare Replicate-Organism-Detection-and-Counting(RODAC)-Platten oder flexible Agarmedien verwendet. In der Regel werden Abklatschmedien mit Zusatz von Enthemmer, wie z. B. Histidin, Lecithin, Tween 80, eingesetzt, da mit Desinfektionsmittelrückständen auf den zu untersuchenden Oberflächen zu rechnen ist. Für unzugängliche Stellen oder abgerundete Flächen, an der die starren Abklatschmedien nicht eingesetzt werden können, kommen sterile Tupfer zum Einsatz. Bei trockenen Oberflächen müssen die Tupfer zunächst angefeuchtet werden, dies kann mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung oder durch Eintauchen in das Trägermedium im Röhrchen der Tupfer erfolgen. Die zu untersuchende Oberfläche wird gleichmäßig mit dem Tupfer abgestrichen, ggf. kann dazu auch eine sterile Schablone verwendet werden.

Sollen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren und -erfolge beurteilt werden, findet die Probenahme direkt nach Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen unter Berücksich-

tigung der Einwirkzeiten von Desinfektionsmitteln statt.

Die Probenahme für das Hygienemonitoring im Reinraum ist in einer SOP zu beschreiben, die sowohl die durchzuführenden Tätigkeiten als auch die Materialien, Probenahmetechniken usw. beschreiben muss. Die Probennehmer haben sich an die für den Sterilraum geltenden Bekleidungs- und Verhaltensvorschriften zu halten und müssen entsprechende Qualifizierungsverfahren durchlaufen haben. Die getragenen Handschuhe sind vor der Probenahme mit einem geeigneten Desinfektionsmittel zu desinfizieren, außer der mikrobiologische Zustand der Handschuhe selbst soll mittels Monitorings überprüft werden.

Alle Nährmedien sollten vor Untersuchungsbeginn visuell auf eventuelle Austrocknung oder Kontamination kontrolliert werden. Ebenso ist die zulässige Verwendungsdauer der eingesetzten Nährmedien zu prüfen. Visuell auffällige Platten und Platten, deren Agaroberfläche vor der Probenahme berührt wurde, sind vor Verwendung zu verwerfen. Es ist darauf zu achten, dass vor und nach den Untersuchungen die Nährmedien nicht berührt werden, um Kontaminationen durch das Probenahmepersonal zu vermeiden. Nach der Probenahme wird die Vollständigkeit der Agarplatten kontrolliert und dokumentiert. Dies ist notwendig, da vergessene Probenahmen nicht mehr nachgeholt werden können und dies eine Abweichungsbearbeitung und gesonderte Bewertung erforderlich macht.

Die Warn- und Aktionsgrenzen werden z. B. in Anlehnung an den Annex 1 des EU-GMP-Leitfadens [3] oder der United States Pharmacopoeia Chapter <1116> [4] festgelegt. Sie sind beispielhaft in Tab. 3 zusammengestellt. Für das Hygienemonitoring gelten die Grenzwerte für Räume in operation:

Für das Personalmonitoring ist eine Händedesinfektion vor Abnahme der Abklatschmuster strikt zu unter-sagen. Die Probenahme der Finger kann bei aseptischen Arbeiten, z. B. di-

rekt nach Erreichen des Arbeitsplatzes durchgeführt werden, um die Einschleusung abzudecken. Nach dem Rüsten der Anlage ist bei aseptischen Abfüllungen ein Monitoring vorzusehen, um belegen zu können, dass die Handschuhe des Personals frei von Kontaminationen waren. Während der Arbeitsschicht werden Fingerprint-Proben nach Eingriffen genommen oder nach Tätigkeiten, die wiederum kritisch sind für die Verteilung potenziell auf den Handschuhen vorhandener Mikroorganismen. Eine weitere Probenahme erfolgt i. d. R. vor dem Verlassen des Reinraums. Insbesondere das Monitoring der Finger und Unterarme des Personals muss ein lückenloses Bild über den Herstell-/Abfüllprozess ergeben, da manuelle Tätigkeiten das größte Risiko darstellen, Mikroorganismen im Reinraum zu verteilen. Diese können von unterschiedlichen Oberflächen auf die Handschuhe gelangen und so weitertransportiert werden, oder das Personal kontaminiert die Finger durch Berührung mit der Oberfläche der Reinraumkleidung oder über nicht völlig abgedeckte Hautareale. Zwar sollte dies durch Training auf ein Minimum reduziert sein, wie bei allen manuellen Tätigkeiten gibt es dafür aber keine 100%ige Sicherheit. Es kann immer in Einzelfällen zur Kontamination der Oberfläche der Reinraumkleidung beim Einschleusen kommen oder die Kleidung verrutscht während der Tätigkeit im Reinraum.

Die Probenahme des Prüfpersonals für den Sterilttest oder des mit Compoundingarbeiten betrauten Personals erfolgt direkt unter einer LF-Einheit der Reinraumklasse A, da, wo die manuellen Tätigkeiten ausgeführt werden. Die Mitarbeiter in der Produktion, die während der Herstellung oder nach dem Rüsten bzw. nach der Abfüllung eine Monitoringprobe abzugeben haben, nehmen ihre Abklatsche i. d. R. im Hintergrundbereich (Reinraumklasse B).

Neben den Fingerprints sind weitere Proben im Personalmonitoring abzunehmen. Die bei aseptischen Arbeiten üblichen Abklatsche an den Un-

terarmen führt jeder Mitarbeiter i. d. R. selbst durch. Sonstige Abklatsche am Personal sollten jeweils durch einen zweiten Mitarbeiter durchgeführt werden. Die Agarfläche muss für ca. 3–5 Sek. mit möglichst gleichmäßigem Druck an der Reinraumbekleidung abrollen. Dabei ist darauf zu achten, dass die Bekleidung nicht „durchgeweicht“ wird, da sonst Keime von der Unterbekleidung oder der Haut abgenommen werden könnten. Das „beprobte“ Personal muss sich nach der Probenahme neu ankleiden, da möglicherweise Nährmedienreste an der Bekleidung zurückbleiben bzw. durch die Feuchte der Medien die Barrierefunktion der Kleidung nicht gewährleistet werden kann. Bei Abklatschen am Unterarm reicht ein Wechsel der Unterarmstulpen aus. Grenzwerte für Warn- und Aktionslevel im Personalmonitoring sind in Tab.4 aufgeführt.

6. Inkubation und Auswertung der Monitoringproben

Nach der Bemusterung werden die Monitoringmedien inkubiert, dabei erfolgt die aerobe Bebrütung der Abklatsch- und Sedimentationsplatten z. B. für mindestens 3 Tage bei $22,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$ und anschließend mindestens zwei weitere Tage bei $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$. Die anaerobe Bebrütung der Fingerprints erfolgt für mindestens 5 Tage bei $36\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Nach der Bebrütung erfolgt die Auszählung der koloniebildenden Einheiten (KBE) auf den Medien pro Platte. Für die aktive Luftkeimzahlbestimmung erfolgt ggf. eine Hochrechnung auf KBE/m^3 Luft. Die Keimbefunde in der Reinraumklasse A und ggf. in der Klasse B werden bis zur Speziesebene identifiziert. Bei Befunden in den Reinraumklassen C und D ist üblicherweise eine Identifizierung bis zur Gattungsebene ausreichend. Hier kann eine Identifizierung bis zur Speziesebene im Zusammenhang mit einer Ursachenforschung bei der Bearbeitung von Abweichungen hilfreich sein. Eine Identifizierung der Keime bis zur Speziesebene sollte für folgende Messstellen immer erfolgen:

- alle Personenabklatsche des Routinemonitorings
- alle Abklatsche und Luftkeimzahlbestimmungen der RRK A
- alle Abklatsche und Luftkeimzahlbestimmungen der RRK B
- wenn eine Verletzung der Warn- oder Aktionsgrenze vorliegt

Im Falle der Ursachenforschung im Rahmen einer Abweichungs- oder Out-of-Specification(OOS)-Bearbeitung oder bei einer nicht bestandenem Me-

www.reinraum.info

Unsere Leistungen

- ➔ **Beratung & Service**
- ➔ **Messtechnische Prüfungen**
nach ISO 14644, VDI 2083 und EU-GMP
- ➔ **Druckluftqualifizierungen**
nach ISO 8573
- ➔ **Strömungsvisualisierungen**
- ➔ **Mikrobiologisches Monitoring**
- ➔ **Kalibrierung von Reinraum-Messgeräten**
- ➔ **Wartung von Sicherheitswerkbänken, Isolatoren und Wägekabinen**
- ➔ **Verkauf von Reinraummesstechnik**
- ➔ **Personalschulungen**

... wir kennen uns aus!

BSR Ingenieur-Büro
BSR Messtechnik GmbH

Marienstraße 156

68794 Oberhausen-Rheinhausen

Tel. Zentrale: +49 7254 - 95 95 9-0

Fax: +49 7254 - 95 95 9-29

e-Mail: service@reinraum.info
labor@reinraum.info

Internet: www.reinraum.info



■ **Tabelle 3**

Umsetzung der mikrobiologischen Grenzwerte nach Annex 1 [3,36] in Aktions- und Warngrenzen für das mikrobiologische Monitoring.

RRK	KBE in Luft/m ³ bzw. Sedimentationsplatte 4 Std.		KBE auf Oberflächen/25cm ²			
	Warngrenze	Aktionsgrenze	Warngrenze		Aktionsgrenze	
A	1	1	1		1	
B	5	10	Sonst.:	1	Sonst.:	3
			Boden:	3	Boden:	5
C	25	50	Sonst.:	5	Sonst.:	10
			Boden:	15	Boden:	25
D	50	100	Sonst.:	15	Sonst.:	20
			Boden:	25	Boden:	50

■ **Tabelle 4**

Umsetzung der mikrobiologischen Anforderungen des Annex 1 [3, 36] in Warn- und Aktionsgrenzen für das Personalmonitoring.

Probenahmestelle	KBE auf Oberflächen/25cm ²	
	Warngrenze	Aktionsgrenze
Hand (aerob und anaerob)	1	1
Unterarm	1	3
Oberarm	3	5
Bauch	3	5
Brustbereich	3	5
Haube	3	5
Schuhsohle	3	5
Oberschenkel	3	5

dienabfüllung kann es für eine angemessene Ursachenanalyse sinnvoll sein, die Keime aus anderen Befunden bis zur Speziesebene zu identifizieren, auch wenn keine Verletzungen der Warn- oder Aktionsgrenzen vorliegen. Bewachsene Abklatsch- und Sedimentationsplatten sollten aufbewahrt werden, um dies ermöglichen zu können. Ein angemessener Zeitraum kann bei der Herstellung steriler Produkte ein Zeitraum von 4 Wochen nach dem Ansetzen des Steriltests sein, da dieser i. d. R. den finalen mikrobiologischen Test für die Bewertung der Chargen darstellt und mindestens 14 Tage – wenn eine Subkultur angelegt werden muss, mindestens 21 Tage – bis zur Ergeb-

nisfeststellung benötigt. Bei einer Aufbewahrungszeit von 4 Wochen ist dieser Zeitraum inkl. eines Sicherheitspuffers abgedeckt. Die Lagerung der Platten sollte bei 2–8 °C erfolgen.

7. Maßnahmen bei Abweichungen

Die Warn- und Aktionsgrenzen ergeben sich aus den Anforderungen des Annex 1 (Tab. 3). Die Warn- und insbesondere die Aktionsgrenzen der unterschiedlichen Reinraumklassen sollten zu jedem Zeitpunkt eingehalten werden. Bei Überschreitungen sind die Abweichungen zu analysieren und zu bewerten und es müssen Maßnahmen zur Korrektur oder prä-

ventive Maßnahmen zur zukünftigen Vermeidung festgelegt werden.

Bei Abweichungen von den Vorgaben ist zu untersuchen, wie

- die Kontamination zustande gekommen ist und
- welche Auswirkung sie auf den mikrobiologischen Status der Abfülleinrichtung hatte.

Eine Abweichung im Oberflächenmonitoring ist umso kritischer, je näher sie am offenen Produkt oder an offenen Primärpackmitteln bzw. Oberflächen, auf denen z. B. Stopfen zur Abfüllanlage geführt werden, detektiert wurde. Es muss bei aseptischen Verfahren immer die Frage gestellt werden, ob Keime in das Produkt gelangen können. Dies kann durch Übertragung durch Personal oder Geräte oder die Luftströmung erfolgen. Mögliche Kontaminationswege sollten daher im Zuge der Abweichungsbearbeitung unbedingt diskutiert werden.

Im Draft des Annex 1 [1] wird zwischen Non-Conformities, also Abweichungen, die die Qualität des Produkts direkt infrage stellen, weil sie direkt mit der Produktion der Charge in Verbindung gebracht werden können und zwischen Abweichungen von etablierten Prozessen, die sich auch auf andere Chargen oder Produkte beziehen könnten, unterschieden.

„3.2 Investigations should be performed into non-conformities, such as sterility test failures or environmental monitoring excursions or deviations from established procedures, with a specific focus regarding the potential impact to sterility, to not only the specific batch concerned but also any other potentially impacted batch. The reasons for including or excluding product from the scope of the investigation should be clearly recorded and justified within the investigation.“

In der Praxis ist der Übergang fließend und die Unterscheidung zu einem gewissen Grad rein formal oder akademisch. Während eine einmalige Überschreitung einer Warngrenze i. d. R. unproblematisch ist und keine weiteren Aktionen erforderlich

macht, ist bei einer mehrmaligen Überschreitung einer Warngrenze und bereits bei einer einmaligen Überschreitung einer Aktionsgrenze eine Untersuchung erforderlich. Dies gilt insbesondere für die Reinraumklasse A, wenn hier aseptische Arbeiten erfolgen. Dabei können folgende Maßnahmen in Betracht gezogen werden:

Es sollte grundsätzlich eine zeitnahe Befragung der Mitarbeiter durchgeführt werden. Natürlich besteht die Verpflichtung, Besonderheiten und Auffälligkeiten bei der Produktion bzw. Prüfung zu dokumentieren, allerdings wird oft vermeintlich unkritischen Dingen wenig Beachtung geschenkt. Erst im Zusammenhang mit einer Abweichung wird z. T. deren Bedeutung ersichtlich, daher ist die zeitnahe Befragung ein wichtiger Punkt in der Klärung der Ursachen.

Bei der Prüfung auf Sterilität, die im Reinraum stattfindet, ist zu evaluieren, ob Auswirkungen auf Prüfergebnisse feststellbar sind. Sind alle Ergebnisse der Prüfungen, die innerhalb des betroffenen Zeitraumes durchgeführt wurden, steril, kann man sich im weiteren Verlauf auf die Ursachenforschung und Festlegung möglicher CAPA-Maßnahmen konzentrieren. Sind Prüfungen nicht steril, muss die Abweichung dahingehend bewertet werden, ob sie die Ursache für eine falsch positive Prüfung ist.

Für die Bewertung einer Aktionswertüberschreitung ist eine Identifizierung der gefundenen Keime zumindest in den Reinraumklassen A und B erforderlich. Eine Risikobetrachtung, die die möglichen Eintrittswege nochmals beleuchtet, ist sinnvoll. Auch wenn diese bereits im Rahmen der Initialqualifizierung erfolgte und bei Requalifizierungen regelmäßig überarbeitet wird, ist sie bei Abweichungen in die Bewertung mit einzubeziehen. Abweichungen stellen den qualifizierten Zustand der Anlage bzw. des Reinraums infrage, die Ursachenforschung ist gewissermaßen ein Bestandteil der kontinuierlichen Fortführung der Qualifizierung. Es ist also sinnvoll zu überprüfen, ob die vorgesehenen

Maßnahmen zur Vermeidung von mikrobiologischen Kontaminationen ausreichend zuverlässig arbeiten. Es muss geklärt werden, ob nur im Einzelfall, der bei aseptischen Arbeiten immer wieder auftreten kann, diese „ausgehebelt“ wurden oder ob ein systematisches Problem besteht, das behoben werden muss.

Hilfreich ist ein Flussdiagramm der Material- und Personalflüsse oder eine Visualisierung der möglichen Eintragswege. Die einzelnen Verfahren, die eine Eintragung von Keimen verhindern sollen, sind nochmals zu hinterfragen. Sehr oft findet man bei der Bewertung der Verfahren, dass sie validiert seien und daher ein Eintrag auszuschließen sei. Dies ist leider keine ausreichende Begründung, um einen Eintragsweg als Ursache für eine Aktionswertüberschreitung auszuschließen. Eine Validierung oder Qualifizierung ist eine Momentaufnahme. Bei aseptischen Arbeiten ist im Einzelfall immer eine Kontamination oder ein Verschleppen von Mikroorganismen möglich. Daher sollte jede Aktionswertüberschreitung so gewissenhaft überprüft werden wie bei der initialen Risikobewertung.

Dazu gehören auch die Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionssystems, Überprüfung der isolierten (und identifizierten) Keime auf erhöhte Desinfektionsmittelresistenz sowie die Überprüfung der Sterilisations- und Desinfektionsverfahren für den Materialtransfer in den Reinraum.

Nach einer Abweichung kann es erforderlich sein, das Hygienemonitoring zu intensivieren, wenn die Ursachen nicht eindeutig geklärt werden konnten. Eine erneute Schulung der Mitarbeiter kann erforderlich werden, wenn die Überschreitung auf mangelhaftes aseptisches Arbeiten von Personal zurückzuführen ist. Es kann auch notwendig sein, das betroffene Personal für weitere Arbeiten im Reinraum zu sperren, bis eine erfolgreiche Requalifizierung bestanden wurde.

Natürlich ist auch die lüftungstechnische Anlage zu überprüfen, insbesondere die Einhaltung der Dif-



Zuverlässig. Intuitiv. Sicher.

BRIEM Monitoring

Modulare, GMP-konforme Lösung für die Überwachung aller relevanten Parameter in der Reinraum- und Laborumgebung.



Maximale Sicherheit für höchste Ansprüche:

BRIEM Monitoring Software

BRIEM Feldgeräte

BRIEM Services

Rein-schauen lohnt sich!

Unsere Experten stellen Ihnen in einem exklusiven und persönlichen Termin unser Monitoring System unter realen Bedingungen vor. Und das bequem von Ihrem Schreibtisch aus.

Zusätzlich bieten wir Infos zu folgenden spannenden Themen:

Annex 1: Was ist neu?

Datenintegrität

Monitoring Software 1x1

Bequem.
Exklusiv.
Persönlich.

Buchen Sie
Ihren kostenlosen
ONLINE-TERMIN
demo.briem.de

BRIEM Steuerungstechnik GmbH
www.briem.de

Zur Verwendung mit freundlicher Genehmigung des Verlages / For use with permission of the publisher

ferenzdrücke und der Zustand der Filter. Treten hier Fehler auf, sind dies normalerweise systematische Fehler, die oftmals gut zu detektieren sind.

Ist die Ursache für die Abweichung festgestellt worden, muss bewertet werden, ob auch andere Chargen, die unter gleichen Bedingungen gefertigt wurden, davon betroffen sein könnten, ohne dass hier eine Aktionswertüberschreitung detektiert wurde, da das Monitoring, wie oben bereits erläutert, keine 100%ige Aussage zulässt und nur eine (nicht repräsentative) Stichprobe darstellt. Jede Abweichung in Form einer mehrmaligen Warnwert- oder einmaligen Aktionswertüberschreitung stellt zumindest bei aseptischen Verfahren erst einmal die Sicherheit und die Validität des Verfahrens infrage. Im Zuge der Abweichungsbearbeitung muss somit auch differenziert werden, ob der Prozess sicher weitergeführt werden kann oder eine neue Risikobetrachtung des Prozesses zu erfolgen hat, ggf. unter Einbeziehung weiterer (Re-)Validierungsschritte wie einer erneuten Medienabfüllung.

8. Maßnahmen bei Abweichungen bei Medienabfüllungen

Die Bearbeitung der Abweichungen erfolgt analog der Vorgehensweise im vorangegangenen Abschnitt. Abweichungen im Hygienemonitoring bei den Medienabfüllungen sollten direkt mit den Abläufen während der Abfüllung abgeglichen werden, dazu müssen abgefüllte Vials den Abweichungen zeitlich und örtlich zugeordnet werden können. Die Dokumentation ist entsprechend auszulegen. Wenn eine Korrelation zwischen den simulierten Eingriffen, dem begleitenden Hygienemonitoring und den zu diesem Zeitpunkt abgefüllten Einheiten gegeben ist, können aussagekräftige Rückschlüsse auf das bestehende Risiko der untersuchten Manipulationen gezogen und kritische Prozessschritte erkannt werden. Daraus ist aber auch unschwer abzu-

leiten, dass der Umfang des Hygienemonitorings bei Medienabfüllungen größer sein sollte als bei der Routinefertigung.

9. Abweichungen beim Rüsten der Anlage

Das Rüsten der Anlage ist ein äußerst kritischer Schritt, wie schon oben erwähnt wurde. Hierbei ist die Gefahr des Eintrags von Mikroorganismen und der Verteilung von Mikroorganismen auf produktberührende Teile am größten. Außerdem sind viele produktberührende Oberflächen nach dem Rüsten nur noch mittels flüchtiger Desinfektionsmittel zu desinfizieren. Meist wird 70%iger Isopropylalkohol eingesetzt, der praktisch nur gegen vegetative Keime und nicht gegen Sporen wirksam ist. Die Grenzwerte für Warn- und Aktionslevel beim Rüsten sollten daher denen der später für die Produktion notwendigen Reinraumklasse entsprechen. Abweichungen hier sind insbesondere daraufhin zu untersuchen, ob die gefundenen Keime durch das Desinfektionssystem sicher abgetötet werden können (siehe Überprüfung der Desinfektionsmittel) und ob eine Übertragung in das Produkt respektive auf produktberührende Teile möglich wäre.

10. Trendauswertung

Trendauswertungen des Monitorings sind die wichtigste Informationsquelle für die Detektion von Schwachstellen im aseptischen System und die Grundlage für Verbesserungsmöglichkeiten. Die Daten des Hygienemonitorings werden dokumentiert und regelmäßig einer Trendauswertung unterzogen. Dabei sind einige Besonderheiten zu beachten. In den Reinraumklassen A und B sind mikrobiologische Überschreitungen eher die Ausnahme als die Regel, sodass eine statistische Bewertung der Daten fast nicht möglich oder sinnvoll ist. So kann in den Reinraumklassen A und B praktisch nur die Anzahl tatsächlich erfolgter Überschreitun-

gen der Warn- und Aktionsgrenzen berücksichtigt werden, da auch ein Anstieg von Keimen aufgrund der niedrigen Grenzwerte zwischen 1 und 5 KBE kein sinnvolles Auswertekriterium darstellt. In den anderen Reinraumklassen können Anstiege von Keimzahlen an den einzelnen Monitoringstellen durchaus schleichende Veränderungen im System anzeigen. Gegebenenfalls können aus den Trends schon frühzeitig Veränderungen am System erkannt und Maßnahmen eingeleitet werden, bevor es zu einer Aktionswertverletzung oder Keimverschleppungen bis in die Reinraumklasse A kommt.

Die Aufzeichnungen sollten hinsichtlich möglicher Trends oder Cluster/Bereiche, in denen sich Abweichungen häufen, kontinuierlich überprüft werden. Das heißt, ein geeignetes EDV-Tool zur Aufzeichnung, Visualisierung und Analyse von Trends ist sinnvollerweise zu etablieren. Abfragen sollten in diesem System in verschiedenen Richtungen möglich sein, da die Daten, die ggf. aus den unterschiedlichen Monitoringsystemen kommen, je nach Bedarf unterschiedlich betrachtet werden müssen. So können z. B. das Monitoring des Personals oder Luft und Oberflächen einzeln betrachtet werden, um die Systeme selbst bzw. der Schulungsstand der Mitarbeiter zu überwachen. Bei Abweichungen, Problemen bei der Medienabfüllung, möglichen OOS-Ergebnissen bei der Sterilprüfung usw. müssen die Daten dagegen im Zusammenhang gesehen und ausgewertet werden, um Ursachen für solche Abweichungen detektieren und geeignete CAPA-Maßnahmen einleiten zu können.

Regelmäßige Besprechungen zwischen der Produktionsabteilung, dem mikrobiologischen Labor und der Qualitätssicherung sind sinnvoll, hier sollten die Monitoringdaten und Trends gesichtet, mit vorgegebenen Grenzwerten verglichen und bewertet werden. Im Zuge der halbjährlichen Requalifizierung, mindestens aber einmal jährlich sollte ein Bericht über den Zustand der Reinräume und der

Validität der Prozesse und Verfahren für die Herstellung/Abfüllung erstellt werden. Hierbei sind alle Daten der (Re-)Qualifizierungen und (Re-)Validierungen, die Ergebnisse und Trends des Hygienemonitorings, die aus Abweichungs- und OOS-Bearbeitungen abgeleiteten CAPA-Maßnahmen sowie die Überprüfung der Wirksamkeit dieser Maßnahmen zu berücksichtigen. Der Bericht sollte ein Gesamtbild zum Zustand des gesamten Produktionsequipments und der Anlage ergeben. Die im Laufe des Betrachtungszeitraums gefundenen bzw. identifizierten Mikroorganismen können in einem „Hygienekataster“ aufgeführt und daraufhin untersucht werden, ob es Häufungen bei spezifischen Mikroorganismen (typischerweise vorkommende „Hauskeime“) gibt und wenn ja, worin die Ursache liegt. Gegebenenfalls muss die festgelegte Contamination Control Strategy überarbeitet und Desinfektions- und andere Verfahren entsprechend angepasst werden.

11. Prüfung auf ausreichende Entthemung (Wachstumskontrollen)

Die im Monitoring eingesetzten Medien enthalten normalerweise enthemmende Substanzen, um Desinfektionsmittelrückstände, die von den Oberflächen bei der Probenahme mit abgenommen werden könnten, zu neutralisieren. Daher sind Wachstumskontrollen der verwendeten Medien durchzuführen, um eine ausreichende Wirkung eingesetzter Entthemmer/Neutralisatoren gegenüber potenziellen Rückständen der verwendeten Desinfektionsmittel zu prüfen. Bei dieser Prüfung sollten auch Stämme von Mikroorganismen verwendet werden, die aus dem betrieblichen Hygienemonitoring bzw. dem Personalmonitoring stammen (Hauskeime), damit nachgewiesen werden kann, dass die Mikroorganismen, die im Produktionsbereich vorhanden sind, sicher nachgewiesen werden können.

Wachstumskontrollen werden z. B. an nicht bewachsenen aerob inkubierten Nährmedien, die für die Oberflächenuntersuchungen benutzt wurden sowie nicht bewachsenen Sedimentationsplatten durchgeführt, indem sie in regelmäßigen Abständen z. B. einmal monatlich mit einer Keimsuspension mit niedriger Keimzahl (10–100 KBE/Platte) beimpft werden. Diese Wachstumskontrollen werden z. B. max. 3 Tage bei $22\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$ und max. 2 Tage bei $32\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$ inkubiert. Ausnahmen hierzu können notwendig sein, so sollten Kontrollen mit dem Keim *Propionibacterium acnes* (ATCC 11828) max. 5 Tage bei $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ anaerob inkubiert werden.

Als Akzeptanzkriterium kann z. B. eine Wiederfindungsrate von $> 70\%$ angenommen werden. Wird das Akzeptanzkriterium nicht erreicht, muss eine Ursachenanalyse erfolgen. Sind mehrere Platten betroffen, müssen u. U. der Entthemmer und/oder die Entthemerkonzentration angepasst werden, da dies auf einen

Verbesserung der Hygiene

in Operationsräumen, sowie bei der Herstellung in der Pharma- und Lebensmittelindustrie.



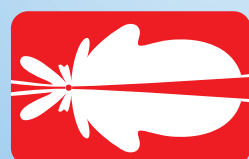
© Lise Gagne

Syringe® zur Partikelmessung

nach PharmEur, USP und JP im Bereich der Produktion und Endkontrolle von Parenteralia.

Abakus® mobil air Luftpartikelzähler

Zur Überwachung und Überprüfung von Reineräumen, reinen Werkbänken, Isolatoren, Filteranlagen in Operationsräumen und der Druckluft.



KLOTZ®

Markus Klotz GmbH

Theodor-Heuss-Straße 27
D-75378 Bad Liebenzell
Tel: +49 7052 92336
Fax: +49 7052 92338
info@fa-klotz.de
www.fa-klotz.de

Zur Verwendung mit freundlicher Genehmigung des Verlages / For use with permission of the publisher

systematischen Fehler oder eine nicht ausreichende neutralisierende Wirkung der Enthemer/Neutralisatoren hinweist. Auch im Zuge der jährlichen mikrobiologischen Requalifizierung der Räume werden Wachstumskontrollen an nicht bewachsenen, aerob inkubierten Nährmedien, die für das Oberflächenmonitoring oder die aktive und passive Luftkeimzahlbestimmung verwendet wurden, durchgeführt.

LITERATUR

- [1] EU-GMP-Leitfaden, Draft Annex 1 EU Guide to Good Manufacturing Practice, Manufacture of Sterile Medicinal Products. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2017_12_pc_annex1_consultation_document.pdf
- [2] Deutsches Institut für Normung e. V., DIN EN ISO 14 644-1:2016-6 Reinräume und zugehörige Reinraumbereiche – Teil 1: Klassifizierung der Luftreinheit anhand der Partikelkonzentration, Berlin: Beuth.
- [3] EU-GMP-Leitfaden, Annex 1 EU Guide to Good Manufacturing Practice, Herstellung steriler Arzneimittel, 2009. www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Statistiken/GKV/Bekanntmachungen/GMP-Leitfaden/Anhang-1-GMP-Leitfaden.pdf
- [4] United States Pharmacopoeia 41 NF 36 (USP) <1116>, Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments, United States Pharmacopoeia XX (USP), Rockville (MD): The USP Convention 2018.
- [5] Wallhäußer KH, Praxis der Sterilisation – Desinfektion – Konservierung, 5. Aufl., Stuttgart: Georg Thieme 1995.
- [6] Böttcher F, Risikobewertung im mikrobiologischen Labor, in Pharma Technologie Journal, Risikomanagement in der Pharmaindustrie, 2. Aufl., Aulendorf: Editio Cantor 2014.
- [7] EU-GMP-Leitfaden, Annex 15 Qualifizierung und Validierung (2015). www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Statistiken/GKV/Bekanntmachungen/GMP-Leitfaden/EU-GMP-Leitfaden_Anhang_15.pdf
- [8] United States Pharmacopoeia 41 NF 36 (USP) <1231>, Water for Pharmaceutical Purposes, Rockville (MD): The USP Convention, 2018.
- [9] Note for Guidance on Quality of Water for Pharmaceutical Use, 2002. www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/note-guidance-quality-water-pharmaceutical-use_en.pdf
- [10] Europäisches Arzneibuch (Ph. Eur.), 9.7, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, Govi-Verlag – Pharmazeutischer Verlag, Eschborn 2019.
- [11] Akers J, Agallaco J, Environmental Monitoring: Myths and Misapplications. PDA J Pharm Sci Technol. 55(3), (2001).
- [12] United States Pharmacopoeia 41 NF 36 (USP). Rockville (MD): The USP Convention; 2018.
- [13] Deutsches Institut für Normung e. V., ISO 14 689-1:2004-04 Reinräume und zugehörige Reinraumbereiche – Biokontaminationskontrolle – Teil 1: Allgemeine Grundlagen, Berlin: Beuth.
- [14] Guidance for Industry, Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice. Rockville (MD): Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration; 2004. www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070342.pdf
- [15] ICH Topic Q9, Quality Risk Management, EMA/CHMP/ICH/24235/2006, 2015. www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002873.pdf
- [16] Guideline on the sterilisation of the medicinal product, active substance, excipient and primary container, EMA/CHMP/CVMP/QWP/850374/2015, (2019). www.ema.europa.eu/en/sterilisation-medicinal-product-active-substance-excipient-primary-container
- [17] Deutsches Institut für Normung e. V., ISO 10993-11:2017-09 Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 11: Prüfungen auf systemische Toxizität, Berlin: Beuth.
- [18] Deutsches Institut für Normung e. V., ISO 11737-1:2018-01 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Mikrobiologische Verfahren – Teil 1: Bestimmung der Population von Mikroorganismen auf Produkten, Berlin: Beuth.
- [19] EU-GMP-Leitfaden, Leitfaden der Guten Herstellungspraxis, Teil 1 (2006). www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Statistiken/GKV/Bekanntmachungen/GMP-Leitfaden/GMP-Leitfaden-1.pdf
- [20] Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung. www.gesetze-im-internet.de/amwhv/BjNR252310006.html
- [21] Deutsches Institut für Normung e. V., DIN EN ISO 14 644-2:2016-05 Reinräume und zugehörige Reinraumbereiche – Teil 2: Überwachung zum Nachweis der Reinraumleistung bezüglich Luftreinheit anhand der Partikelkonzentration, Berlin: Beuth.
- [22] ICH Topic Q10, Pharmaceutical Quality System, Step 5, EMA/CHMP/ICH/214732/2007, 2015. www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002871.pdf
- [23] Mayer M, GMP-Berater, Kapitel 19, EL 30, Risikomanagement, Schopfheim: Maas & Peither 2012.
- [24] EU-GMP-Leitfaden, Annex 11 Computergestützte Systeme (2011). www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Statistiken/GKV/Bekanntmachungen/GMP-Leitfaden/Anlage_2_zur_Bekanntmachung_-_Annex_11.pdf
- [25] Jabs A, Outsourcing im GMP-Umfeld, Pharm. Ind. 2017;79(3):424–9.
- [26] Jabs A, Cloud-Computing im regulierten Umfeld der Pharma- und Medizintechnikbranche, Pharm. Ind. 2015;77(10):1464–7.
- [27] Weber R, Einsatz von Cloud Computing im GxP-regulierten Umfeld, Pharm. Ind. 2013;75(10):1585–94.
- [28] EU-Guide to Good Manufacturing Practice, Annex 17, Real Time Release Testing and Parametric Release, 2018. http://academy.gmp-compliance.org/guidemgr/files/2018_ANNEX17_EN.PDF
- [29] Krebsbach T, Böttcher F, Durchführungssicherheit von Sterilprüfungen im Reinraum und im Isolator. Pharm Ind. 2009;71(2):345–51.
- [30] Deutsches Institut für Normung e. V., DIN EN ISO 17 025:2018-3 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien, Berlin: Beuth.
- [31] Deutsches Institut für Normung e. V., DIN EN ISO 13 485:2016-03 Medizinprodukte – Qualitätsmanagementsysteme – Anforderungen für regulatorische Zwecke, Berlin: Beuth.
- [32] GMP-Berater, EL 22, Aide mémoire, Inspektion von Qualifizierung und Validierung in Pharmazeutischer Herstellung und Qualitätskontrolle, Dok.-Nr. 07121103, (2010). www.gmp-berater.de/xhtml/document.jsf?anchor=d01_004_i1106154&event=navigation
- [33] Pierson D, Corlett D (Hrsg.), HACCP – Grundlagen der produkt- und prozessspezifischen Risikoanalyse. Hamburg: Behr's 1997.
- [34] Böttcher F, Grimm I, Einbindung des Labordienstleisters in die Wertschöpfungskette der Arzneimittelherstellung, Pharm. Ind. 2017;79(9):1292–7.
- [35] Böttcher F, Tätigkeiten im Auftrag, Pharm. Ind. 2017;79(10):1422–4.
- [36] Böttcher R, Qualifizierung und Validierung, in: Krebsbach T (Hrsg.): Reinraum in der pharmazeutischen Industrie. ecv basics. Aulendorf: Editio Cantor 2019, S. 239.

Der letzte Zugriff auf alle Links erfolgte am 02.08.2021.

Hinweis: Der Beitrag erschien 2019 im Werk Krebsbach T (Hrsg.): Reinraum in der pharmazeutischen Industrie. ecv basics. Aulendorf; Editio Cantor Verlag (2019). ISBN 978-3-87193-473-5.

Korrespondenz:

Dr. Frank Böttcher
HWI pharma services GmbH
Rheinzaaberner Straße 8
76761 Rülzheim (Germany)
E-Mail: fboettcher@hwi-group.de