

zur Bewertung der Reinraumqualität entwickelt werden. Mit denen soll anhand von Qualitätskennzahlen nachgewiesen werden, dass eine geeignete Reinraumqualität für die Freigabe produzierter Chargen, geherrscht haben. Dieser Qualitätsnachweis soll auch zur Unterstützung der parametrischen Freigabe genutzt werden können.

2 Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

GMP-Regeln stellen hohe Anforderungen an die Produktionsumgebung von Sterilpräparaten. Die Übersicht zeigt die Anforderungen gemäß EG-GMP-Richtlinie [EU-GMP Guideline Annex 1].

Tabelle 1: Geforderte Produktionsbedingungen für Sterilpräparate nach EG-GMP-Richtlinie [EU-GMP Guideline Annex 1]

Bereich	Anforderungen
Kritischer Bereich A	<p><i>Sterilpräparate - im verschlossenen Endbehältnis sterilisiert</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Abfüllung von Erzeugnissen, wenn der Arbeitsvorgang ein ungewöhnliches Risiko darstellt <p><i>Sterilpräparate – aseptische Zubereitungen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Aseptische Zubereitung • Aseptische Abfüllung • Transfer von partiell verschlossenen Behältnissen, die beim Gefriertrocknen verwendet werden • Zubereitung von Salben, Cremes, Suspensionen und Emulsionen • Abfüllung von Salben, Cremes, Suspensionen und Emulsionen • Arbeitsgänge mit hohem Risiko: Abfüllbereich, Stopfentopf, offene Ampullen und Fläschchen
Kritischer Bereich B	<p><i>Sterilpräparate – aseptische Zubereitungen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Hintergrundumgebung für eine Zone der Reinheitsklasse A • Transfer von partiell verschlossenen Behältnissen, die beim Gefriertrocknen verwendet werden, nur in versiegelten Transferkörben

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Bereich	Anforderungen
Kontrollierter Bereich C	<p><i>Sterilpräparate - im verschlossenen Endbehältnis sterilisiert</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Zubereitung von Lösungen, wenn der Arbeitsgang ein ungewöhnliches Risiko darstellt • Abfüllung von Erzeugnissen • Hintergrundumgebung für eine Zone der Reinheitsklasse A für Abfüllung von Erzeugnissen, wenn der Arbeitsvorgang ein ungewöhnliches Risiko darstellt • Zubereitung von Salben, Cremes, Suspensionen und Emulsionen • Abfüllung von Salben, Cremes, Suspensionen und Emulsionen <p><i>Sterilpräparate – aseptische Zubereitungen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Zubereitung von zu filtrierender Lösung • Hintergrundumgebung für eine Blas-Füll-Versiegelungsmaschine
Bereich mit Anforderung D	<p><i>Sterilpräparate - im verschlossenen Endbehältnis sterilisiert</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Zubereitung von Lösungen und Bestandteilen für anschließende Abfüllung • Hintergrundumgebung für eine Blas-Füll-/Versiegelungsmaschine <p><i>Sterilpräparate – aseptische Zubereitungen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Handhabung von Bestandteilen nach dem Waschen • Hintergrundumgebung für einen Isolator

Auch für nicht sterile Produkte ist die Produktionsumgebung ein wichtiger Qualitätsfaktor.

Da der EG-Leitfaden für die Produktion nicht steriler Produkte keine Reinraumklassen vorschreibt (Ausnahme: Reinraumklasse D für die Herstellung von Dosieraerosolen [EU-GMP Guideline Annex 10] ist es zulässig, eigene zu definieren.

Tabelle 2: Vorschlag für Reinraumklassen für die Herstellung nichtsteriler Zubereitungen [Seyfarth (2002-1)]

Bereich	Anforderungen
Bereich D	<i>Dosieraerosole</i> <ul style="list-style-type: none"> Aerosolpräparate in Sprühflaschen mit vorgegebener Dosiervorrichtung zur Inhalation [EU-GMP Guideline Annex 10]
Bereich E oder III GMP-Bereich	<i>Präparate der Arzneibuchkategorie 2</i> <ul style="list-style-type: none"> Herstellung von Salben und Lösungen Primärverpackung von Salben und Lösungen
Bereich F oder IV GMP-Bereich	<i>Präparate der Arzneibuchkategorie 3</i> <ul style="list-style-type: none"> Herstellung von Tabletten, Kapseln, Dragees Primärverpackung von Tabletten, Kapseln, Dragees

Die Anforderungen an die Produktionsumgebung und an das Umgebungsmonitoring richten sich nach dem Risiko der Umgebung für die Produktqualität. Dieses Risiko ist besonders bei aseptischer Produktion hoch, da hier keine keimreduzierende Maßnahme am Ende der Produktion erfolgt. Es gilt der Grundsatz: Je kritischer der Prozess, desto größer die Anforderungen an das Umgebungsmonitoring.

Dem sind allerdings gerade bei mikrobiologischen Methoden Grenzen gesetzt. So lässt sich weder mit Sicherheit sagen, dass eine Charge steril ist, wenn alle Kontrollen der Produktionsumgebung Null Keime gefunden haben, noch dass gefundene Keime zwingend das Produkt kontaminiert haben [Akers 2001].

Mit Modellrechnungen lässt sich allerdings nachweisen, dass durchaus eine gewisse Wahrscheinlichkeit besteht, dass Luftkeime durch Sedimentation in ein offenes Behältnis während der Abfüllung hineingelangen könnten [Seyfarth (2002-2)].

2.1 Anforderungen an das Umgebungsmonitoring in Reinräumen

Reinräume müssen eine Reihe von Parameter einhalten, die um den jeweiligen Reinheitsklassen zu entsprechen [Kahden]:

- Überdruck in den Reinräumen
- Reinheitsklassen der Luft
- Keimbelastung (Oberflächen und Luft)
- Partikelbelastung der Luft
- Klimatisierung
- Luftvolumina
- Strömungsgeschwindigkeiten
- Erholzeiten

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

- Schallpegel
- Beleuchtungsstärke
- Dichtigkeit der Anlage
- Beschaffenheit von Oberflächen

In der Tabelle sind einige allgemeine Anforderungen der verschiedenen pharmazeutischen Regelwerke zum Thema mikrobiologisches Monitoring aufgeführt.

Tabelle 3: Allgemeine Forderungen zum Monitoring verschiedener Regelwerke [Seyfarth (2002-1)]

Regelwerk	Forderung
[EU-GMP Guideline Annex 1] (Manufacture of Steril medicinal Products)	<p>Where aseptic operations are performed monitoring should be frequent using methods such as settle plates, volumetric air and surface sampling (e.g. swabs and contact plates). Sampling methods used in operation should not interfere with zone protection.</p> <p>Results from monitoring should be considered when reviewing batch documentation for finished product release.</p> <p>Surfaces and personnel should be monitored after critical operations. Additional microbiological monitoring is also required outside production operations, e.g. after validation of systems, cleaning and sanitation.</p>
ISO-Norm 13408-1 [SO 13408]	<p>14.3.1.1 The aseptic processing area shall be routinely monitored for the presence of micro organisms, i.e. environmental flora / isolates.</p>
[PrEN 13824]	<p>12.2.1 The aseptic processing area shall be routinely monitored for the presence of micro organisms, i.e. environmental flora/isolates.</p>

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Regelwerk	Forderung
USP 28 <1116>, [USP <1116>]	... routine microbial monitoring should provide sufficient information to ascertain that the controlled environment is operating within an adequate state of control ...
FDA Aseptic Guideline – Neufassung (Draft)	The environmental monitoring program is an integral asset of the quality control unit's charge to ensure ongoing control of an aseptic process

In den Reinraumklassifizierungen bzw. den Monographien für Reinstmedien sind Anforderungen an ein Umgebungsmonitoring beschrieben. Dabei muss für jeden Analysepunkt festgelegt werden welche Grenzwerte für die Messung gilt und wie oft die Messung durchgeführt werden soll.

„The most effective method of ensuring product quality is through a strong routine environmental monitoring program“ ([Vinvent] Seite 40)

2.1.1 Luft

Die folgende Aufstellung stellt verschiedene Anforderungen an das Umgebungsmonitoring von Reinraumluft gegenüber.

Tabelle 4 : Spezifikationsgrenzen für Keime in der Luft nach [GMP-Berater] Kapitel 12.G.3.1

Klasse	Spezifikationsgrenzen für Keime in der Luft (in KBE/m ³)			
	EG-GMP-Leitfaden ¹	USP	FDA Guideline	Vorschlag zu Umsetzung
Kritischer Bereich A	< 1	< 3	< 1	W: 1 A: 2
Kritischer Bereich B	10	< 20	< 10	W: 3 A: 7
Kontrollierter Bereich C	100	< 100	< 100	W: 50 A: 100
Bereich mit Anforderung D	200	-	-	W: 200 A: 400
W: Warngrenze A: Aktionsgrenze				

¹ Grenzwert bezieht sich auf den Durchschnitt von 10 Messungen in Folge.

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Die Tabelle 5 zeigt die unterschiedlichen Anforderungen an die Frequenz der Messungen

Tabelle 5: Prüffrequenzen für Keime in der Luft nach [GMP-Berater] Kapitel 12.G.4.1

Frequenzen für Luftuntersuchungen	
Probenahmestelle	Frequenz
Kritischer Bereich A Min. 1 Messpunkt pro LF-Einheit	<ul style="list-style-type: none"> EU-Anforderungen: Für aseptisch herzustellende Produkte chargenbezogen nach dem kritischen Prozessschritt. Bei Fertigung mehrerer Chargen am Tag nur einmalige Messung
	<ul style="list-style-type: none"> FDA-Anforderungen: Am Anfang einer Charge, dann alle 2 Stunden (min. 2)
Kritischer Bereich B Je 1 Messpunkt pro 50m ² Raumgröße	<ul style="list-style-type: none"> EU-Anforderungen: Nach dem kritischen Prozessschritt bzw. während der Nutzung, wenn durch die Messung kein erhöhtes Risiko für die Produktion besteht. In diesem Fall kurz nach dem Ende der Produktion
	<ul style="list-style-type: none"> FDA-Anforderungen: Am Anfang, in der Mitte und am Ende der Produktion einer Charge
Kontrollierter Bereich C Je 1 Messpunkt pro 100m ² Raumgröße	Betriebener Raum – täglich bis vierteljährlich (je nach Nutzung des Raums bzw. Produktionsfrequenz)
Bereich mit Anforderung D Je 1 Messpunkt pro 200m ² Raumgröße	Betriebener Raum – monatlich bis vierteljährlich.

Zusätzlich sollte 2x pro Jahr der Pilzstatus überprüft werden. Dabei werden andere Nährmedien (SAB-Agar²) verwendet, die speziell zur Anzucht von Pilzen geeignet sind.

In Tabelle 4 und Tabelle 5 sind die allgemeinen Anforderungen an die Prüfung der Luft dargestellt. Diese Rahmenbedingungen müssen für ein Monitoringprogramm auf die jeweiligen örtlichen Gegebenheiten der Reinräume angewendet werden.

² Saboraud 4% Glukose-Agar. Der zuckerhaltige Nährboden begünstigt Pilze.

2.1.2 Oberflächen / Personal

Die folgende Aufstellung stellt verschiedene Anforderungen an Umgebungsmonitoring von Reinraumbooberflächen gegenüber.

Tabelle 6 : Spezifikationsgrenzen für Keime auf Oberflächen nach [GMP-Berater] Kapitel 12.G.3.1

Klasse	Spezifikationsgrenzen für Keime auf Oberflächen (in KBE/ 25 cm ²)			
	EG-GMP- Leitfaden	USP	FDA Guideline	Vorschlag zu Umsetzung
Kritischer Bereich A				
Produktberührend	-	-	0	W: 1 / A: 3
Oberflächen	< 1	3	-	
Boden	-	3	-	W: 3 / A: 5
Kritischer Bereich B				
Oberflächen	5	5	-	W: 3 / A: 5
Boden	-	10	-	W: 5 / A: 10
Kontrollierter Bereich C				
Oberflächen	25	-	-	W: 13 / A: 25
Boden	-	-	-	
Bereich mit Anforderung D				
Oberflächen	50	-	-	W: 25 / A: 50
Boden	-	-	-	
W: Warngrenze				
A: Aktionsgrenze				

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Tabelle 7 : Spezifikationsgrenzen für Keime bei Personal nach [GMP-Berater] Kapitel 12.G.3.1

Klasse	Spezifikationsgrenzen für Keime bei Personal (in KBE/ 25 cm ²)			
	EG-GMP- Leitfaden	USP	FDA Guideline	Vorschlag zu Umsetzung
Kritischer Bereich A				
Hand (bei Eingriffen in RK A)	< 1	3	-	W: 1 / A: 3
Kritischer Bereich B				
Hand	5	10	-	W: 3 / A: 5
Körper	-	20	-	W: 10 / A: 20
Schuhe	-	20		

Tabelle 8: Prüffrequenzen für Keime an Oberflächen [GMP-Berater] Kapitel 12.G.4.1

Frequenzen für Oberflächenuntersuchungen in Sterilbereichen	
Probenahmestelle	Frequenz
Kritischer Bereich A Oberflächen Wand Boden Min. 1 Messpunkt pro kritischer Oberfläche (z.B. Abfüllstation, Stopfensetzung, usw.)	<ul style="list-style-type: none"> EU-Anforderungen: Für aseptisch herzustellende Produkte chargenbezogen nach dem kritischen Prozessschritt.
	<ul style="list-style-type: none"> FDA-Anforderungen: Mehrere am Tag der Produktion
Kritischer Bereich B	<ul style="list-style-type: none"> EU-Anforderungen: Nach dem kritischen Prozessschritt bzw. während der Nutzung, soweit dadurch erhöhtes Risiko durch die Messung besteht.

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Frequenzen für Oberflächenuntersuchungen in Sterilbereichen	
Probenahmestelle	Frequenz
Oberflächen Wand Boden Je 1 Messpunkt pro kritischer Oberfläche	<ul style="list-style-type: none"> FDA-Anforderungen: mehrere am Tag der Produktion
Kontrollierter Bereich C Wand Boden Je 1 Messpunkt pro produktrelevanter Oberfläche	Betriebener Raum – wöchentlich bis vierteljährlich (je nach Nutzung des Raums bzw. Produktionsfrequenz)
Bereich mit Anforderung D Wand Boden Je 1 Messpunkt pro produktrelevanter Oberfläche	Betriebener Raum – monatlich bis halbjährig (je nach Gefährdung für das Produkt)

Tabelle 9: Prüffrequenzen für Keime an Personal [GMP-Berater] Kapitel 12.G.4.1

Frequenzen für Oberflächenuntersuchungen in Sterilbereichen	
Probenahmestelle	Frequenz
Kritischer Bereich A Fingerprint ³ Min. 1 Messpunkt pro kritischer Oberfläche (z.B. Abfüllstation, Stopfensetzung, usw.)	<ul style="list-style-type: none"> EU + FDA-Anforderungen: nach jedem kritischen Prozessschritt.
Kritischer Bereich B	<ul style="list-style-type: none"> Fingerprints: nach jedem kritischen Prozessschritt

³ In Reinheitsklasse A sind normalerweise keine Personen anwesend. Nur bei Eingriffen kommt das Produktions-Personal mit dieser Reinheitsklasse in Berührung.

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Frequenzen für Oberflächenuntersuchungen in Sterilbereichen	
Probenahmestelle	Frequenz
Finger rechts Finger links Handgelenke rechts Handgelenke links Mundschutz Kopfhaube Oberkörper Schuhe rechts Schuhe links	Nachweis Umkleideprozedere <ul style="list-style-type: none"> • 1x pro Monat (jeder Mitarbeiter) alle Prüfpunkte nach dem Einschleusen

In Tabelle 6 bis Tabelle 8 sind die allgemeinen Anforderungen an die Prüfung von Oberflächen und Personal dargestellt. Diese Rahmenbedingungen müssen für ein Monitoringprogramm auf die jeweiligen örtlichen Gegebenheiten der Reinräume angewendet werden.

2.1.3 Reinstmedien

Auch die Reinstmedien müssen ständig in Ihrer Qualität überwacht werden. Tabelle 10 gibt einen Überblick über die durchzuführenden Prüfungen und eine Empfehlung zu Aktionsgrenzen und Prüfungsfrequenzen

Umgebungsmonitoring in der Parenteralia-Produktion

Tabelle 10 : Empfehlungen zur Reinstmedienprüfung

Medium	Prüfung	Grenzwert	Frequenz
WFI	KBE-Bestimmung	10 KBE/100 ml	7 Tage + Täglich min 1x pro Ring
	EU-Bestimmung	< 0,25 EU/ml	7 Tage + Täglich min 1x pro Ring
	Vollanalyse	Gemäß EP	30 Tage
	Partikelbestimmung	50 P/ml > 10 µm 5 P/ml > 25 µm	30 Tage
	Leitfähigkeit	Gemäß [USP <645>]	Täglich (min 1x pro Ring)
	TOC	500 ppb	Täglich (min 1x pro Ring)
GE-Wasser	KBE-Bestimmung	10 KBE/100 ml	7 Tage
	EU-Bestimmung	< 0,25 EU/ml	7 Tage
	Vollanalyse	Gemäß EP	30 Tage
	Partikelbestimmung	50 P/ml > 10 µm 5 P/ml > 25 µm	30 Tage
	Leitfähigkeit	Gemäß [USP <645>]	7 Tage
	TOC	500 ppb	7 Tage

Medium	Prüfung	Grenzwert	Frequenz
Dampfkondensat	Partikelbestimmung	25 P/ml > 10 µm 3 P/ml > 25 µm	7 Tage
	Vollanalyse	EP - pH 5 - 7	30 Tage
	Leitfähigkeit	Gemäß [USP <645>]	7 Tage
	Oxidierbare Substanzen	bestehende Rosa-färbung nach Hitze-einwirkung	7 Tage
	KBE-Bestimmung	10 KBE/100 ml	30 Tage
	EU-Bestimmung	< 0,25 EU/ml	7 Tage
	TOC	500 ppb	7 Tage
Stickstoff (vor Sterilfilter)	Identität	i. O.	7 Tage
	KBE-Bestimmung	50 KBE/m ³	90 Tage
Druckluft (vor Sterilfilter)	KBE-Bestimmung	100 KBE/m ³	90 Tage
CO₂ (vor Sterilfilter)	KBE-Bestimmung	50 KBE/m ³	90 Tage

Die Anforderungen gemäß Tabelle 10 müssen auf die jeweiligen Mediensysteme angewendet werden.

2.2 Methoden zur Rohdatenerfassung

Im folgenden Kapitel werden die Methoden zur Rohdatenerfassung nach [GMP-Berater, Kapitel 12.G.3.2] beschrieben. Eine Auflistung aller Methoden, die in der Datenbank benutzt werden, sind in Anhang 1 aufgelistet.

Grundsätzlich müssen auch mikrobiologische Methoden (wie jede andere Analyseverfahren) validiert werden. Dabei sollten folgende Punkte berücksichtigt werden

- Wiederfindungsrate von kontaminierten Oberflächen
- Nachweis der Anzuchtmethoden mit Testkeimen (Nährboden und Verfahren geeignet)
- Qualifizierung und Kalibrierung der eingesetzten technischen Geräte (z.B. Luftkeimsammler)

Mikrobiologische Untersuchungen der Luft [Seyfarth (2002-3)]:

Beim **Sedimentationsverfahren** werden Petrischalen mit einem geeigneten festen Nährmedium für eine bestimmte Zeit (z.B. 30 min bis 2,5 h; Nach EG-GMP-Leitfaden Anhang 1: 4h) offen im Raum aufgestellt. Die in dieser Zeit auf die Agaroberfläche sedimentierten Keime können nach Bebrütung ausgezählt werden. Da diese Methode besonders vom Zufall bestimmt ist, ist die ermittelte Keimzahl nur von qualitativer Natur. Ein Messwert wie viele Keime sich in der Luft pro Kubikmeter befinden, lässt sich mit diesem Verfahren nicht ermitteln. Der Einsatz dieser Methode sollte deshalb möglichst unterbleiben.

Bei der **Filtrationsmethode** wird eine bestimmte Menge Luft angesaugt und durch einen Membranfilter aus Gelatine gesaugt. Mikroorganismen werden durch den Filter zurückgehalten und können bebrütet und ausgezählt werden. Der Vorteil dieser Methode ist, dass sich der Luftstrom sowohl in Menge als auch in Geschwindigkeit kontrollieren lässt, so dass isokinetische Messungen möglich sind. Bei diesen Messungen soll die Ansauggeschwindigkeit ungefähr der Geschwindigkeit der Luftströmung entsprechen. Diese Messmethode wird benötigt um Keimmessungen in laminaren Luftströmungen vorzunehmen (LF-Einheit).

Die heute verbreiteste Methode ist das **Impact-Verfahren** (Aufprall auf feste Nährmedien). Hierbei wird die zu untersuchende Luft beschleunigt und auf die Nährmedien geblasen. Aufgrund ihrer Masse bleiben Partikel (und an ihnen haftende Keime) auf dem Nährmedium haften. Technisch gesehen sind 2 unterschiedliche Verfahren weit verbreitet:

Der SLIT-Sampler (STA-Methode) bläst die angesaugte Luft über einen Schlitz auf eine rotierende Agar-Platte. Nach Herstellerangaben werden dabei Partikel die größer als 0,5 µm sind erfasst.

Der Reuer Centrifugal Sampler (RCS) versetzt den angesaugten Luftstrom in Rotation, so dass die Zentrifugalkraft Partikel nach außen drückt, wo sie auf eine Agarplatte treffen und haften bleiben.

Für die Untersuchung von sterilen Gasen (Druckluft, Stickstoff, usw.) empfiehlt sich das **Impingerverfahren**. Hierbei wird eine definierte Menge durch eine sterilisierte Nährlösung geleitet (ähnlich einer Gas-Waschflasche). Bei ausreichender Vermischung des Gases mit der Flüssigkeit bleiben Partikel und daran haftende Mikroorganismen in der Waschflüssigkeit zurück. In einem nächsten Arbeitsschritt wird die Waschflüssigkeit unter aseptischen Arbeitsbedingungen sterilfiltriert. Dadurch werden alle Keime der Flüssigkeit quantitativ auf den Filter übertragen; der Filter wird auf eine Agarplatte überführt und bebrütet. Nach der Bebrütung können die einzelnen Kolonien ausgezählt werden. Damit ist eine quantitative Auswertung der Keimzahl möglich.

Mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächen und Personal

Bei der Probenahme an kritischen Oberflächen muss beachtet werden, dass die Messung selbst ein Kontaminationsrisiko beinhaltet. Eine Verunreinigung der getesteten Oberfläche mit Nährmedium kann Keimwachstum begünstigen. Deshalb sollte grundsätzlich nach dem Test die Fläche mit einem Desinfektionsmittel gereinigt werden. Natürlich haben auch

Desinfektionsmittelrückstände nichts in den Produktions-Chargen zu suchen, so dass diese Untersuchung mit viel Augenmaß und gesunden Menschenverstand erfolgen muss. Am sichersten erfolgt die Probenahme aller produktberührenden Flächen direkt nach der Produktion.

Hier sind überwiegend 2 Methoden im Einsatz:

Der **Abklatsch** mit festen Nährmedien erfolgt mittels einer Platte mit einer erhabenen Agarfläche. Die Fläche ist auf 25cm² Fläche genormt, so dass das feste Nährmedium direkt mit der zu untersuchenden Fläche in Kontakt gebracht werden kann. Danach wird die Platte mit einem Deckel verschlossen und bebrütet. Die Kolonien können zur quantitativen Auswertung direkt gezählt werden.

Der **Tupfer-** oder **Tücher-Wischtest** bietet im Vergleich eher Nachteile. Der sterile trockene Tupfer (oder Tuch) wird für die Untersuchung von trockenen Oberflächen in sterile NaCl-Lösung getaucht. Danach wird die zu untersuchende Oberfläche damit abgewischt. Das aufgenommene Material wird dann auf einem Casein-Sojapepton Agar verstrichen und bebrütet.

Für feuchte Oberflächen (z.B. ein Fußboden nach dem Wischen) wird der Tupfer trocken eingesetzt.

Der Wischtest hat besonders bei geringen Keimzahlen den Nachteil, dass eine gewisse Anzahl von Mikroorganismen sich nicht auf die Agarplatte übertragen lassen, sondern am Wischgerät hängen bleiben. Die Keimwiederfindungsrate ist schlechter reproduzierbar als beim Abklatsch. Daher ist der Abklatsch, wo immer möglich, einem Wischtest vorzuziehen.

Verwendete Nährmedien

Gemäß des [USP <1116>], „Microbial Evaluation of Clean Room and Other Controlled Environment“ empfiehlt es sich ein Agarmedium mit Casein- und Sojapepton (CSA) zu verwenden. Dieses Medium ist auch für die Gesamtkeimzahlbestimmung in Endprodukten vorgeschrieben und geeignet verschiedene Mikroorganismen anzuzüchten.

Zusätzlich müssen inaktivierende Agenzien zugesetzt werden um evtl. wachstumshemmende Stoffe (Antibiotika, Desinfektionsmittel usw.) zu neutralisieren.

Nach der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) können z.B. folgende Kombinationen als Enthemer verwendet werden:

- Polysorbat 80, Lecithin, L-Cystein
- Polysorbat 80, Spaonin, L-Histidin, L-Cystein
- Polysorbat 80, Lecithin, L-Histidin, Natriumthiosulfonat
- Polysorbat 80, Lecithin, L-Histidin
- B-Cyclodextrin

Für die Prüfung auf Pilze sollte ein glukosehaltiges Nährmedium verwendet

werden (z.B. Sabouraud-4-%-Glucose-Agar = SAB). Zwar wachsen die meisten Pilze auch auf dem CSA-Nährmedium, allerdings empfiehlt es sich, beim gezielten Kontrollieren auf Pilze, den SAB-Agar zu verwenden.

Für die Prüfung auf Anaerobier muss neben der anaeroben Bebrütung unter Stickstoffbegasung auch ein spezielles Thioglykolat-Nährmedium verwendet werden.

Bebrütung

Das [USP <1116>] nennt als Bebrütung 22,5 +/- 2,5 °C und 32,5 +/- 2,5°C für 72 bzw. 48h. Diese Zeit ist vermutlich eher kurz bemessen. Das pharm Eur. 5 Kapitel 2.6.12 verlangt zumindest 5 Tage Bebrütung. Da Pilze bei niedrigeren Temperaturen besser gedeihen aber insgesamt länger für ihr Wachstum brauchen, hat sich folgende Bebrütung bewährt:

- CSA: 30-35°C 5 Tage
- SAB: 20-25°C 7 Tage

2.3 Problembeschreibung: Warum ist das Umgebungsmonitoring in der Praxis so schwierig?

Planung des Monitoring-Programms (Komplexe Auftragsgestaltung).

Die Anforderungen an ein Umgebungsmonitoring-Programm sind, wie unter Punkt 2.1 beschrieben, hoch. Für eine Produktionsstätte, die sterile Produkte herstellt und entsprechend viele Reinräume benötigt, bedeutet das, dass ein sehr komplexes Prüfprogramm aufgestellt und verwaltet werden muss.

Für den Standort (siehe Punkt 4.2), der Gegenstand dieser Arbeit war, kommen pro Woche rund 1.500 Prüfungen zustande, die an rund 6000 verschiedenen Prüforten durchzuführen sind.

Da die Prüffrequenzen unterschiedlich sind, ist das Programm jede Woche unterschiedlich zusammengesetzt.

Bei diesen Zahlen ist es aufwendig sicherzustellen, dass jede geforderte Prüfung ordnungsgemäß durchgeführt wird. Dies ist nur mit einer Datenbank zur Unterstützung möglich

Verwaltung der Ergebnisse

Nach der richtigen Durchführung der Probenziehung müssen die Proben 5-7 Tage bebrütet werden, müssen die Ergebnisse erfasst, dokumentiert und ausgewertet werden. Auch die Verwaltung von 1500 Ergebnissen pro Woche ist nur mit der Unterstützung einer Datenbank möglich. Für eine Qualitätsbewertung der Produktionsumgebung müssen alle vorliegenden Ergebnisse für Auswertungen zur Verfügung stehen.

Auswertung der Daten

Der 3. Teil des Problems ist die Auswertung der Daten. Pro Jahr fallen in dem

begleiteten Betrieb rund 65.000 Ergebnisse an. Für diese Datenflut werden Methoden benötigt, die die Vielzahl der einzelnen Ergebnisse in einen Zusammenhang stellen und zu einer einfachen Qualitätsaussage verdichten. Hinzu kommt, dass die verwendeten mikrobiologischen Methoden mit einem Messfehler behaftet sind, was bei der Auswertung berücksichtigt werden muss.

Verteilung der Messergebnisse

Besonders die mikrobiologischen Messungen folgen nicht einer strengen statistischen Verteilung. Der Charakter kommt einer Poisson oder negativen Exponential-Verteilung nahe [GMP-Berater Kapitel 12.G.3.1], allerdings ist dieser von einer Vielzahl von Ergebnissen überlagert, die auf Ereignissen beruhen, die nicht zufällig erfolgen. Diese würden nach statistischen Methoden als Ausreißer gelten, enthalten aber gerade die wichtigen Aussagen über den Prozess. Solche Ereignisse sind z.B. Messfehler, Probenahmefehler, falsches Verhalten im Reinraum, technische Störungen usw. Dadurch entstehen atypischen Messwertverteilungen, die die Auswertung mit statistischen Methoden erschweren. Ein typisches Histogramm ist unter Punkt 6.1 dargestellt.

3 Umsetzung der Anforderungen mit Hilfe computergestützter Qualitätssicherung

Am Anfang der Arbeit stand die Entwicklung und der produktive Einsatz einer Datenbankanwendung, die in der Lage ist, alle Belange des Umgebungsmonitorings der Parenteralia Produktion am Standort Schering Charlottenburg umzusetzen. Diese Entwicklung ist schrittweise erfolgt, so dass Erkenntnisse und Erfahrung immer wieder in Änderungen und Verbesserungen der Datenbank eingeflossen sind.

Im folgenden ist der Endpunkt beschrieben, den die Datenbankanwendung nach 3 Jahren ständiger Optimierung erreicht hat.

3.1 Eingesetzte Technik

Die Datenbankanwendung ist in 2 Teile geteilt. Der eine Teil (Backend) beinhaltet alle Daten, die mit dem 2. Teil (Frontend) verbunden sind. Im Frontend sind alle Funktionen und Bedienungen der Datenbank angesiedelt. Diese Trennung von Daten und Funktionen bietet den Vorteil, dass Funktionen geändert werden können, ohne die Daten zu beeinflussen.

Als Basisplattform für das Backend wurde ein Oracel-Datenbankserver® eingesetzt, der alle Daten des Monitorings in Datentabellen aufnimmt. Der Vorteil eines Datenbankservers liegt in der höheren Stabilität und Performance. Außerdem ist er in der Lage auch größere Datenvolumen zu verwalten.

Als Basisplattform für das Frontend ist Microsoft Access® Version 97 verwendet worden. Access® gehört zum Office-Paket und ist ein sehr weit verbreitetes Datenbank-Tool, das es ermöglicht sehr einfach Datenbanken zu entwickeln.

Über Access® wird auch die Nutzerrechteverwaltung sichergestellt. Durch die Standard-Funktionen, können Nutzergruppen eingerichtet werden, die gestaffelte Zugriffsrechte auf bestimmte Daten und Funktionen der Datenbank ermöglichen.