

Überschreitungen, aller Keime aus Reinheitsklasse A und B sowie dem WFI-System ausreichend ist.

Liegt keine Erfahrung vor, sollten in einer Anfangszeit (z.B. bei der Reinraumqualifizierung) alle Keime identifiziert werden, um die notwendige Datenbasis aufzubauen.

Wer ohne ausreichende Datenbasis an der Keimidentifizierung spart, muss eventuell bei der Vernichtung zu unrecht gesperrter Chargen teuer draufzahlen.

6 Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

6.1 Einleitung

Im Teil 2 werden verschiedene Einflüsse auf die gemessene Keimzahl im Umgebungsmonitoring untersucht. Jede mikrobiologische Prüfung der Umgebung (z.B. Luftkeimsammlung) ist eine Momentaufnahme und lässt sich nicht ein zweites Mal analysieren (anders als bei einer Wasserprobe, aus der Wiederholungsmessungen gemacht werden können). Die Methoden zur Ermittlung der Keimzahlen sind zwar vergleichsweise simpel, verlangen aber einen sorgfältigen Umgang mit den Proben, um Sekundärkontaminationen zu vermeiden.

Auf der anderen Seite gilt der Grundsatz „Bugs don't lie“ [Agoloco, Akers 1998]. Was soviel bedeutet, wie: „Jede Messung zählt und muss ernst genommen werden“. Es ist gemäß den current GMP-Regeln nicht zugelassen in der Bewertung der gemessenen Keimzahlen Ausreißer herauszunehmen:

„If no laboratory or statistical errors are identified, there is no scientific basis for invalidation initial OOS results in favor of passing retest result. ... „Outliner tests have no applicability in cases where the variability of a product is being assessed“ [FDA Draft Guidance for Industry OoS]

Da bei sehr sauberen Bedingungen, wie sie in RK A oder bei heißgelagerten WFI herrschen, ohnehin nur sehr wenige Keime vorhanden sind, kann es in der Praxis passieren, dass mehr Keime durch Fehlmessungen gefunden werden, als tatsächlich vorhanden sind.

Hier ein Beispiel:

Bei der Luftkeimsammlung in Reinheitsklasse A wird nur in jeder 25. Probe ein Keim im Mittel gefunden (Datengrundlage: 9065 Werte; Mittelwert aller Messungen ist: 0,0408; Standardabweichung: 0,757). In dieser Messreihe sind 8943 Messwerte 0 (keine Keime gefunden). Das heißt, dass nur in 122 Proben von 9065 (1,35%) Keime gefunden wurden. Das zeigt auch die hohe Standardabweichung in Vergleich zum Mittelwert (Standardabweichung ist ca. 18-Mal so groß wie der Mittelwert). In wenigen Fällen werden also viele Keime gefunden (siehe Diagramm 1)

Bei der Annahme, dass bei 1% der KBE-Untersuchungen Sekundärkontaminationen auftreten (angenommener Methodenfehler) bedeutet

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

das, das ca. 90 der 122 Messungen, bei denen Keime gefunden worden sind, auf den Methodenfehler zurückzuführen ist. Das heißt, die überwiegenden Anzahl der gemessenen Keime könnten Fehlmessungen sein.

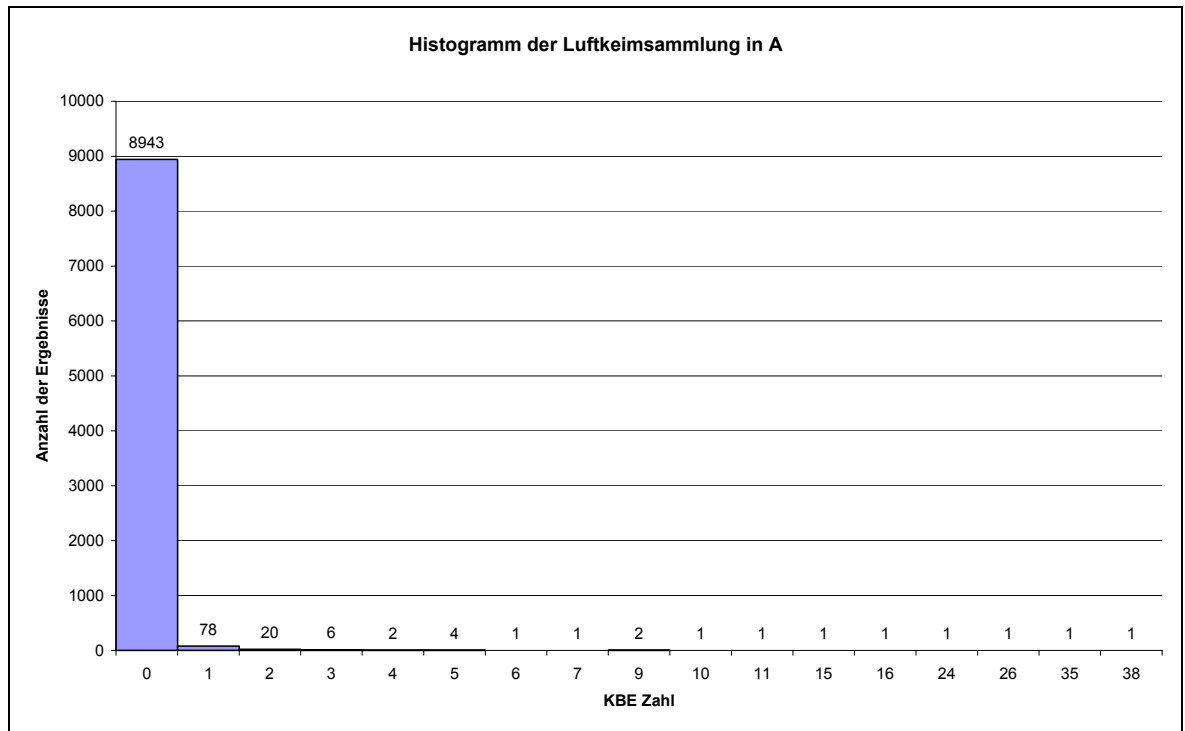


Diagramm 1 : Histogramm der Luftkeimsammlung in RK A

Datentabelle zum Diagramm 1:

Ergebnis	Häufigkeit der Klasse	Ergebnis	Häufigkeit der Klasse
0	8943	10	1
1	78	11	1
2	20	15	1
3	6	16	1
4	2	24	1
5	4	26	1
6	1	35	1
7	1	38	1
9	2		

Dieses Beispiel zeigt, dass es für die Bewertung von Keimzahlen wichtig ist, Zusammenhänge zwischen KBE-Zahlen und anderen Einflüssen zu kennen.

Nur mit einer Interpretation, wie sich die Keimbelastung üblicherweise über

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Jahreszeiten, Tageszeiten, Aktivitäten im Reinraum oder Partikelbelastungen verhält, können Monitoring- Ergebnisse richtig interpretiert werden.

Bei den anschließenden Untersuchungen sind folgende Messmethoden eingeschlossen (in jeweilige Reinheitsklassen unterteilt):

- Abklatsch an Wand, Boden und Maschinenoberflächen
- Luftkeimsammlung
- Personalabklatsch (Finger, Kleidung)
- Reinstmedien (Wasser für Injektionszwecke)

Die Methoden sind im Einzelnen unter Punkt 2.2 näher erläutert.

Bei der Beurteilung der KBE Ergebnisse sind folgende 3 Zusammenfassungen gewählt worden:

1. Gesamtzahl aller gefundenen Keime (Summe aller KBE)
2. Durchschnittliche Keimzahl pro Probe (zusätzlich zu 1. wird der Probenumfang berücksichtigt)
3. Durchschnittliche KBE Zahl ausgedrückt in % von der Aktionsgrenze (zusätzlich zu 2. werden die unterschiedlichen Grenzwerte berücksichtigt)

Bei der Gesamtzahl der Keime muss berücksichtigt werden, dass bei vielen Messungen potentiell auch viele Keime gefunden werden. Dieser Nachteil wird durch Zusammenfassung Nr. 2 ausgeglichen. Allerdings ist die Bedeutung von einem gefundenen Keim pro Messung abhängig vom Prüfort. Bei einer Messung in einer Umgebung, in der 100 Keime pro ml erlaubt sind (z.B. Trinkwasser), macht ein Keim wenig aus (1%). Wenn aber nur 5 Keime erlaubt sind (z.B. Abklatsch in RK B), macht 1 Keim 20% aus. Dies ist in der 3. Darstellungsart berücksichtigt. Sie ist am sensibelsten, da hier jeder Messwert anhand der gegebenen Grenzen gewichtet wird. Auch die Anzahl der Messungen wird berücksichtigt, da der Mittelwert aller %-Werte verwendet wird. Damit lässt sich diese Darstellungsart universell für die Betrachtungen der verschiedenen Zusammenhänge einsetzen.

6.2 Einfluss von Maschinen- und Personaleinsatz auf KBE-Belastung

Datenselektion

Untersucht wurde dieser Zusammenhang an einer aseptischen Abfüll-Linie. In dieser Linie sind in RK B 2 Maschinen aufgebaut, an denen mit einem relativ hohen Anteil von Handarbeit ölige Spritzampullen gefüllt und montiert wurden. Alle Tätigkeiten finden in einem Raum statt, der einheitlich belüftet und desinfiziert wurde.

Um diesen Einfluss der Maschinenlaufzeit bzw. des Personaleinsatzes

analysieren zu können wurde in der Zeit zwischen Oktober 1999 und August 2002 eine Zusatzprüfung im Umgebungsmonitoring eingebaut. Diese Prüfung wurde zusammen mit den anderen chargenbegleitenden Prüfungen durchgeführt, sie erfasst die bei der Produktion anwesenden Personen in diesem Raum und die geschätzte Maschinenlaufzeit.

Das chargenbegleitende Umgebungsmonitoring dieser Produktionslinie ist zu einer Auftragsgruppe zusammengefasst, so dass sich Daten des mikrobiologischen Monitorings leicht zusammenfassen lassen.

Zur Auswertung wurden 2 Datenbankselektionen verwendet:

- KBE-Zahlen des chargenbezogenen Monitorings der Linie 1 C3
- Maschinen- und Personalstunden des Chargenbezogenen Monitorings der Linie 1 C3

KBE Belastung im chargenbegleitenden Monitoring der Linie 1:

SQL-Statement:

```
SELECT Year([Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist]) AS Woche,
Sum(Daten.Ergebnis) AS KBE, Count(Daten.Ergebnis) AS Anz,
Avg(Daten.Proz_Spez) AS [%AG]
FROM Daten
WHERE (((Daten.M_Gruppe)="2" Or (Daten.M_Gruppe)="4") AND
((Daten.Ergebnisklasse)=1) AND ((Daten.Datum_Ist) Between #6/1/1999# And
#8/31/2002#) AND ((Daten.Dateiname) Like "C3 Charge Linie 1*"))
GROUP BY Year([Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist]);
```

Es wurden alle KBE-Messungen der Auftragsgruppe "C3 Charge Linie 1" zwischen dem 01.06.1999 und dem 31.08.2002 einbezogen. Die Werte werden nach Jahr und Monat gruppiert dargestellt.

Maschinen und Personalstunden des chargenbezogenen Monitorings der Linie1:

SQL-Statement:

```
SELECT Year([Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist]) AS Woche,
Sum(Daten.Ergebnis) AS Personal, Count(Daten.Ergebnis) AS Anz,
Sum(CSng([Prüfmittel 1])) AS M_Stunde
FROM Daten
GROUP BY Year([Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist]), Daten.ID_Methode
HAVING (((Daten.ID_Methode)=403));
```

Es wurden alle Messungen oben beschriebener Sondermethode (ID: 403) zwischen dem 01.06.1999 und dem 31.08.2002 einbezogen. Die Werte werden

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

nach Jahr und Monat gruppiert dargestellt.

Qualitätssicherung der Datenselektion:

Der Zeitraum zwischen dem 01.06.1999 und dem 31.08.2002 umfasst 37 Monate. Da im IST jede Datenselektion genau 37 Datensätze geliefert hat (je einen pro Kalendermonat), kann davon ausgegangen werden, dass die Datenselektion richtig erfolgt ist.

Selektionsergebnis in der Übersicht

Thema	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelmessungen
KBE Belastung im chargenbegleitenden Monitoring der Linie 1	37	13.118
Maschinen und Personalstunden des chargenbezogenen Monitorings der Linie 1	37	336 (=Anzahl der Produktionstage)

Auswertung der Datenselektion

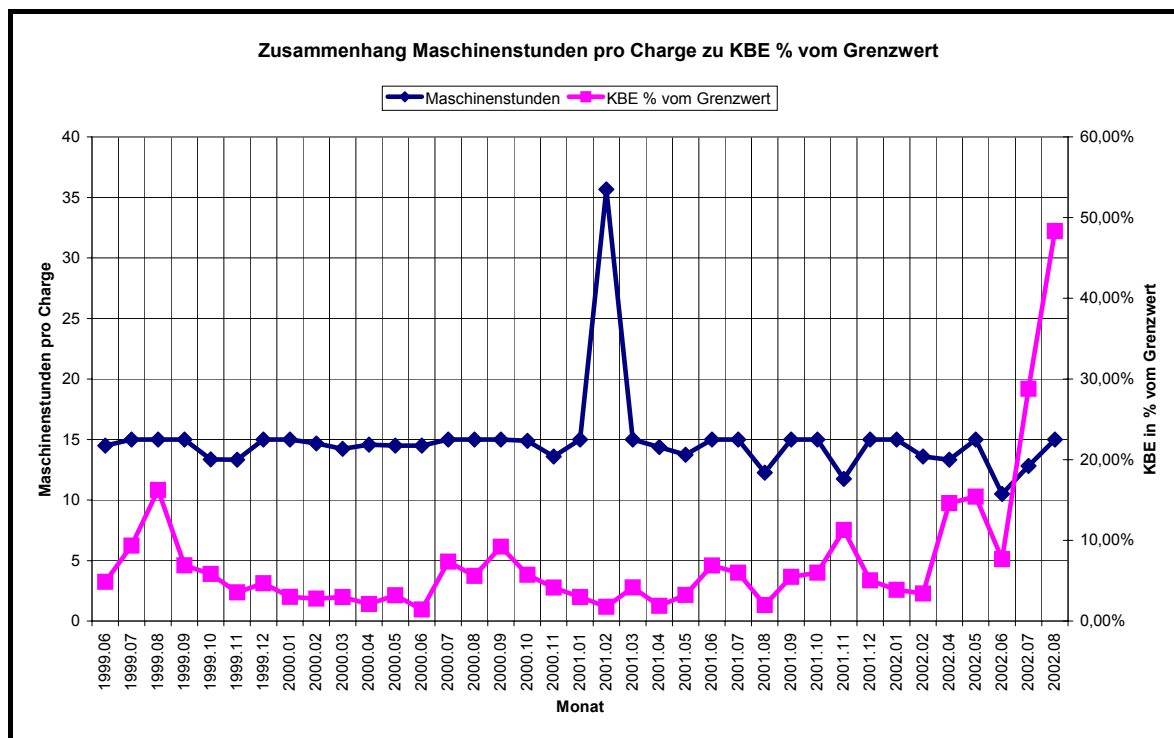


Diagramm 2 : Maschinenstunden pro Charge und KBE in % vom Grenzwert

Auswertung Diagramm 2:

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Man kann deutlich sehen, dass über die Monate ungefähr die gleiche Zahl der Maschinenlaufstunden zur Fertigung einer Charge benötigt wird. Einziger Ausreißer ist der Feb. 01 wo ungefähr die doppelte Fertigungszeit benötigt worden ist. Durchschnittlich werden 2 Arbeitstage a 7,5h zur Fertigung einer Charge benötigt.

Die KBE-Belastung (in % vom Grenzwert) stellt einen Mittel von durchschnittlich 354 Messungen pro Monat dar (37 Monate mit 13.118 KBE Messungen)

Die gefundenen KBE Zahlen (ausgedrückt als % vom Grenzwert) zeigen einen deutlichen Anstieg ab dem Jul 2002. Dieser KBE Anstieg kann nicht durch die Maschinenlaufzeit pro Charge erklärt werden.

In einer anderen Darstellung der Daten wird aber deutlich, warum die KBE-Ergebnisse in den letzten beiden Monaten des Betrachtungszeitraums von einem durchschnittlichen Niveau von 5% des Grenzwerts auf fast 50% gestiegen sind.

Das Folgende Diagramm zeigt die gleiche KBE Kurve allerdings werden die Maschinenstunden als Summe im Monat (das heißt nicht pro Charge) dargestellt.

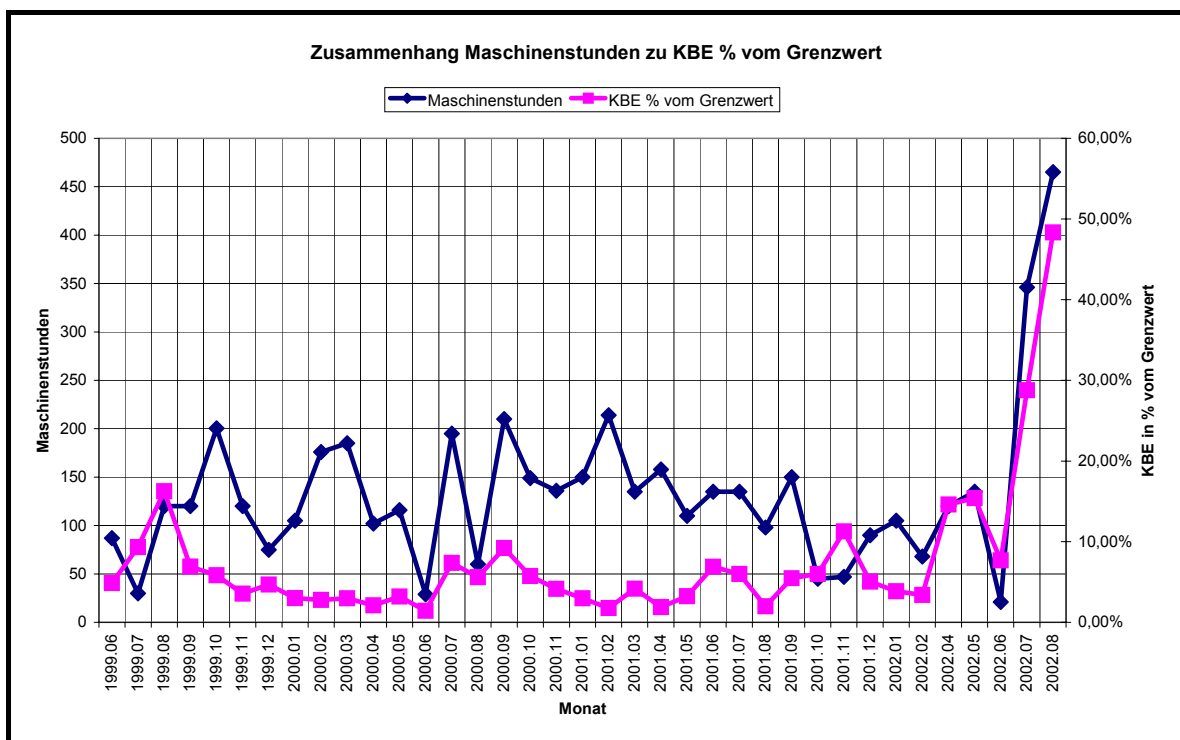


Diagramm 3: Summe der Maschinenstunden zu KBE in % vom Grenzwert

Hier spiegeln die Maschinenstunden die Aktivitäten in dem untersuchten Produktionsraum wieder. Es ist zu erkennen, dass in den Monaten Jul und Aug 2002 die Aktivität von durchschnittlich 100h pro Monat auf 350 bzw. 450 Stunden angestiegen ist. In dieser Zeit wurde verstärkt Vorproduktion betrieben. Wie oben erwähnt, wurde diese Produktionslinie nach Aug 2002 an einen anderen Produktionsstandort verlagert. Um während der Verlagerung und den notwendigen Umregistrierungen die Marktversorgung sicher zu stellen, wurde die Produktionsmenge der Linie um das 4 bis 5-fache gesteigert.

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

In der Zeit davor zeigen sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Maschinenstunden und den KBE-Zahlen.

Bei der Analyse der Personalstunden ergibt sich ein ähnliches Bild:

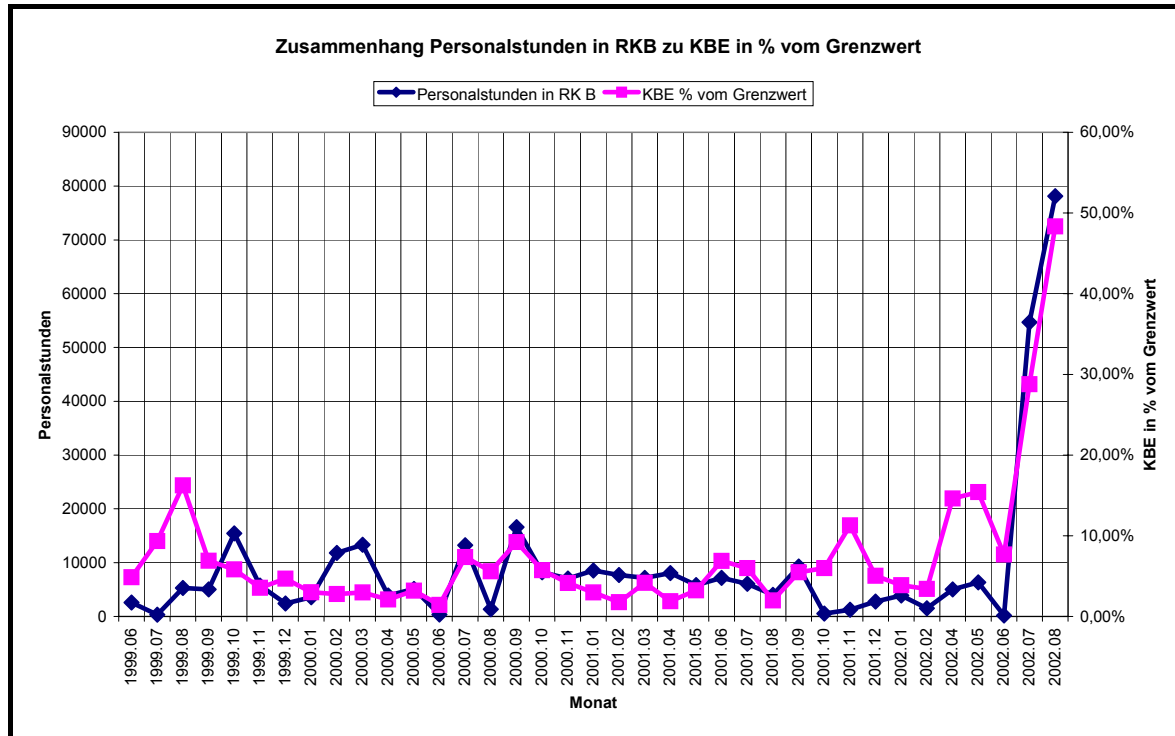


Diagramm 4 : Personalstunden zu KBE in % vom Grenzwert

Auch hier sind die Aktivitäten in den Monaten Jul und Aug 2002 gemessen in Personalstunden von durchschnittlich 10.000 pro Monat auf 55.000 bzw. 78.000 Stunden angestiegen.

Hier stimmt der Zusammenhang der Aktivitätskurve zur KBE Belastung am besten mit den 3 Beispielen überein. Allerdings kann der Zusammenhang nicht in einer einfachen mathematischen Korrelation ausgedrückt werden. So gibt es Monate, in denen die Personalstunden während der Routine-Produktion leicht ansteigt (z.B. 10 /1999 oder 02 und 03/2000) während die KBE Belastung auf diesen Anstieg nicht reagiert. Ebenso gibt es Monate, in denen relativ viele Keime gefunden werden (z.B. 08/1999 oder 11/2001), ohne dass es eine gesteigerte Aktivität in diesem Raum gegeben hat. Zu guter Letzt gibt es auch Monate, in denen gestiegene Aktivität und höhere Keimbelastung zusammen auftreten (z.B. 07/2000 und 09/2000).

Ergebnisse

Der Modellversuch der untersuchten Produktionslinie hat gezeigt, dass die Keimbelastung stärker durch Personaleinsatz als durch Maschinenlaufzeit beeinflusst werden. Vermutlich kann der Zusammenhang folgendermaßen formuliert werden:

Jeder Reinraum hat eine gewisse Grenzkapazität für Aktivitäten. Diese Grenzkapazität wird durch die technische Ausstattung (z.B. Beschaffenheit von Oberflächen, Luftwechselzahl und Reinraumfilter) sowie durch Reinigungs- und Desinfektionszyklen bestimmt.

Solange diese Grenzkapazität unterschritten ist, bleibt die Keimbelastung unabhängig von den Aktivitäten. Wird diese Grenzkapazität überschritten (wie im Beispiel in den Monaten 07 und 08/2002), so steigt auch Keimbelastung stark an. (Siehe Diagramm 4)

Umgekehrt lässt sich diese Erkenntnis nutzen, um zu prüfen, ob die Aktivitäten in einem Raum von seiner technischen Kapazität unbedenklich ist. Wenn sich über einen Untersuchungszeitraum kein Zusammenhang zwischen Personalstunden im Reinraum und KBE-Belastung (gemessen in % vom Grenzwert) nachweisbar ist, kann angenommen werden, dass die technische Kapazität des Reinraums nicht überschritten worden ist.

Dieses Verfahren kann also auch genutzt werden um die Verträglichkeit von Routineaktivitäten in einem Reinraum nachzuweisen. Solange der Zusammenhang zwischen Personalstunden und KBE-Belastung nicht besteht, kann davon ausgegangen werden, dass die Reinraumbedingungen, in Bezug auf die Belastung durch anwesendes Personal, unter Kontrolle ist.

Bei dieser Betrachtung ist muss der Einfluss der Aktivitäten innerhalb eines Tages berücksichtigt werden. Unter Punkt 6.5 (Einfluss der Tageszeiten auf die KBE Belastung) wurde dargestellt, dass die KBE Belastung innerhalb eines Tages mit den Aktivitäten schwankt.

Dabei muss nach Abschluss eines kompletten Tageszyklus (nach Reinigung / Desinfektion) wieder der Ausgangszustand der KBE-Belastung für den Folgetag erreicht werden.

Wichtig ist also eine richtige Zusammensetzung von Produktionsaktivitäten (die KBE-Zahlen erhöhen) und Reinigungs-, Desinfektions- und Ruhe- oder Spülzyklen (die KBE-Zahlen verringern) zu finden.

Ist eine funktionierende Abfolge der Aktivitäten gefunden, zeigt sich typischer Weise innerhalb eines Tages eine Abhängigkeit der KBE-Belastung zu den Produktionsaktivitäten (=Personalstunden im Reinraum), während sich in einer Verdichtung größer als ein Tag kein Zusammenhang ergeben darf.

Dadurch kann nachgewiesen werden, dass KBE-reduzierende Maßnahmen im Einklang mit der Belastung durch Produktionsaktivitäten befinden. Es wird also nach einem Zyklus der gleiche Ausgangszustand der Reinraumbedingungen erreicht, die beim Beginn des Zyklus geherrscht haben.

Immer, wenn die KBE-reduzierenden Maßnahmen nicht ausreichen (oder die Personalstunden stark ansteigen) steigt die KBE Belastung stark an.

6.3 Einfluss von Luftpartikelzahl auf KBE-Belastung

Mikroorganismen kommen nicht isoliert in der Luft vor, sondern haften an Partikeln. Partikelmessungen können sehr viel einfacher und genauer bestimmt werden als die Keimbelastung der Luft. Wenn ein Zusammenhang der beiden Faktoren nachgewiesen werden kann, könnte es möglich sein, einen Teil der aufwendigen KBE-Prüfungen durch Partikelmessungen zu ersetzen.

Datenselektion

Zur Analyse des Zusammenhangs zwischen KBE-Belastung und Luftpartikel wurden je Reinheitsklasse pro Monat die Keimbelastung und die Partikelbelastung bestimmt.

In der Datenbank ist für jede Reinheitsklasse zwei Methoden zur Messung der Luftkeimzahl vorhanden. Beide Methoden unterscheiden sich in der Bebrütung der Proben. Die erste wird CSA-Agar bebrütet. Dieses Nährmedium ist in der Lage die meisten Aeroben Keime zu sichtbar zu machen. Die 2. Bebrütungsmethode, die „SAB“ Methode, verwendet einen SAB-Agar der zur Anzucht von Pilzen geeignet ist.

Reinheitsklasse	Name der Methode	Monitoring Bereich	Aktionsgrenze
A	LKS in A LKS-SAB in A	2: Umgebungsmonitoring mikrobiologisch	2 KBE pro m ³
B	LKS in B LKS-SAB in A	2: Umgebungsmonitoring mikrobiologisch	10 KBE pro m ³
C	LKS in C LKS-SAB in A	2: Umgebungsmonitoring mikrobiologisch	100 KBE pro m ³
D	LKS in D LKS-SAB in A	2: Umgebungsmonitoring mikrobiologisch	200 KBE pro m ³

Für die Ermittlung der Datenmenge wurde folgendes SQL-Statement verwendet:

SQL-Statement:

```
SELECT CDate(Year([Datum_ist]) & "." & Month([Datum_ist])) AS Monat,
Daten.Reinheitsklasse AS RK, Sum(Daten.Ergebnis) AS KBE,
Count(Daten.Ergebnis) AS Anz, [KBE]/[Anz] AS Pro_Probe,
Avg(Daten.Proz_Spez) AS [%AG]
```

```
FROM Daten
```

```
WHERE (((Daten.Stelle)="Luft") AND ((Daten.Datum_ist) Between #1/1/1999#
And #12/31/2002#) AND ((Daten.M_Gruppe)="2" Or (Daten.M_Gruppe)="4") AND
((Daten.Ergebnisklasse)=1))
```

```
GROUP BY Cdate(Year([Datum_ist]) & "." & Month([Datum_ist])),
```

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Daten.Reinheitsklasse

HAVING (((Daten.Reinheitsklasse) Like "A"));

Dieses Beispiel liefert die Daten für die Reinheitsklasse A. Durch Austausch der des Buchstabens im Teil: „*HAVING (((Daten.Reinheitsklasse) Like "A"))*“ gegen die der anderen Reinheitsklassen wurden jeweils die Daten für die anderen Reinheitsklassen ermittelt:

Selektionsergebnis in der Übersicht

Reinheitsklasse	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelergebnisse
A	48	8.407
B	48	32.813
C	48	7.555
D	48	4.636

Qualitätssicherung der Datenselektion:

Als Qualitätssicherung der Datenselektion dient die Plausibilitätsprüfung anhand der Anzahl der Datensätze. Jede Selektion muss genau 48 Monate (=4 Jahre) umfassen. Dies war bei allen Datenreihen der Fall (siehe oben). Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Datenselektion richtig und vollständig war.

Datenselektion für Partikelbelastung

In der Datenbank gibt es ebenfalls für jede Reinheitsklasse 2 Messmethoden zur Ermittlung der Luftpartikelzahl. Die erste ermittelt die Luft-Partikel größer 5µm, die zweite erfasst Partikel zwischen 0,5 und 5µm.

Übersicht der Methoden in den Reinheitsklassen

Reinheitsklasse	Größer 5µm	Aktionsgrenze	0,5 bis 5µm	Aktionsgrenze
A	ID: 49	0 Pt/cft	ID: 48	100 Pt/cft
B	ID: 410	57 Pt/cft	ID: 409	10.000 Pt/cft
C	ID: 388 / 50 ²²	570 Pt/cft	ID: 387 / 51	100.000 Pt/cft
D	ID 53	570 Pt/cft	ID: 52	100.000 Pt/cft

²² Methode wurde angepasst, da sich die Anforderungen der Arzneibücher verändert haben

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Für die Ermittlung der Datenmenge wurden folgende SQL-Statements verwendet:

SQL-Statement:

```
SELECT CDate(Year(Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist])) AS Monat,
Sum(Daten.Ergebnis) AS PAR, Count(Daten.Ergebnis) AS Anz, [PAR]/[Anz] AS
Pro_Probe, Avg(Daten.Proz_Spez) AS [%AG]
```

```
FROM Daten
```

```
WHERE (((Daten.Stelle)="Luft") AND ((Daten.Datum_Ist) Between #1/1/1999#
And #12/31/2002#) AND ((Daten.ID_Methode)=53))
```

```
GROUP BY Cdate(Year([Datum_Ist]) & "." & Month([Datum_ist]));
```

Dieses Beispiel liefert die Daten für die Methode ID: 53 (Partikel der RK D größer 5µm). Durch Austausch der Methoden ID gemäß der Tabelle oben wurden die Daten der anderen Partikel- und Reinheitsklassen ermittelt.

Selektionsergebnis in der Übersicht

Reinheitsklasse	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelergebnisse
A (größer 5µm)	48	6.438
A (zwischen 0,5 und 5µm)	48	6.438
B (größer 5µm)	47 ²³	571
B (zwischen 0,5 und 5µm)	47 ²³	571
C (größer 5µm)	48	425
C (zwischen 0,5 und 5µm)	48	425
D (größer 5µm)	45 ²⁴	563
D (zwischen 0,5 und 5µm)	45 ²⁴	561 ²⁵

²³ Für den Januar 1999 liegen keine Daten vor, da die Prüfungen erst ab Februar 1999 regelmäßig über die Datenbank erfasst worden sind.

²⁴ Da die Prüfung mit einer Frequenz > 1 Monat durchgeführt werden wurde zufällig in den Monaten Jan 01, Dez. 01 und Jun 02 kein Messwert erfasst.

²⁵ Im Monat Jun 2000 sind 2 Messungen der Partikelgröße größer 5µm nicht in der Datenbank erfasst worden. Gemessen auf die Gesamtzahl der berücksichtigten Ergebnissen (561) wurde das Fehlen dieser beiden Datensätze als unkritisch für die Betrachtung eingestuft, da nur 0,3% der Daten in dieser Messreihe fehlen. Dieser Fall zeigt auch, dass das angewendete Qualitätssicherungssystem greift und selbst kleine Abweichungen oder Unplausibilitäten in den Datenauswertungen identifiziert werden.

Qualitätssicherung der Datenselektion

Als Qualitätssicherung der Datenselektion dient die Plausibilitätsprüfung anhand der Anzahl der Datensätze. Jede Selektion muss genau 48 Monate (=4 Jahre) umfassen. Dies war nicht bei allen Datenreihen der Fall. Diese Datenreihen wurden anhand der Einzelergebnisse im Detail geprüft. In allen Fällen ergab sich, dass die Datenselektion richtig erfolgt ist.

Zusätzlich kann die Anzahl der Messungen der beiden Partikelklassen je Reinheitsklasse zur Plausibilisierung verwendet werden. Da immer beide Messungen parallel aufgeführt werden muss die Anzahl aller Messung der beiden Partikelklassen übereinstimmen. Hier wurde in der Reinheitsklasse D eine Abweichung festgestellt, die vermutlich auf eine fehlende Erfassung der Rohdaten in der Datenbank zurückzuführen ist. Da nur 0,3% der Daten in dieser Messreihe betroffen sind, wurde die Abweichung als unkritisch eingestuft und keine zusätzlichen Maßnahmen eingeleitet.

Auswertung der Datenselektion

Im folgenden werden je Reinheitsklasse die Partikelbelastung (getrennt nach Partikel $> 5\mu\text{m}$ und $0,5$ bis $5\mu\text{m}$) zusammen mit der KBE Belastung je Monat darstellt.

Alle Werte sind in % vom Grenzwert ausgedrückt und lassen sich daher einheitlich in einem Diagramm mit einer X-Achse darstellen:

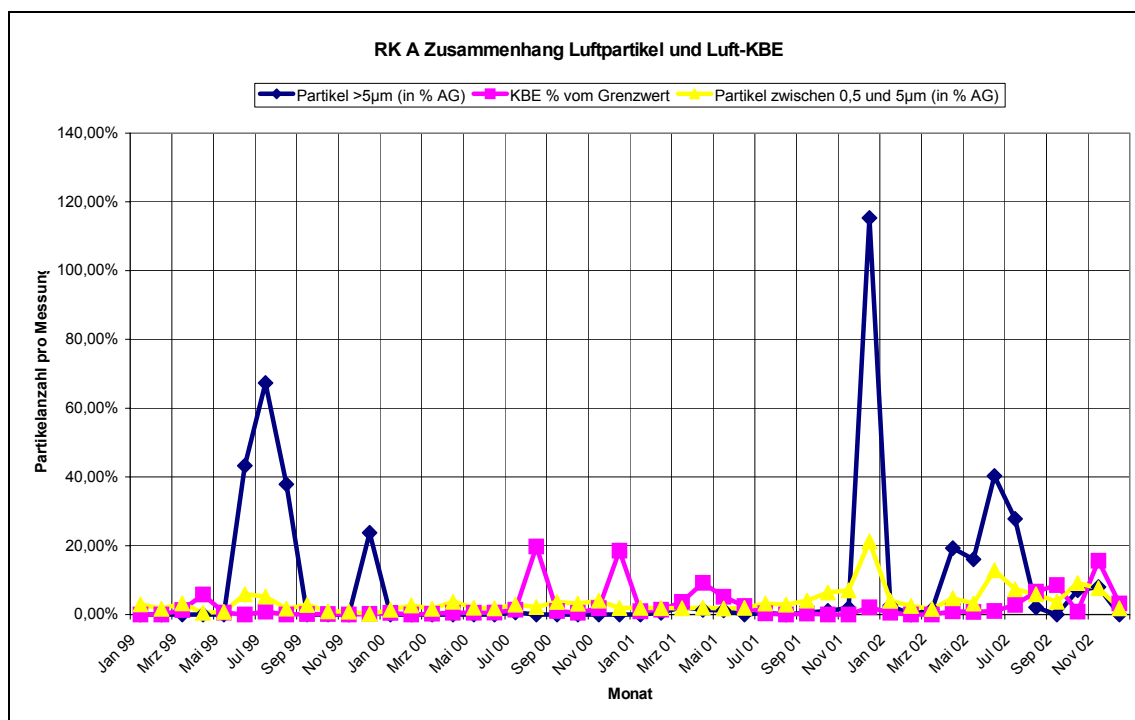


Diagramm 5: Darstellung der KBE- und Partikelbelastung in RK A

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

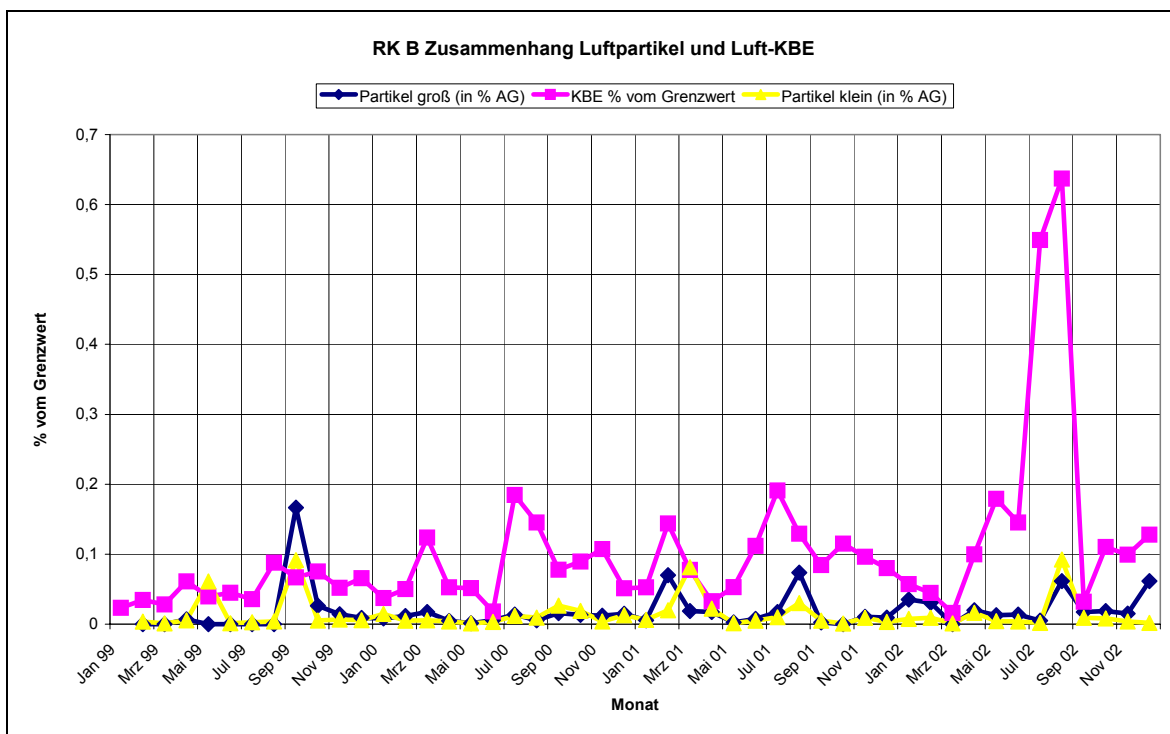
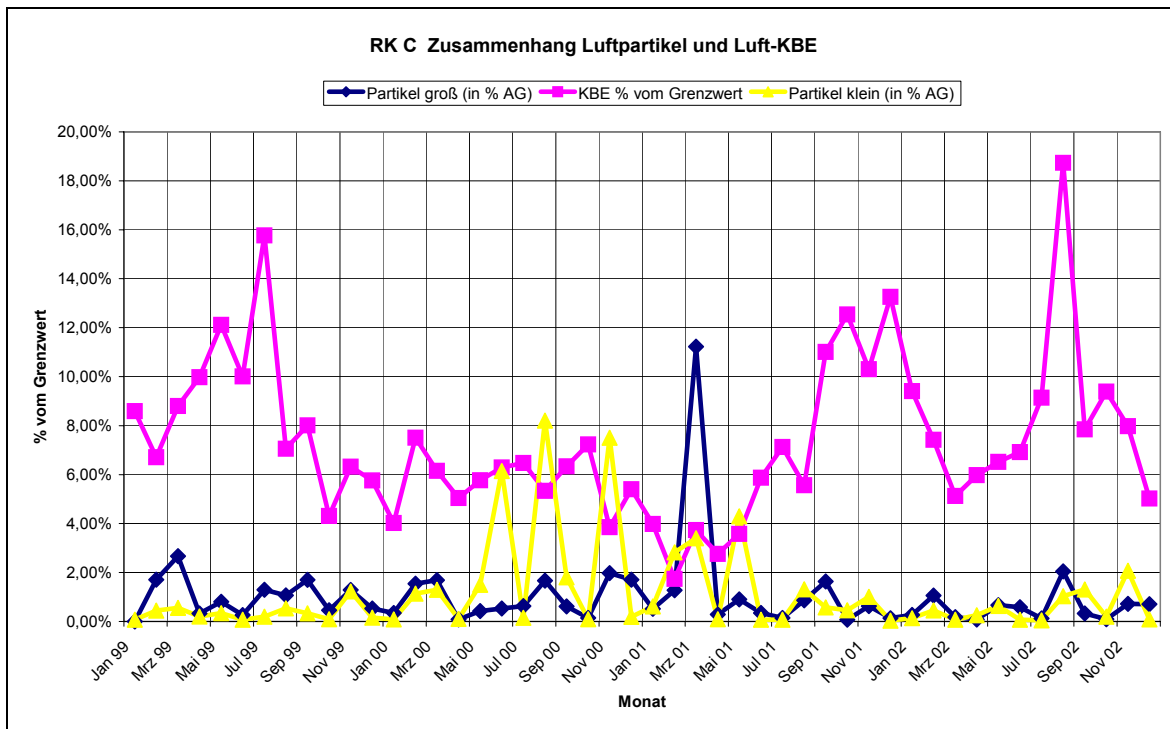


Diagramm 6: Darstellung von KBE- und Partikelbelastung in RK B



Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Diagramm 7: Darstellung von KBE- und Partikelbelastung in RK C

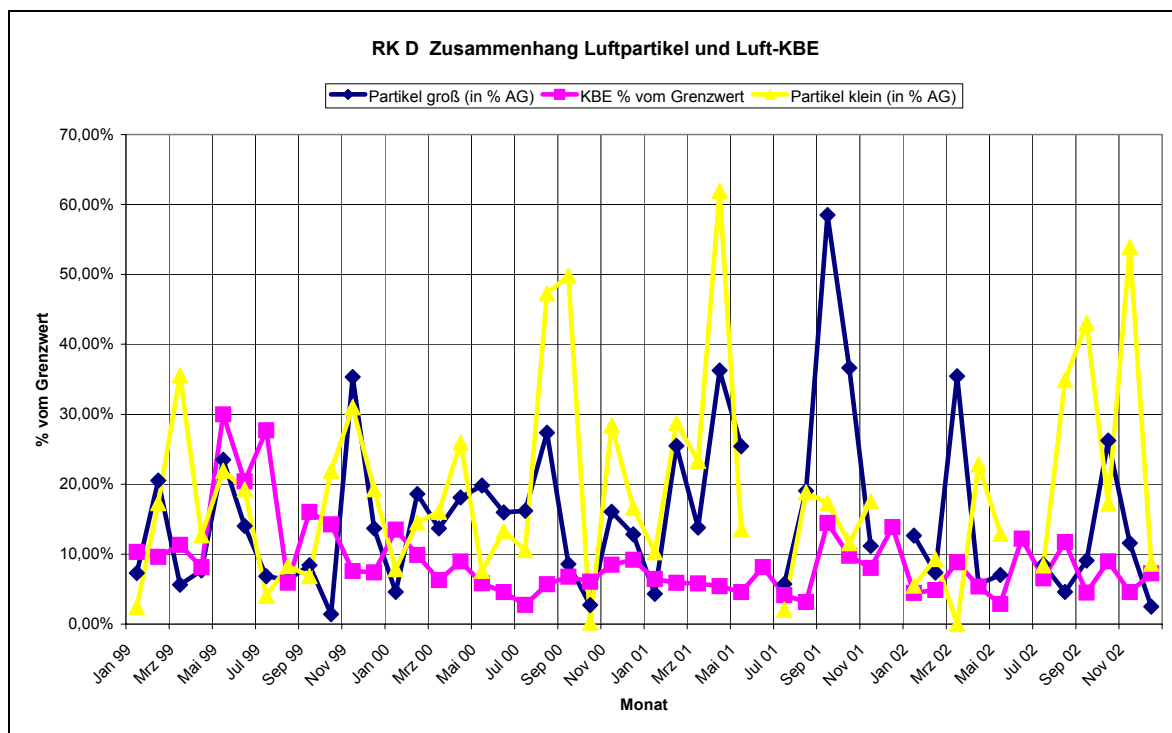


Diagramm 8 : Darstellung von KBE- und Partikelbelastung in RK D

Die Analyse der 4 Grafiken zeigt ein uneinheitliches Bild. Im Detail lässt sich kein Zusammenhang feststellen. Über die gesamte Untersuchungszeit zeigt sich, dass unter Reinraumbedingungen praktisch kein Zusammenhang zwischen Partikelmessungen und Luftkeimsammlung besteht.

Zwar treten Keime in der Luft nie isoliert, sondern immer gebunden an Luftpartikel auf, allerdings scheint der Anteil der Partikel, die keimbelastet sind zufällig zu schwanken und korreliert nicht mit der gemessenen Partikelanzahl.

Dies wird deutlich in folgender Darstellung, die den Anteil der KBE-belasteten Luftpartikel pro Reinheitsklasse über den Untersuchungszeitraum anzeigt.

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

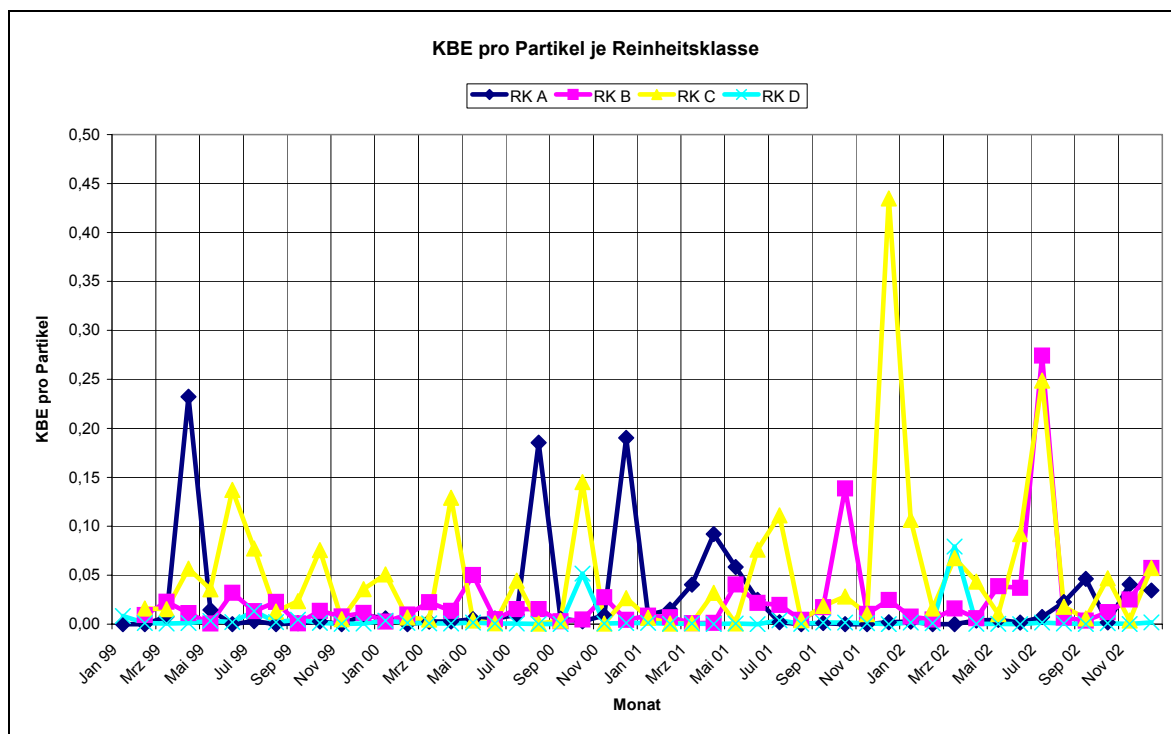


Diagramm 9: KBE pro Luftpartikel je Reinheitsklasse

Die KBE Belastung eines Luftpartikels (im Mittel) scheint je nach Reinheitsklasse zwischen 0 und 0,4 KBE pro Partikel zu schwanken.

In der Tabelle ist der Mittel der Messreihe dargestellt:

RK	Mittelwert In KBE pro Partikel	Standardabweichung	Min	Max
A	0,0228	0,0505	0	0,23
B	0,0235	0,0434	0	0,27
C	0,0499	0,0762	0	0,43
D	0,0045	0,0140	0	0,08

Auch diese Darstellung zeigt, dass sich kein Zusammenhang zwischen der Partikelzahl und der Keimbelastung darstellen lässt. In allen Reinheitsklassen ist die Standardabweichung deutlich größer als der Mittelwert der Messreihe (was auf eine starke Streuung hinweist). Die jeweiligen Maximalwerte der Analysereihe liegt um Faktor 10 über dem Mittelwert.

Ergebnisse

Alle Datenanalysen des Umgebungsmonitoring zeigen, dass sich kein einfacher Zusammenhang zwischen gemessener Partikelbelastung und Keimbelastung darstellen lässt. Die Anteile der rechnerisch ermittelten keimbelasteten Partikel schwankt stark und unregelmäßig.

Man kann sagen, dass beide Messungen (Partikel und Keime) unabhängig voneinander sind und parallel durchgeführt werden müssen. Es ist nicht möglich aus der Partikelbelastung auf die Keimbelastung oder umgekehrt zu schließen.

Interessant ist noch das Detail, dass (im Untersuchungsmodell) je mehr Partikel vorhanden sind (A nach B nach C nach D) desto weniger Keime werden pro Partikel gefunden. Die „sauberste“ Partikelqualität findet sich in Reinheitsklasse D. Diese Schlussfolgerung ist jedoch so nicht richtig.

Offensichtlich gibt es mehr Faktoren als die Luftpartikelzahl, die KBE-Belastung eines Reinraums ausmachen. Wie unter Punkt 0 ausgeführt, ist der Mensch (in Form von Personalstunden im Reinraum) eine wesentliche Quelle von Keimen.

Grundsätzlich kann man sagen, dass Maßnahmen zur Reduzierung der Luftpartikelzahl (Luftwechselrate, HEPA-Filter, laminare und turbolenzarme Strömungen) nicht im gleichem Umfang die Luftkeimzahlen reduzieren. Hier müssen zusätzliche Maßnahmen (andere Kleidung, häufigere Desinfektion, usw.) getroffen werden, um die KBE-Messwerte eines Reinraums der Klasse A oder B zu erreichen.

Für die Interpretation von Monitoring-Ergebnissen kann man sagen, dass KBE- und Partikelmessungen unabhängig von einander sind. Weder aus hohen noch aus niedrigen Partikelzahlen lassen sich gesicherte Rückschlüsse auf die KBE-Belastung ziehen.

6.4 Einfluss von Jahreszeiten auf KBE-Belastung

Um die einzelnen Einflüsse auf KBE-Belastung in Reinräumen unabhängig von einander untersuchen zu können muss geprüft werden, ob es eine Überlagerung von verschiedenen Einflüssen gibt. Unter Punkt 6.2 konnte gezeigt werden, dass Personalstunden im Reinraum einen Einfluss auf die KBE-Zahlen haben können. Zum Thema Jahreszeiten soll geprüft werden, ob die KBE-Zahlen einem jahreszeitlichen Einfluss unterliegen, der zusätzlich zu Personalstunden, Uhrzeit oder Partikelzahlen die KBE-Belastung beeinflusst.

Datenselektion

Für die Untersuchung wurden alle Methoden, die Keime messen einbezogen.

SQL-Statement

```
SELECT      Month([Datum_Ist])      AS      Monat,      Daten.Reinheitsklasse,
Count(Daten.Ergebnis) AS Anz, Avg(Daten.Proz_Spez) AS [Mittelwert von
Proz_Spez], Sum(Daten.Ergebnis) AS KBE

FROM Daten

WHERE      (((Daten.M_Gruppe)="2"      Or      (Daten.M_Gruppe)="4")      AND
((Daten.Datum_Ist)      Between      #1/1/1999#      And      #12/31/2002#)      AND
((Daten.Ergebnisklasse)=1))

GROUP BY Month([Datum_Ist]), Daten.Reinheitsklasse

HAVING (((Daten.Reinheitsklasse) Not Like "schwarz"));
```

Um volle Perioden zu untersuchen wurden alle KBE-Ergebnisse (gruppiert nach Reinheitsklasse und Monat) zwischen dem 1.1.1999 und 31.12.2002 ausgewertet (48 Monate = 4 Jahre). Daten die nicht aus Reinräumen stammen (RK = „schwarz“) wurden ausgenommen.

Selektionsergebnis in der Übersicht

Reinheitsklasse	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelergebnisse
A	12	13.533
B	12	121.114
C	12	13.046
D	12	8.282

Qualitätssicherung der Datenselektion:

Die Anzahl der Datensätze wurde für die Plausibilisierung der Datenselektion verwendet. Je Reinheitsklasse müssen 12 Datensätze (da ein Jahr 12 Monate hat) entstehen. Für die 5 selektierten Reinheitsklassen, also insgesamt 60 Datensätze. Da sich im IST genau diese 60 Datensätze ergeben haben, kann davon ausgegangen werden, dass die Datenselektion richtig und vollständig ist.

Produktionsauslastung über die Jahreszeiten

Zusätzlich zu der Keimbelastung wurde die Produktionsauslastung über die

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Jahreszeiten untersucht. Da Aktivitäten im Reinraum die KBE-Belastung beeinflussen können (siehe Punkt 6.2) muss auch geprüft werden, ob die Produktion über das Jahr gesehen gleichmäßig erfolgt ist oder ob es marktbedingte Saisoneinflüsse gibt.

Dazu wurden die Herstelldaten aller Chargen analysiert, die zwischen Januar 2000 und Dezember 2002²⁶ hergestellt worden sind (3 Jahre).

Auswertung der Produktionsauslastung

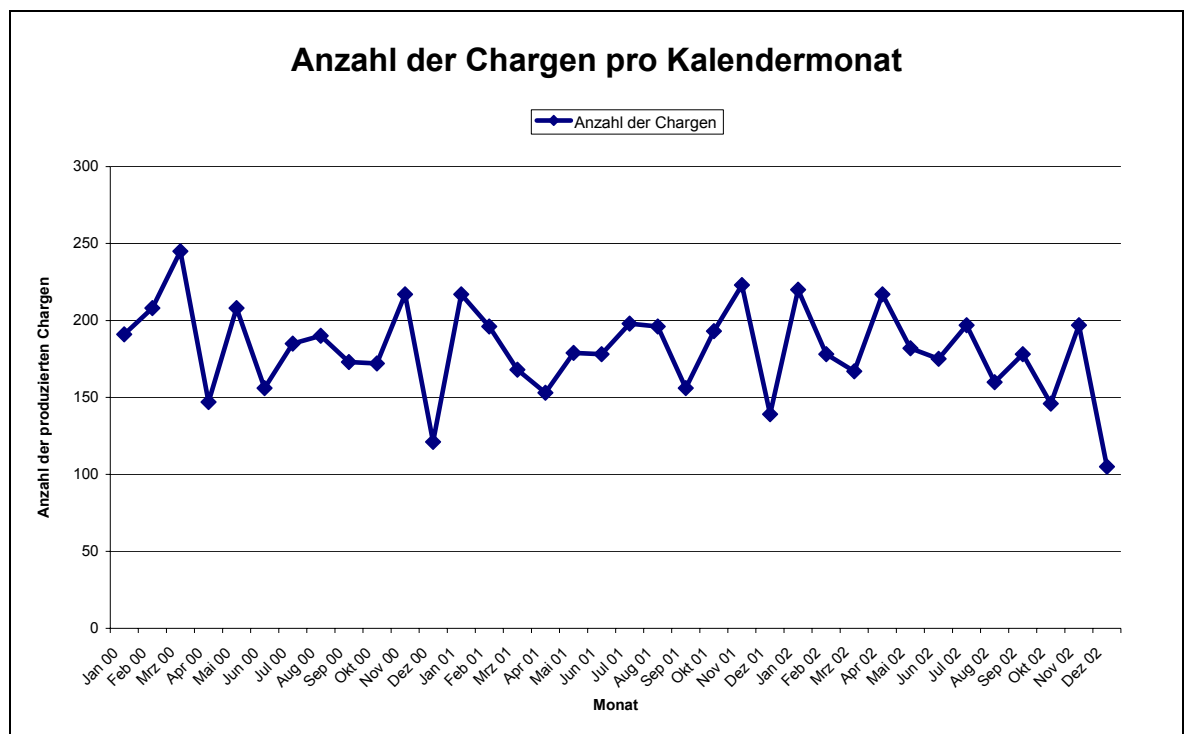


Diagramm 10 : Anzahl der Chargen pro Kalendermonat

Die Grafik zeigt, dass im Schnitt pro Monat zwischen 150 und 250 Chargen gefertigt werden (Mittelwert: 181,4 Chargen pro Monat). Bei durchschnittlichen 22,5 Arbeitstagen pro Monat werden relativ gleichmäßig 8 Chargen pro Arbeitstag hergestellt.

Erkennbar ist, dass jeweils im Dezember weniger Chargen als in den übrigen Monaten gefertigt werden.

Dies wird in der Darstellung der Daten auf Monate addiert besonders deutlich:

²⁶ Zwar wurden nur 36 Monate der Produktion ausgewertet (im Gegensatz zu 48 Monaten aus dem Monitoring-Programm) aber dieser Unterschied ist unkritisch, da auch 3 Jahr Produktion ausreichend sind, um saisonbedingte Schwankungen zu identifizieren.

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

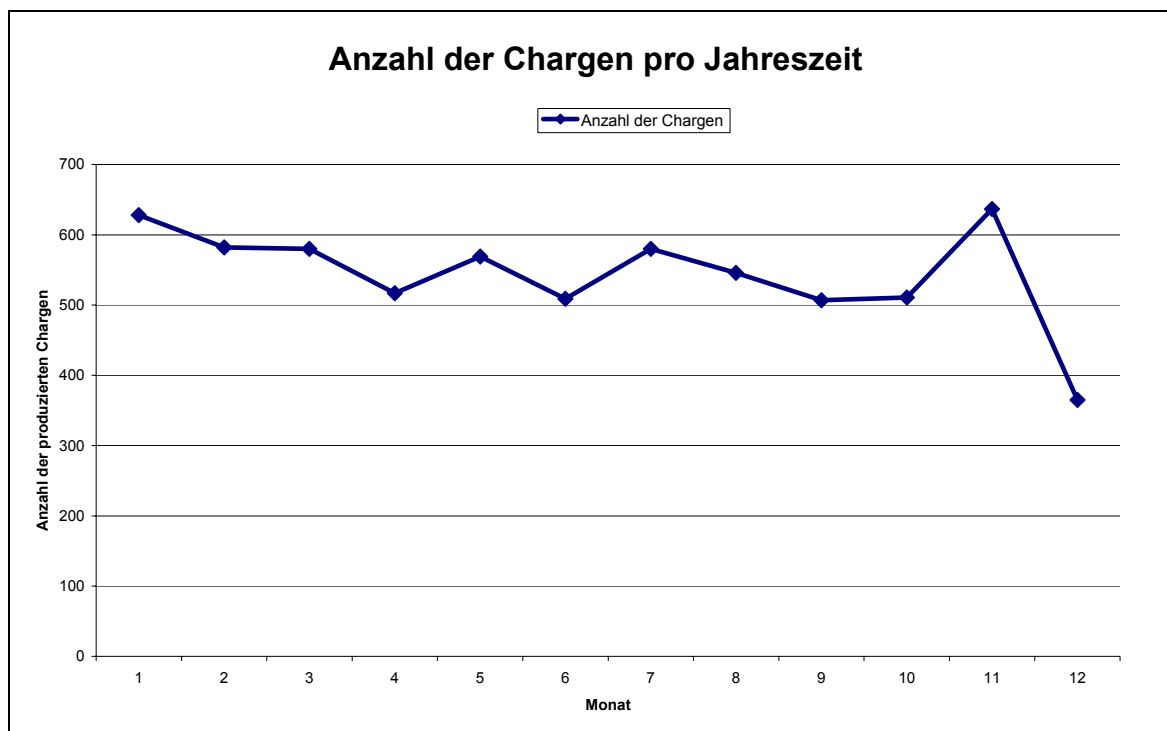


Diagramm 11 : Anzahl der Chargen pro Monat

Das Diagramm zeigt, dass die Produktion über das Jahr relativ gleichmäßig erfolgt. Nur im Dezember werden besonders wenig Chargen produziert, während im November und Januar (jeweils angrenzende Monate) mehr produziert wird.

Der Abfall im Dezember ist durch die Betriebsruhe zu erklären. Jedes Jahr wird in der Zeit von Weihnachten bis Anfang Januar der Produktionsbetrieb eingestellt. D.h. der Dezember hat weniger Arbeitstage als ein Durchschnittsmonat. Dieser Produktionsrückstand im Dezember wird durch Vorproduktion im November und Nachholen des Rückstands im Januar wieder ausgeglichen.

Die Schwankung ist nicht besonders stark ausgeprägt (im Dezember sinkt die Produktion um ca. 30%). Da aber im Dezember nur durchschnittlich 11 (statt 22,5) Arbeitstage zur Verfügung stehen, werden im Dezember durchschnittlich 11 (statt 8 im Mittelwert) Chargen pro Arbeitstag produziert.

Das heißt: an den wenigen Arbeitstagen im Dezember wird überdurchschnittlich intensiv gearbeitet. Das gleicht die niedrigere Anzahl der Arbeitstage teilweise aus.

Daher wird in weiteren Untersuchungen davon ausgegangen, dass die Produktion über das Jahr verteilt relativ gleichmäßig erfolgt.

Einfluss der Jahreszeiten auf KBE-Belastung

Diagramm 12 zeigt die KBE-Belastung je Reinheitsklasse gruppiert nach Monaten. Der Verlauf über die gesamte Zeit (also 48 Monate) ist unter Punkt 0 dargestellt.

Alle Werte sind in % vom Grenzwert ausgedrückt und lassen sich daher einheitlich in einem Diagramm mit einer X-Achse darstellen:

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

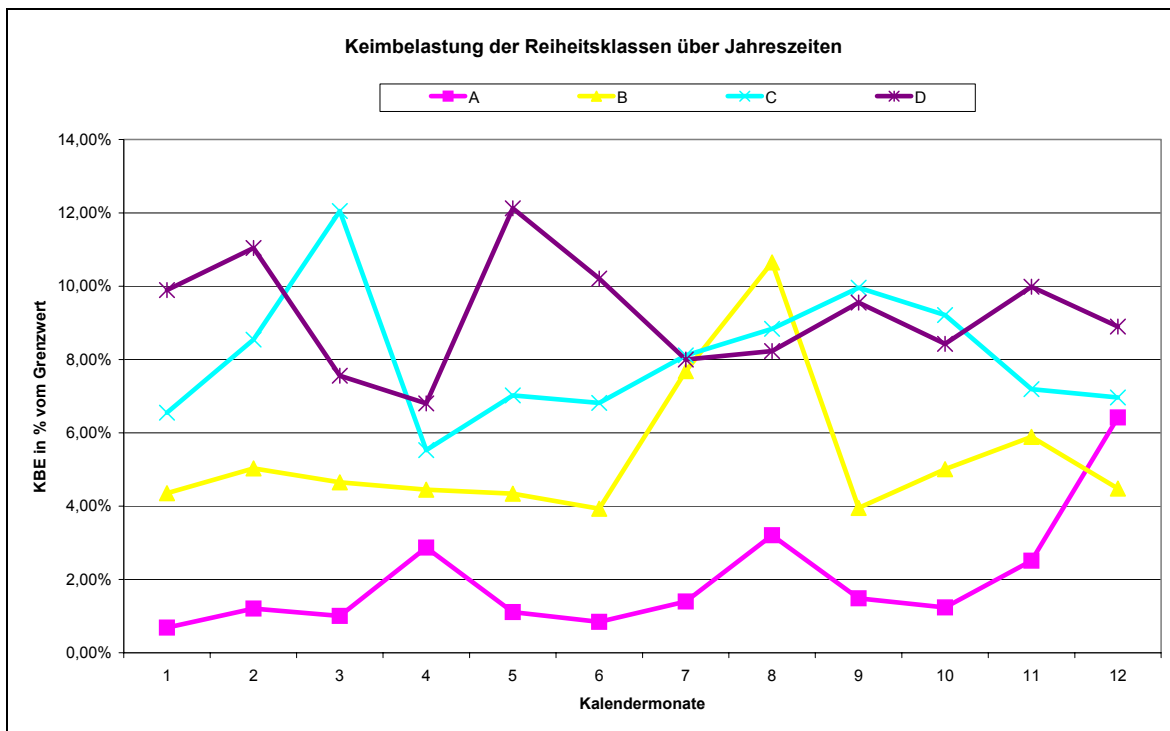


Diagramm 12: Keimbelastung je Reinheitsklasse über Jahreszeiten

Bis auf Reinheitsklasse D bewegen sich alle Reinheitsklasse über die Jahreszeiten gesehen zwischen 0 und 10% zulässige KBE. Die Spitzen in den Reinheitsklassen A und B täuschen etwas, da hier der Verlauf, bedingt durch den sehr kleinen Bereich der zulässigen Keimzahl stark gestreckt ist.

In Diagramm 13 werden die gleichen Werte in KBE pro Messung ausgedrückt (Wie viele Keime werden durchschnittlich in einer Messung identifiziert?).

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

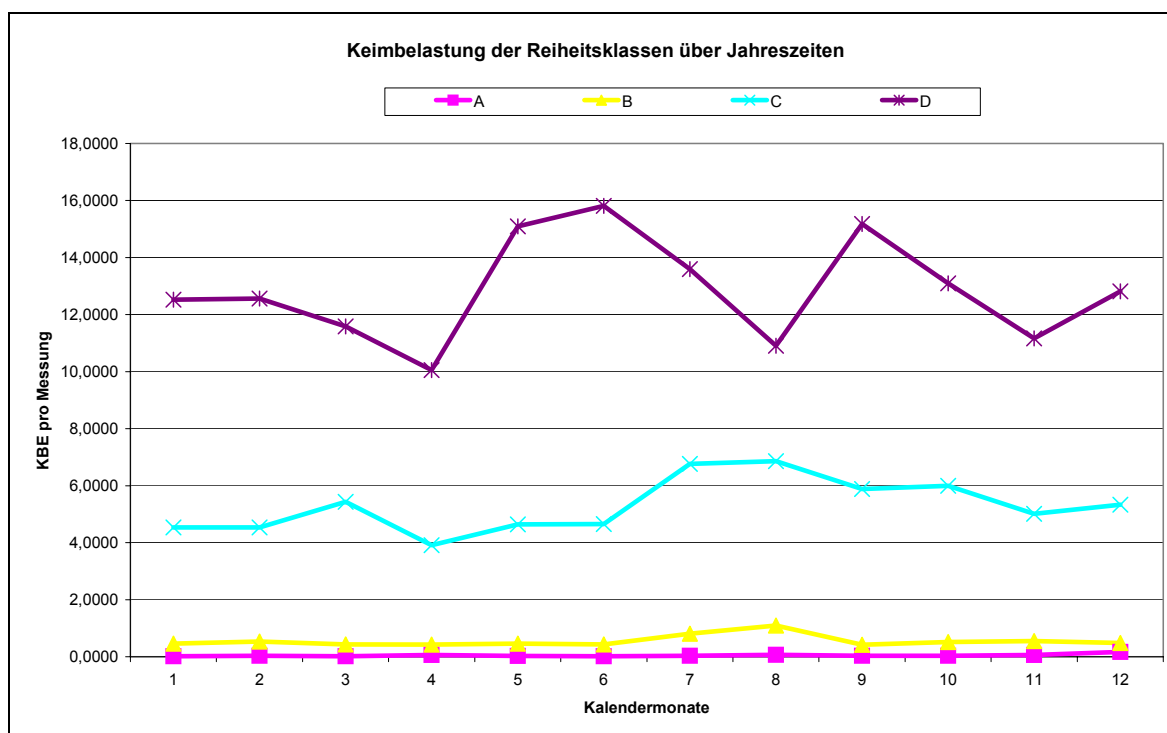


Diagramm 13 : Keimbelastung der Reinheitsklassen über Jahreszeiten in KBE pro Messung

In dieser Darstellung (Diagramm 13) fehlt die Spreizung der Werte durch ihrer unterschiedlichen Grenzwerte.

Tabelle 35: Werte aus Diagramm 13

Reinheitsklasse	Mittelwert (in KBE pro Messwert)	Standardabweichung	Min	Max
A	0,05	0,0414	0,02 (Jun)	0,17 (Dez)
B	0,55	0,1999	0,42 (Sep)	1,09 (Aug)
C	5,30	0,9262	3,91 (Apr)	6,86(Jul)
D	12,87	1,8116	10,05 (Apr)	15,81(Jun)

In Tabelle 35 ist zu erkennen, dass über ein Jahr in RK A praktisch kaum ein Keim gefunden wird (Mittelwert 0,048). In Reinheitsklasse B werden über das Jahr durchschnittlich 0,5 Keime gefunden. Der Unterschied in z.B. Reinheitsklasse B zwischen dem August (Maximalwert) und dem Durchschnitt beträgt 0,5 Keime pro Messung. Bezogen auf den Grenzwert macht dieser „halbe“ Keim einen Anstieg von 5% auf 10% (gemessen in KBE vom Grenzwert) aus. Maximal und Minimalwert liegen in aufeinander folgenden Monaten.

Man kann also sagen, dass in den Reinheitsklassen A und B der jahreszeitliche Einfluss gering ist und die Schwankung eher zufällig zustande kommt.

In Reinheitsklasse C werden im Mittel zwischen 4 und 6 Keime pro Messung

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

identifiziert (Mittelwert 5,1065). Der Verlauf zeigt, dass in der zweiten Jahreshälfte mehr Keime als in der ersten gefunden werden. Die Schwankung um den Mittelwert beträgt aber nur ca. 1 KBE pro Messung. Das ist der kleinste Unterschied, der in der Rohdatenermittlung identifiziert werden kann (KBE = Anzahl der sichtbaren Kolonien nach der Bebrütung).

Es scheint war einen leichten jahreszeitlichen Einfluss zu geben, der aber so gering ist, dass er in der Bewertung von anderen Einflüssen nicht berücksichtigt wird.

Die Reinheitsklasse D ist die unsauberste und damit den Schwankungen der Umgebung am stärksten ausgesetzt. Trotzdem ist die Spannweite nur +/- 3 KBE zwischen dem maximalen und minimalen Wert.

Wenn man die Monatsdarstellung noch weiter zu Jahreszeiten verdichtet, wird deutlich, dass der Unterschied zwischen den Jahreszeiten in jeder Reinheitsklassen nur gering ist (Diagramm 14).

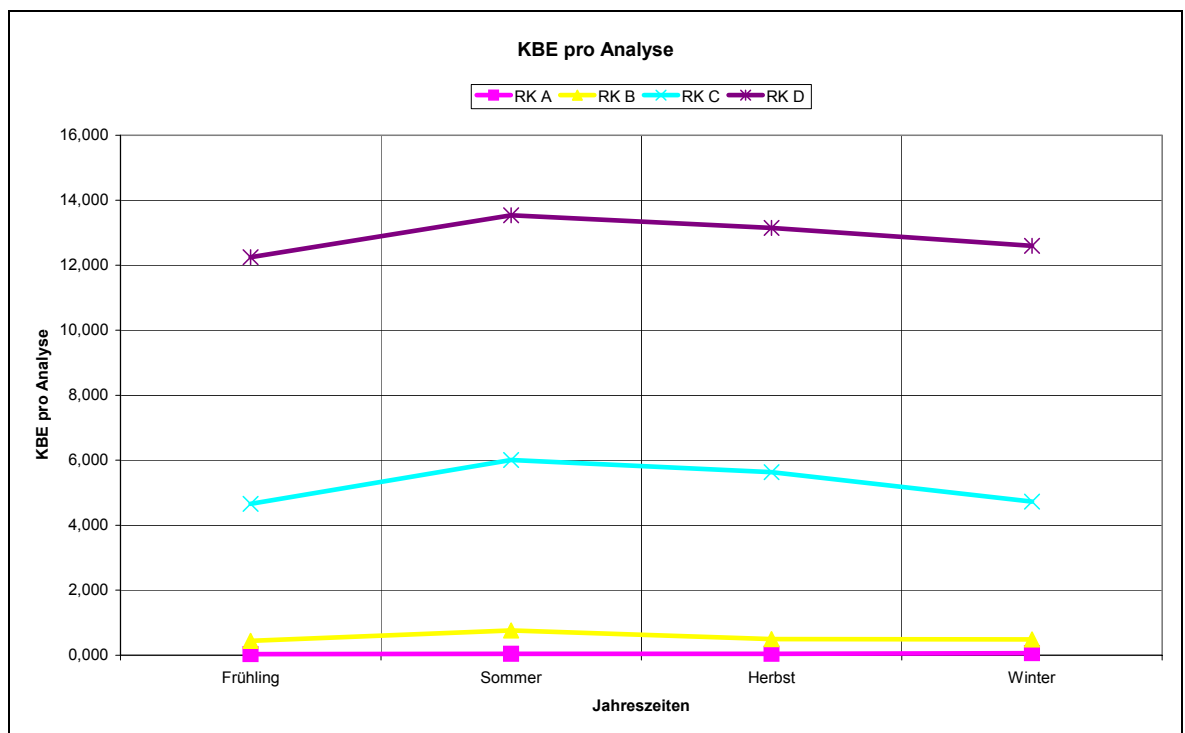


Diagramm 14 : KBE pro Messung in Jahreszeiten

In diesem Zusammenhang wurde die meteorologische Definition der Jahreszeiten verwendet:

Jahreszeit	Eingeschlossene Monate
Frühling	März, April, Mai
Sommer	Juni, Juli, August
Herbst	September, Oktober, November
Winter	Dezember, Januar, Februar

Der Vorteil dieser Jahreszeitendefinition ist, dass immer volle Monate einer

 Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Jahreszeit zugerechnet werden. Im Vergleich zu den kalendarischen Definitionen beginnen alle Jahreszeiten ca. 3 Wochen früher.

In dieser Darstellung ist zu erkennen, dass in den Reinheitsklassen B, C und D der Sommer leicht erhöhte Keimzahlen aufweist. Der Unterschied ist aber in jeder Reinheitsklasse sehr gering (unter +/-1 KBE).

Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses von Jahreszeiten

Die Auswertung der Daten hat gezeigt, dass der Einfluss der Jahreszeiten auf die Keimbelastung sehr gering ist. Typischerweise gibt es im Sommer eine leichte Erhöhung, die aber so gering ist (weniger als 1 KBE), dass man sagen kann, dass der Einfluss der Jahreszeiten vernachlässigbar ist. Für die weitere Betrachtung kann also auf eine Berücksichtigung der Jahreszeiten verzichtet werden.

6.5 Einfluss von Tageszeiten auf die KBE-Belastung

Datenselektion

Für die Untersuchung wurden alle Methoden, die Keime messen einbezogen. Die Datenselektion ist ähnlich wie bei der Untersuchung der Jahreszeitflüsse (siehe Punkt 0). Der Unterschied liegt darin, dass hier die Daten nicht nach Monaten, sondern nach Uhrzeit der Probennahme gruppiert sind.

SQL-Statement

```
SELECT    Daten.Reinheitsklase,      Hour([Datum_Ist])    AS    Stunde,
Count(Daten.Ergebnis) AS Anz, Avg(Daten.Proz_Spez) AS [Mittelwert von
Proz_Spez], Sum(Daten.Ergebnis) AS KBE, [KBE]/[Anz] AS Pro_Analyse
FROM Daten
WHERE    (((Daten.M_Gruppe)="2"    Or    (Daten.M_Gruppe)="4")    AND
((Daten.Datum_Ist)    Between    #1/1/1999#    And    #12/31/2002#)    AND
((Daten.Ergebnisklasse)=1))
GROUP BY Daten.Reinheitsklase, Hour([Datum_Ist])
HAVING  (((Daten.Reinheitsklase)    Not    Like    "schwarz")    AND    (Not
(Hour([Datum_Ist]))=0) AND ((Count(Daten.Ergebnis))>20));
```

Um volle Perioden zu untersuchen, wurden alle KBE-Ergebnisse (Gruppiert nach Reinheitsklasse und Monat) zwischen dem 1.1.1999 und 31.12.2002 ausgewertet (48 Monate = 4 Jahre). Daten die nicht aus Reinräumen stammen (RK = „schwarz“), Daten ohne Uhrzeitangabe (werden als Stunde 0 interpretiert) und Uhrzeiten zu denen weniger als 20 Messungen durchgeführt worden sind, wurden ausgenommen.

Selektionsergebnis in der Übersicht

Reinheitsklasse	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelergebnisse
A	16	13.365
B	23	119.228
C	13	12.901
D	13	8.161

Qualitätssicherung der Datenselektion:

Da bei dieser Datenselektion die Anzahl der Datensätze zwischen den Reinheitsklassen variabel ist, wurden als Test alle Einzelergebnisse der Reinheitsklasse D (8.161 Messwerte) analysiert. Als Ergebnis zeigte sich, dass nur zu 13 Stunden (vom Probenahmezeitpunkt IST-Datum) Messwerte vorlagen. Da dieser Wert mit der Anzahl der Datensätze übereinstimmt, kann davon ausgegangen werden, dass die oben beschriebene Datenselektion richtig ist.

Auswertung der Datenselektion

Das Diagramm 15 zeigt die Summe aller gefundenen Keime über den Tag verteilt:

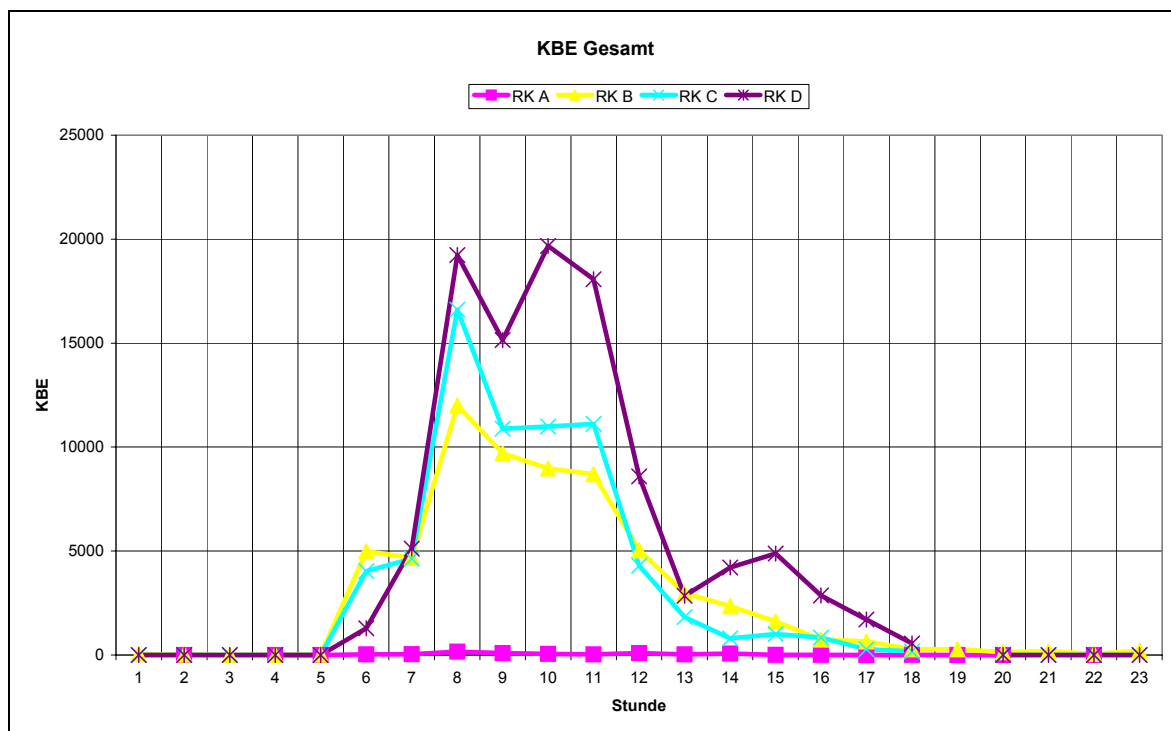


Diagramm 15 : Summe der KBE über den Tag verteilt

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

Gleichzeitig sind aber auch die KBE-Messungen nicht gleichmäßig über den Tag verteilt:

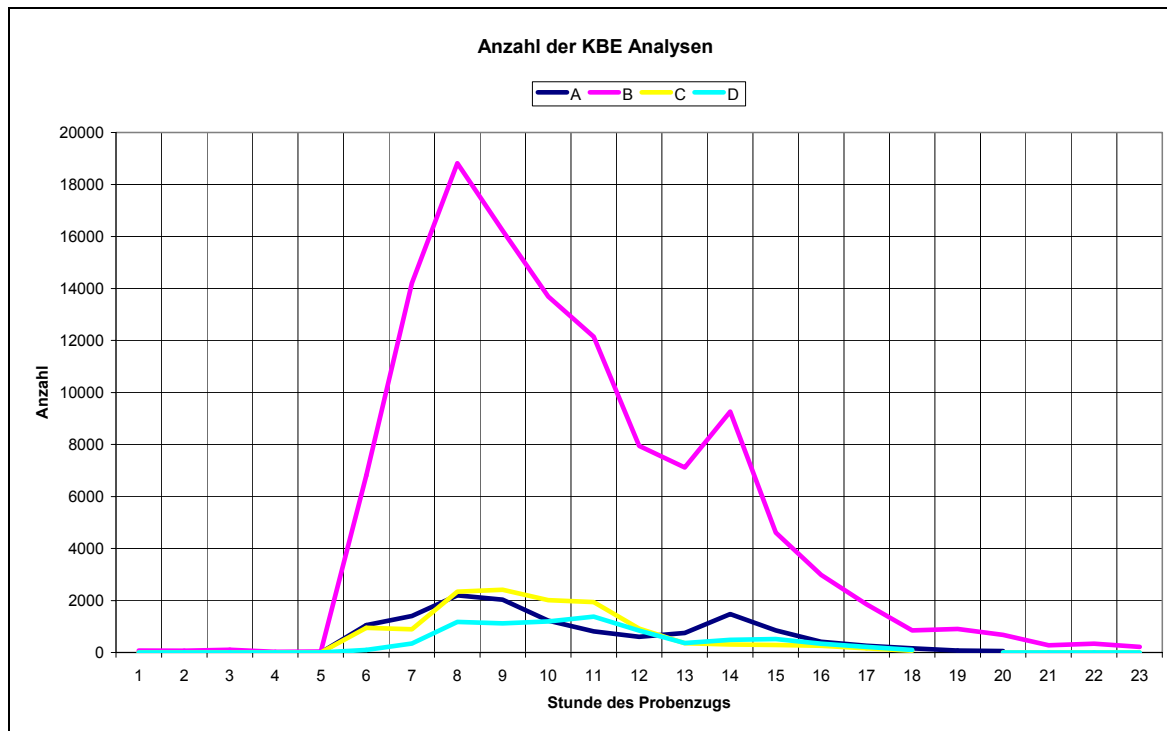


Diagramm 16 : Verteilung der KBE Messungen über den Tag

Die Messungen folgen dem normalen Betrieb, der in der Regel eine Schicht von ungefähr 6 Uhr bis ungefähr 16 Uhr umfasst. In dieser Kernzeit konzentrieren sich auch alle Messungen.

Gut zu erkennen ist, dass der Anteil der Messungen für die Reinheitsklasse B mit Abstand am größten ist. Wie unter Punkt 2.1 beschrieben, sind hier die Anforderungen relativ gesehen am höchsten. Es müssen ca. 77% des gesamten Aufwands für mikrobiologischen Umgebungsmonitoring in RK B investiert werden.

Damit wird klar, dass sich, vom Standpunkt des mikrobiologischen Monitorings, die Investition in Isolatortechnik lohnt. Die Reinheitsklasse B ist ja bei aseptischer Fertigung als Umgebung für die kritischen Bereiche (Reinheitsklasse A) gefordert. Beim Einsatz der Isolatortechnik kann auf die Klasse B ganz verzichtet werden, so dass ein erheblicher Anteil des mikrobiologischen Monitorings eingespart werden kann.

Da, wenn viele KBE Messungen durchgeführt werden, auch viele Keime gefunden werden ist die Darstellung der Keimbelastung als KBE pro Messung aussagefähiger:

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

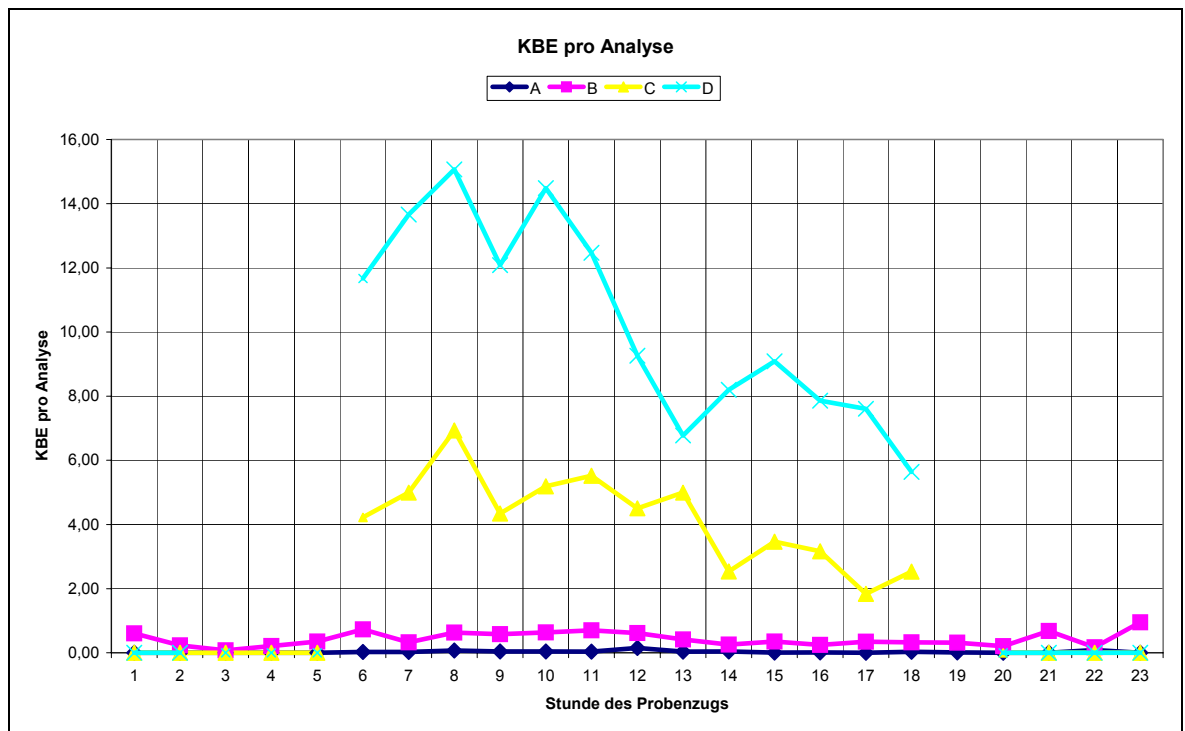


Diagramm 17 : Profil der Keime pro Messung zu Tageszeiten

In Diagramm 17 ist zu erkennen, dass in Reinheitsklasse A und B über den Tag verteilt deutlich weniger als 1 Keim pro Messung gefunden werden. Die Uhrzeit der Probenahme spielt keine Rolle.

In den Reinheitsklassen C und D ist ein Abfall der Keimbelastung über den Tag dargestellt zu erkennen.

Diese beiden Reinheitsklassen stehen bei der Fertigung steriler, im Endbehältnis sterilisierbarer Arzneimittel in enger Beziehung. Ähnlich wie die Klassen A und B bei der aseptischen Fertigung, werden die für eine Kontamination kritischen Arbeitsschritte (z.B. Abfüllung, da hier die Umgebung mit dem offenen Produkt in Berührung kommt) in Reinheitsklasse C und die unkritischen (z.B. Sterilisation der verschlossenen Behältnisse) in der Klasse D durchgeführt. Darüber hinaus ist die Reinheitsklasse C von D umgeben.

Bei der Fertigung einer Charge (terminal sterilisiert) durchläuft das Produkt in der Regel mehrmals die Grenzen der Reinheitsklasse C und D und auch die Aktivitäten bei der Fertigung stehen in Beziehung zueinander.

Daher ist es nicht verwunderlich, dass beide Reinheitsklassen ähnlich reagieren. Da in Reinheitsklasse D geringe Anforderungen an z.B. Kleidung, Luftwechselzahl und Oberflächenbeschaffenheit bestehen, ist zu erwarten, dass die Klasse D stärker auf normale Aktivitäten reagiert als die „saubere“ Klasse C. Davon ausgehend steigen die Reinraumanforderungen in der Reihenfolge zu B und A weiter an, so dass diese noch weniger auf das Tagesaktivitätsprofil reagieren. Dies ist in Diagramm 18 gut zu erkennen.

Es folgt die Darstellung der Werte für Reinheitsklasse C und D dargestellt als %

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

vom Grenzwert (Diagramm 18):

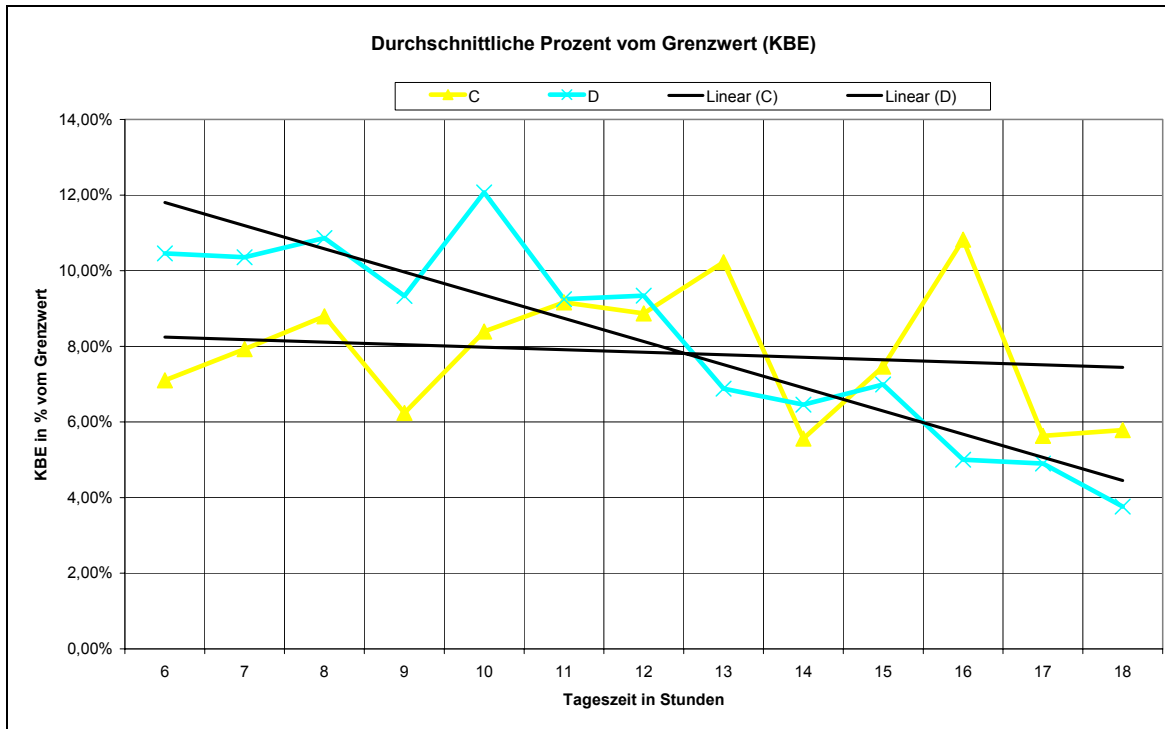


Diagramm 18 : KBE Belastung der Reinheitsklasse C und D über den Tag verteilt

Bei dieser Darstellung werden die unterschiedlichen Grenzwerte der einzelnen Messungen berücksichtigt.

In Reinheitsklasse C (unterstützt durch die Trendlinie) ist ein sehr leichter Abfall zu erkennen. Über den Tag gibt es Schwankungen von 5,5 bis 10,8 %. In KBEs ist das eine Schwankung zwischen 1,8 und 6,9 KBE pro Messung. Die Spannweite der Messreihe beträgt also 5,1 KBE.

In RK D ist der Trend deutlicher ausgeprägt. Die Schwankung liegt zwischen 12,1 und 3,8 (in KBE 14,4 und 5,6 KBE). Ab 12 Uhr geht die Keimbelastung stetig zurück.

Als Erklärung dieser Ergebnisse können wiederum die Aktivitäten im Reinraum herangezogen werden.

Je höher die Reinraumklasse (= je sauberer und stärker von der Umwelt abgeschirmt), desto geringer ist die Reaktion der Keimbelastung auf Änderung Aktivitäten.

Deshalb zeigen die Reinheitsklassen A und B kaum eine Änderung der Keimbelastung im Tagesprofil.

Im untersuchten Betrieb wird üblicherweise im 1 Schicht-Betrieb gearbeitet (7,5 Stunden Arbeitszeit + 45 min Pause). Aktivitäten zur Produktion einer Chargen starten typischer Weise gegen 6:00 Uhr morgens.

Dabei sind viele Handgriffe zum Einrichten und Starten von Maschinen und Anlagen notwendig.

Gegen 13:00 Uhr ist die Charge fertig verarbeitet und es beginnen Reinigungs- und Rüstarbeiten, als Vorbereitung zur neuen Produktionsschicht.

Gegen 15:00 Uhr endet die normale Schicht. Ab jetzt sinkt die Personalstärke ständig.

Man kann sagen, dass die Keimbelastung diesem Aktivitätsprofil über den Tag folgt.

Ergebnisse

Über den Tag verteilt verhalten sich die einzelnen Reinheitsklassen unterschiedlich. Während die Bereiche der aseptischen Produktion (Klasse A und B) die KBE-Belastung über den Tag verteilt kaum Veränderungen zeigt, reagieren die Klassen C und D in der untersuchten Produktion auf die Intensität der Aktivitäten in den Reinräumen.

Übersicht Reinheitsklassen (dargestellt in KBE pro Messung):

Kenngröße	A	B	C	D
Mittelwert	0,03	0,43	4,17	10,30
Min	0,00	0,08	1,84	5,64
Max	0,15	0,95	6,93	15,07
Spannweite	0,15	0,87	5,09	9,43
Standardabweichung	45,1102	0,2247	1,4224	3,1042

Dabei ist die Schwankung zwischen Klasse C und D vergleichbar (Spannweite entspricht ungefähr dem Mittelwert). Allerdings ist in Klasse D ein deutlicher Abwärtstrend über den Tag zu erkennen.

In Bezug auf die jeweiligen Grenzwerte ist diese Schwankung jedoch gering. In Reinheitsklasse D fällt der lineare Trend (siehe Diagramm 18) von 12% auf 4% während der, der Reinheitsklasse C, um 8% schwankt. Das heißt von den erlaubten 100% Keimbelastung (= Aktionsgrenze erreicht aber nicht überschritten), bleiben die Schwankungen im unteren Bereich. Erst bei einer Schwankung die 10 Mal größer ist, würde die Qualität der mikrobiologischen Sauberkeit des Reinraums leiden.

Um die Qualität des Reinraums am besten einzuschätzen zu können, sollten die KBE-Messungen zu Zeiten hoher Aktivität genommen werden; allerdings ist zu beachten, dass dadurch die Messung nicht gestört werden darf.

Grundsätzlich kann man aber für alle Reinheitsklassen sagen, dass der Zeitpunkt der Messung im Tagesverlauf keine entscheidende Rolle spielt. Zum selben Ergebnis kommen auch [Cundell et al.] 1998.

Die Auswertung der Daten hat ergeben, dass nur in Reinheitsklasse D ein

geringer Unterschied im Tagesverlauf zu erkennen ist. Vorgaben, dass gewisse Messungen zu bestimmten Tageszeiten durchgeführt werden müssen (z.B. morgens oder abends) würden nicht zu genaueren Daten führen. Wenn z.B. ein Reinraum nur 1x pro Woche auf Luftkeime untersucht wird, ist es vernachlässigbar, zu welcher Tageszeit die Probe gezogen wird.

6.6 Einfluss der Qualität der Reinraumausstattung

Die untersuchte Produktionsumgebung weist Unterschiede in der Beschaffenheit der Reinraumausstattung aus. Die Betriebsteile C1, C2 und C3 wurden im Jahr 1970 errichtet, während der Teil C4 aus dem Jahr 1993²⁷ stammt. Zwar sind beide Teile (alt und neu) durch ständige Wartung und Instandhaltung in einem sehr guten Zustand und erfüllen gleichermaßen alle GMP-Anforderungen, aber z.B. im Design der Lüftungsanlagen oder Beschaffenheit der Oberflächen gibt es Unterschiede.

Die Produktionsprozesse der Räume sind vergleichbar. Beide werden von den selben Reinigungskräften gesäubert und desinfiziert. Es werden identische Putz- und Desinfektionsmittel genutzt. Auch die pharmazeutischen Prozesse unterscheiden sich prinzipiell nicht. In beiden Teilen findet die Produktion von Parenteralia mit Einwaage, Ansatzherstellung, Abfüllung und optischer Kontrolle statt. Da im Bereich C4 nur aseptische Produktion stattfindet, wurden nur die Ergebnisse der Reinheitsklassen A und B zwischen den beiden Bereichen verglichen.

Damit wird klar, dass Design und die Qualifizierung von Reinräumen einer der wichtigsten Faktoren zur GMP-gerechten Produktionsumgebung von Reinräumen ist.

Datenselektion

SQL-Statement

```
SELECT Year([Datum_ist]) & "." & Month([Datum_ist]) AS Woche,
Sum(Daten.Ergebnis) AS KBE, Count(Daten.Ergebnis) AS Anz,
Avg(Daten.Proz_Spez) AS [%AG]
FROM Daten
WHERE (((Daten.Reinheitsklase)="A") AND ((Daten.M_Gruppe)="2" Or
(Daten.M_Gruppe)="4") AND ((Daten.Ergebnisklasse)=1) AND
((Daten.Betrieb)="C2" Or (Daten.Betrieb)="C1" Or (Daten.Betrieb)="C3"))
GROUP BY Year([Datum_ist]) & "." & Month([Datum_ist]);
```

²⁷ Jahr der Einweihung

Dieses Beispiel liefert die Daten der Reinheitsklasse A für die Betriebe C1, C2 und C3. Durch Austausch dieser Bedingung durch „C4“ werden die Daten des Betriebs C4 selektiert. Durch Austausch der Bedingung A (=Reinheitsklasse A) durch B (=Reinheitsklasse B) werden die jeweiligen Daten der Reinheitsklasse B gewählt.

Selektionsergebnis in der Übersicht

Reinheitsklasse	Anzahl der Datensätze	Anzahl der zugrundeliegenden Einzelergebnisse
Betriebe C1 bis C3: A	52	39.792
Betriebe C1 bis C3: B	52	5.640
Betrieb C4: A	52	87.749
Betrieb C4: B	52	8.799

Qualitätssicherung der Datenselektion:

Die Datenselektion umfasst den gesamten Zeitraum der Datenbank (vom 01/1999 bis 04/2003). Dieser Zeitraum umfasst 52 Monate. Da alle Datenreihen genau diese 52 Datensätze (pro Monat ein Datensatz) erbracht haben, kann davon ausgegangen werden, dass die Datenselektion richtig erfolgt ist.

Datenauswertung

Die folgende Grafik (Diagramm 19) belegt, dass die Qualität der Reinraumausrüstung bei sonst vergleichbaren Faktoren die wichtigste Rolle in der mikrobiologischen Qualität der Produktionsumgebung spielt.

Teil 2: Untersuchung der Einflüsse auf die Keimbelastung

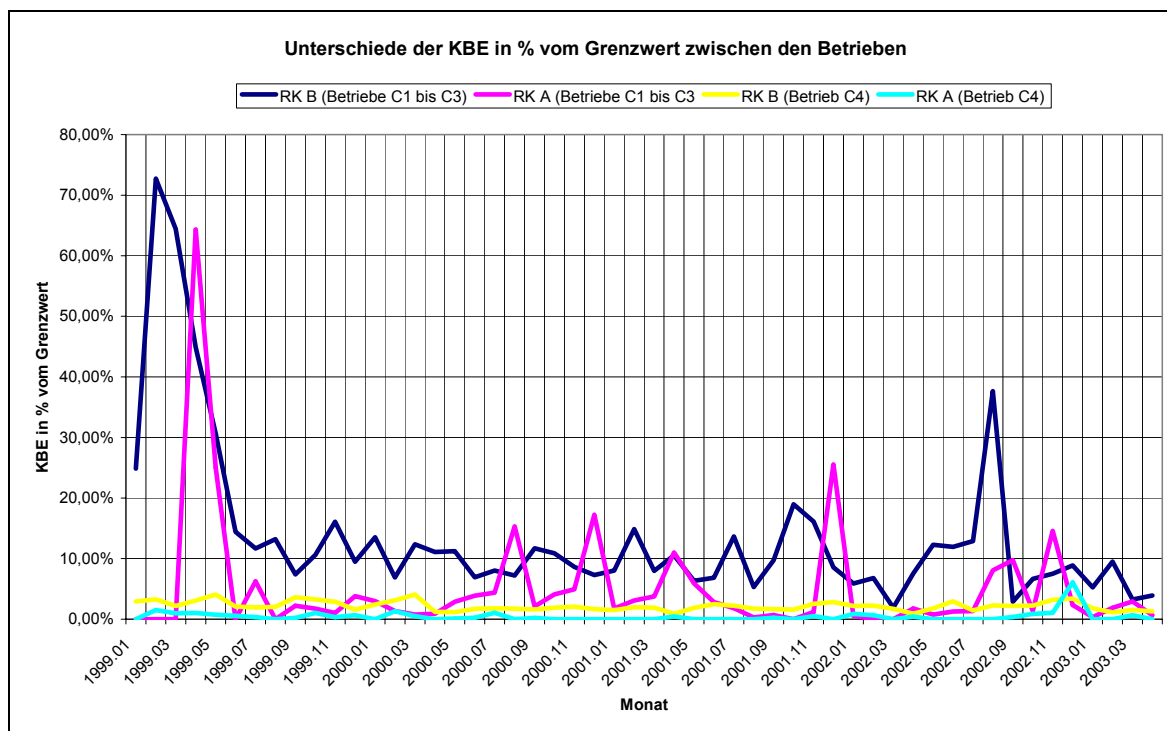


Diagramm 19 : Unterschiede der KBE-Belastung zwischen den Betrieben

Der Unterschied der Keimbelastung zeigt sich deutlich:

Reinheits- klasse	Betriebe C1, C2 und C3		Betrieb C4	
	KBE pro Messung	% vom Grenzwert	KBE pro Messung	% vom Grenzwert
B	1,015	13,60%	0,256	2,16%
A	0,094	5,20%	0,011	0,44%

Dabei ist der Unterschied nicht nur absolut, sondern auch im Verlauf der Keimbelastung erkennbar. Während der Graph der Reinheitsklassen des Betriebs C4 sehr stabil mit wenigen Schwankungen verläuft, zeigen die Betriebe C1 bis C3 deutlich Schwankungen.

Ergebnisse

Der Einfluss des Design des Reinraums hat einen starken Effekt auf die Keimbelastung. Dabei kann sowohl die Belastung absolut als auch die Schwankung deutlich durch ein modernes Reinraumdesign verbessert werden.

Das macht deutlich wie wichtig die Design Qualification (DQ-Phase) der Reinraumkonzeption ist. Ein mangelhaftes Design kann nachträglich nicht durch andere Maßnahmen ausgeglichen werden.

Dazu sollte Planung, Qualifizierung und Betrieb von Reinräumen in einem Integrierten Ansatz verfolgt werden [Gail].

6.7 Bewertung der einzelnen Einflussfaktoren auf die Keimbelastung

Die untersuchten Einflüsse wirken sich unterschiedlich stark in den jeweiligen Reinheitsklassen aus.

Einfluss	A	B	C	D
Jahreszeit	Gering	Gering	Gering	Gering
Tageszeit	Gering	Gering	Gering	(bestimmt durch Personalstunden)
Luftpartikel	Kein Zusammenhang	Kein Zusammenhang	Kein Zusammenhang	Kein Zusammenhang
Personalstunden im Reinraum	Nicht anwendbar (da keine Personen in RK A anwesend)	Groß	groß	groß
Maschinenstunden im Reinraum	Gering	Gering	Gering	Gering
Qualität der Reinraumausstattung	Sehr groß	Sehr groß	Sehr groß	Sehr groß

Die Jahreszeiten wirken sich kaum aus, wobei im Sommer eine leichte Erhöhung der Keimzahlen nachzuweisen ist. Reinräume sind von der Umwelt durch Filter, Schleusen und Druckkaskaden stark abgeschirmt. Da ist es nicht verwunderlich, dass Umwelteinflüsse außerhalb des Reinraums kaum auf sein Inneres wirken. Wenn sich in einem Reinraum eine große Abhängigkeit von Jahreszeiten zeigt, spricht das für einen Mangel im Design.

Ebenso konnte kein Zusammenhang zwischen Luftpartikel und KBE Belastung der Luft in Reinräumen nachgewiesen werden. Zwar treten Mikroorganismen nie isoliert sondern immer huckepack auf Partikel in der Luft auf, aber vermutlich gibt es viele Quellen für Keime (z.B. Personen) so dass eine Reduktion von Partikeln durch HEPA-Filter nicht in gleicher Weise auf Keimzahlen auswirkt. Die Auswertungen haben gezeigt, dass beide Messungen (Partikel und KBEs) unabhängig voneinander sind. Es ist nicht möglich von einer Partikelbelastung der Luft auf eine KBE-Belastung der Luft zu schließen oder umgekehrt.

Im Vergleich der Einflussfaktoren zeigt sich, dass die Keimbelastung eines Reinraums zum einen vom Design des Reinraums und zum anderen vom Verhältnis Personalstunden im Reinraum und den keimreduzierenden Maßnahmen (Reinigung, Desinfektion, Ruhezeiten/Spülphasen) abhängt.

Bei den Personalstunden im Reinraum muss der Tagesrhythmus einer Verdichtung > 1 Tag unterschieden werden:

Innerhalb eines Tages folgt die KBE-Belastung den Aktivitäten in Form von Personalstunden im Reinraum. Nach Abschluss eines Tageszyklus (z.B. einer Produktionsschicht) muss durch geeignete keimreduzierende Maßnahmen wieder der Ausgangszustand für den Folgezyklus erreicht werden.

Dieser Zusammenhang kann, als zusätzliches Kontrollkriterium eingesetzt verwendet werden. Typischerweise darf in der Verdichtung > 1 Tag (z.B. Woche oder Monat) kein Zusammenhang zwischen Personalstunden und KBE-Belastung vorhanden sein. Belastende und reinigende Maßnahmen halten sich die Waage und führen zu einer gleichbleibenden KBE-Belastung.

Ein Anstieg der KBE Zahlen durch vermehrte Personalstunden im Reinraum deutet darauf hin, dass die Grenzbelastung der Reinraumkapazität überschritten ist. Abhilfe können vermehrte Reinigungs- oder verminderte Produktionsaktivitäten schaffen.

7 Teil 3: Unterscheidung von „in control“ und „out of control“ Situationen

Der 3. Teil beschäftigt sich mit der Auswertung der Monitoring-Daten im laufenden pharmazeutischen Produktionsbetrieb. Während im Teil 1 und 2 lange Zeiträume untersucht wurden um mehr über Keimbelastung und Keimlandschaften zu erfahren, geht es im 3. Teil um kurzfristige Aussagen.

Im untersuchten Produktionsbetrieb fallen rund 60.000 Monitoring-Messungen pro Jahr an. Bei 250 Arbeitstagen pro Jahr sind das 240 Messergebnisse pro Jahr. Unter Punkt 5.5 wurde ausgeführt, dass davon 2,4 potentielle Fehlmessungen sind.

Für die laufende Produktion ist es wichtig, aus vielen unüberschaubaren Datenbergen zu einer klaren Bewertung der Reinheit der Produktionsumgebung zu kommen. Es geht immer um die Frage: „Sind die Raumraumbedingungen unter Kontrolle²⁸ oder nicht?“

Dabei kommen immer mehr wirtschaftliche Aspekte mit zum Tragen [Renger], [Dean, Bruttin].

Sowohl ein zu unrecht identifiziertes Problem als auch ein zu spät oder gar nicht erkanntes Problem kann zu erheblichen Folgekosten führen. Die Anwendung vorgestellten Auswertungsmethoden in Verbindung mit der eingesetzten Datenbank tragen zu einer effektiveren und damit kostensparender Compliance bei.

In diesem Kapitel werden Analysemethoden dargelegt, die die Frage nach den Reinraumbedingungen einfach beantworten können und dies seit mehreren Jahren in der Praxis bewiesen haben²⁹.

In Kapitel 2.3 wurde bereits auf die Besonderheiten der mikrobiologischen Monitoringergebnisse eingegangen. Übliche Datentrendauswertungen oder Ausreißertests haben sich in der Praxis aufgrund der besonderen

²⁸ Unter Kontrolle (oder in control) bedeutet, dass die Reinraumbedingungen den GMP-Vorgaben entsprechen und so die Voraussetzung bilden, eine hier produzierte Charge freigegeben zu können

²⁹ Die hier vorgestellten Analysemethoden werden z.T seit 2000 in dem hier beschriebenen Produktionsstandort eingesetzt.