

Biodekontamination eines großvolumigen Abfüllraumes mit Wasserstoffperoxid

Michael Jahnke^a und Gerhard Lauth^b

Abteilung Qualitätswesen/Mikrobiologie der Pharma Hameln GmbH^a, Hameln, und der Diessel GmbH & Co.^b, Hamburg

Zusammenfassung

Das Amsco VHP™-1000-System zur Erzeugung von gasförmigem Wasserstoffperoxid (VHP = Vaporized Hydrogen Peroxide) wurde zur Dekontamination eines Produktionsraumes für die aseptische Abfüllung von parenteralen Arzneimittelformen eingesetzt. Für das zu dekontaminierende Raumvolumen von 56 m³ war ein geeigneter Behandlungszyklus zu entwickeln, dessen Wirksamkeit durch umfangreiche mikrobiologische Statuserhebungen der Raumhygiene vor und im Anschluß an die Dekontaminierungszyklen sowie mittels Bioindikatoren (Sporen von *Bacillus stearothermophilus*) zu dokumentieren war.

Für das zu dekontaminierende Raumvolumen war es notwendig, während der Sterilisationsphase eine relativ hohe H₂O₂-Menge von 6 g/min zur Erhaltung einer ausreichenden Gaskonzentration kontinuierlich zuzuführen. Es wurden Bioindikatoren mit einer Resistenz, die gleich oder größer ist als mit 10⁶-Sporen von *Bacillus stearothermophilus* inokulierte Edelstahlplättchen, vollständig deaktiviert.

Summary

Biodecontamination of a High-volume Filling Station by Means of Hydrogen Peroxide

The Amsco VHP™-1000 system for generating gaseous hydrogen peroxide was used to decontaminate a production room used for the aseptic filling of parenteral dosage forms of drugs. The aim was to develop a suitable treatment cycle to decontaminate the 56 cu. m. enclosure and to record its efficiency by comparing the microbiological status of the room before and after the decontamination cycles. Bioindicators (spores of *Bacillus stearothermophilus*) were also used for testing purposes.

These two types of test confirmed the effectiveness of the decontamination cycles. In order to maintain an adequate concentration of gas to decontaminate the room, a continuous injection of a relatively high amount of gas (6 g/min) was required. Bioindicators with a resistance equal or larger than stainless steel coupons inoculated with 10⁶ spores of *B. stearothermophilus*, were completely inactivated.

Key words Biodekontamination · Wasserstoffperoxid

Pharm. Ind. 58, 1037–1042 (1996)

1. Einleitung

Das Amsco VHP™-1000-System (Abb. 1) setzt gasförmiges Wasserstoffperoxid (VHP = Vaporized Hydrogen Peroxide) zur Biodekontamination von sauberen, trockenen Oberflächen ein. Die Biodekontamination kann bei Temperaturen im Bereich von 4 bis 80 °C erfolgen (Nicholson 1994). Ein integriertes Trocknungssystem entfeuchtet den Raum auf max. 30 % RF (relative Luftfeuchtigkeit) und ermöglicht es, dem Luftstrom die zur Dekontamination notwendige Menge Wasserstoffperoxid zuzuführen, ohne eine Kondensation im Raum zu verursachen. Nach dem Einblasen und Verteilen im Raum wird das Wasserstoffperoxid in das Gerät zurückgeführt und katalytisch in Wasserstoff und Sauerstoff zerlegt. Das Trocknungssystem, das den bei der katalytischen Zerlegung entstehenden Wasserdampf bindet, kann nach dem Abschluß der Biodekontamination regeneriert werden.

Vor Beginn eines Dekontaminationszyklus überführt das Gerät flüssiges Wasserstoffperoxid (31 Gew.-%) aus einer 950-ml-Kartusche in ein Reservoir, das mit einem Wägesystem ausgestattet ist. Von dort wird das H₂O₂ in

der für den jeweiligen Zyklus benötigten Menge einem Verdampfer überführt. Das nun gasförmige Wasserstoffperoxid wird über einen vom jeweiligen Zyklus abhängigen Zeitraum durch einen Schlauch zur Dekontamination in den Raum geblasen. Die Ablüftung erfolgt über einen HEPA-Filter, der einem katalytischen Konverter und einer Trocknungskammer vorgeschaltet ist. Während der Konditionierungs- und der Sterilisationsphase wird kontinuierlich H₂O₂ in einen durch ein Heizsystem erwärmten Luftstrom eingespritzt und über einen weiteren HEPA-Filter der Raumluft zugeführt (Abb. 2).

Die Verteilung des Gases im Raum kann mittels Chemoindikatoren überprüft werden, während die Wirksamkeit mit biologischen Indikatoren nachzuweisen ist. Ein entscheidendes Kriterium für den Einsatz von Wasserstoffperoxid an aseptisch arbeitenden Abfüllmaschinen ist die Sporizität der Chemikalie, also deren Fähigkeit, Bakteriensporen in bestimmter Zeit zu einem hohen Prozentsatz zu inaktivieren. Es liegen umfangreiche Untersuchungen zur Bakterientoxizität und Sporizität von gasförmigem Wasserstoffperoxid vor. Wasserstoffperoxid wird durch die FDA als „generally recognized as safe“ (GRAS) eingestuft und ist zur Entkeimung von

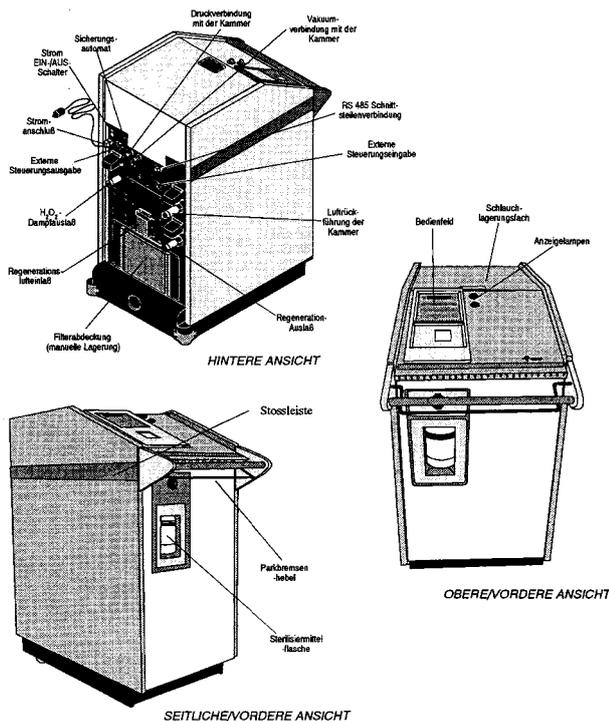


Abb. 1: Ansicht des Wasserstoffperoxid-Verdampfers VHP 1000.

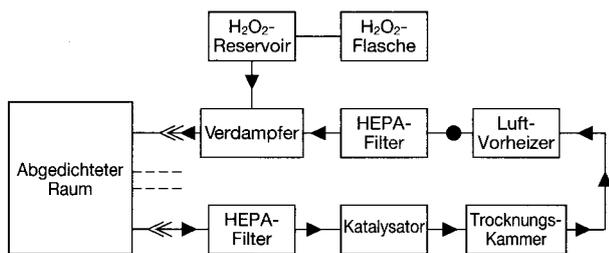


Abb. 2: Flußdiagramm zur geräteseitigen Erzeugung und katalytischen Aufspaltung von Wasserstoffperoxid. Die Abb. verdeutlicht die räumliche Trennung des dekontaminierenden Raumes vom Verdampfer.

Packstoffen und Maschinen akzeptiert. Der MAK-Wert (Maximale Arbeitsplatzkonzentration) liegt bei 1 ppm = 1,4 mg/m³ (DFG 1995; Bässler 1996).

Gasförmiges Wasserstoffperoxid darf nur in geschlossenen Räumen (z. B. Isolatoren, Schleusenkammern, Produktionsräumen) eingesetzt werden. Ein unkontrolliertes Entweichen von Wasserstoffperoxid muß ebenso vermieden werden wie das Einströmen nicht konditionierter (fehlende Temperierung und fehlender Zusatz von Wasserstoffperoxid) Außenluft. Das Gas muß gleichmäßig und in einer konstanten, bakterio- und sporiziden Mindestkonzentration im Raumvolumen verteilt werden können.

Das VHP-1000-System zur Erzeugung von gasförmigem Wasserstoffperoxid wurde zur Dekontamination eines Produktionsraumes der Pharma Hameln GmbH für die aseptische Abfüllung von parenteralen Arzneimittelformen eingesetzt. Während die Anwendung von H₂O₂ für die Dekontamination in der Isolatortechnologie bereits umfangreich beschrieben wurde (Ruffieux 1996; Sirch 1996; Wilke 1996), war für das zu dekontaminierende Raumvolumen von 56 m³ ein geeigneter Behandlungszyklus zu entwickeln. Die Wirksamkeit der Dekontaminationsmaßnahme wurde durch mikrobiologische Statushebungen der Raumhygiene vor und im Anschluß an die Behandlungszyklen sowie mittels Bioindikatoren (Sporen von *Bacillus stearothermophilus*) dokumentiert.

2. Material und Methoden

Für die Begasungsversuche wurde der Wasserstoffperoxid-Vernebler VHP-1000 (Amsco/Finn-Aqua, Apex, USA) eingesetzt. Temperatur- und Luftfeuchtebestimmungen erfolgten mit einem Thermo-Hyrometer testo 601 (Testo, Lenzkirchen). Luftströmungen im Raum wurden mit Strömungsprüfröhrchen CH 25301 (Dräger, Lübeck) visualisiert. Die Bestimmung von Luftkeimzahlen erfolgte mit Luftkeimsammlern RCS-plus (Biotest, Dreieich). Ein Partikelcounter APC3000 A (Malvern Instruments, Herrenberg) wurde zur Bestimmung von Partikelzahlen eingesetzt. Der Gehalt an Wasserstoffperoxid im Bereich von 0,1 bis 3 ppm in der Raumluft sowie in der Abluftströmung wurde mit Dräger Wasserstoffperoxid Kurzzeitdetektoren (Dräger) bestimmt. Chemi-VHP™-short-strip NB 302 Chemoindikatoren (Amsco/Finn-Aqua) dienen zur Visualisierung einer gleichmäßigen und zeitnahen Verteilung von Wasserstoffperoxid im Raumvolumen. Sie bestehen aus einem 5 × 1,5 cm langen Streifen mit einem endständigen gelben Farbfeld. Bei einem Kontakt mit Wasserstoffperoxid verfärbt sich der Indikator zu violett bis grau.

Standard-Rodac-Abklatschplatten und Luftkeimzahlagar GKS (Biotest) wurden für mikrobiologische Hygieneuntersuchungen eingesetzt. Die verwendeten Spordex-VHP-Bioindikatoren (Amsco) wiesen eine Population von 1,3 × 10⁵-Sporen pro Träger auf. Die typische Überlebenszeit der Sporen liegt bei 2,5 min bei einer Wasserstoffperoxid-Konzentration von 2 mg/l und bei 30 s bei einer Konzentration von 4 mg/l. Die Spordex-VHP-Bioindikatoren stellen eine Alternative dar zu Edelstahlplättchen, die mit 10⁶ Sporen von *B. stearothermophilus* inokuliert wurden (Amsco, 1994).

Zusätzliche Bioindikatoren mit einer Populationsdichte von 10⁵-Sporen pro Streifen und Validierungssets mit 10³- bis 10⁷-Sporen von *Bacillus stearothermophilus* pro Teststreifen (BAG, Lich) dienen zur Bestimmung der Populationsreduktion an vermutlich schwer gaszugänglichen Stellen des Raumes (z. B. in den Manipulationshandschuhen an der Abfüllstation).

Die Lagerung der Bioindikatoren erfolgte entsprechend der Herstellerangaben. Zur Qualitätskontrolle wurden Muster der Bioindikatoren unter aseptischen Bedingungen mit 5 ml sterilem Wasser versetzt und in Gegenwart von Glasperlen und unter starkem Schütteln zersetzt. Die milchig-trübe Suspension wurde für 15 min auf 90 °C erhitzt und anschließend in geeigneter Weise in sterilem Wasser verdünnt. Aliquots der Verdünnungen wurden auf CASO-Agarplatten ausgestrichen und bei 55 bis 60 °C in einem Brutschrank (Memmert, Schwabach) inkubiert. Nach Abschluß der Inkubationszeit von mindestens 48 h erfolgte eine Bestimmung der Ausgangskeimzahl auf den Indikatorstreifen.

Innerhalb von 2 h nach Abschluß eines Begasungsversuches wurden die Bioindikatoren dem mikrobiologischen Labor überstellt. Unter aseptischen Bedingungen erfolgte der individuelle Transfer der Bioindikatoren in jeweils 5-ml-Casein-Sojamehl-pepton (CASO)-Medium. Die Inkubation erfolgte bei 55 bis 60 °C über einen Zeitraum von bis zu 7 d. Zur Kontrolle wurden unbehandelte Bioindikatoren der gleichen Chargen in Medium überführt und unter gleichen Bedingungen inkubiert.

3. Validierungsgegenstand

Der Einsatz und die Effektivität von gasförmigem Wasserstoffperoxid zur Dekontamination einer kompakten Füll- und Verschließmaschine in einem Abfüllraum mit einem Volumeninhalt von 56 m³ sollte in einer Validierungsstudie überprüft werden. Die räumlichen, apparativen und hygienebezogenen Ausgangskonditionen werden im folgenden genannt.

3.1. Abfüllraum

Der Abfüllraum (Abb. 3) weist bei einer Raumtiefe von 4,9 m, einer Breite von 3,75 m und einer Höhe von 3,05 m ein Raumvolumen von 56 m³ auf. Im Raum ist eine Füll- und Verschließmaschine installiert. Der Abfüllbereich ist über je eine Material- und Personalschleuse zugänglich. Die Wände und Decken bestehen aus verfugten Elementen. Die Zuluft wird über HEPA-Filter als laminare Fallströmung oberhalb der Abfülllinie zugeführt und durch 2 HEPA-Umluftreiniger verteilt. Die Tür der Materialschleuse ist mit einem Überströmgitter ausgestattet.

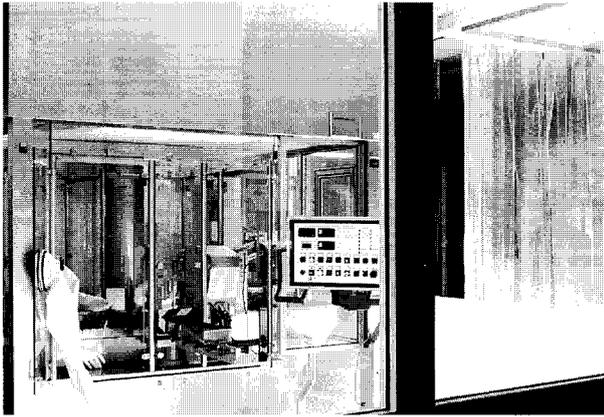


Abb. 3: Ansicht des zu dekontaminierenden Produktionsraumes inklusive der installierten Abfüllmaschine für aseptische Herstellungsprozesse.

3.2. Luftströmung und Temperaturverteilung

Zur Ermittlung der Temperaturverteilung und Luftströmung wurde der Raum in 3 Ebenen eingeteilt: 10 cm über dem Boden, halbe Höhe von 1,5 m und 10 cm unterhalb der Decke. Je Höhenschicht wurde an 11 bis 12 Punkten gemessen.

Die Zuluft strömt laminar aus den HEPA-Zuluftfiltern über die Abfüllmaschine zum Boden. Der Umluftreiniger über der Materialschleuse saugt seitlich oben unter der Decke die Raumluft an und drückt sie laminar nach unten in die Schleuse. Ein weiterer Umluftreiniger saugt die Raumluft in Wandnähe an und erzeugt einen unter der Decke parallel verlaufenden Luftstrom. Diese Bedingungen stellen mit einer Luftwechselrate von mind. 20 Raumvolumen pro h eine gerichtete und gleichmäßige Durchströmung des Raumes sicher.

3.3. Hygienische Ausgangsbedingungen

Die Dekontamination mit gasförmigem Wasserstoffperoxid erfolgte im Anschluß an umfangreiche räumliche und apparative Umbaumaßnahmen an der Füll- und Verschleißmaschine. Während dieser Maßnahmen erfolgten keine regelmäßigen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen.

Für die Begasungsversuche wurde der Raum grob gereinigt übergeben. Zur Ermittlung der Hygienesituation wurden nach etablierten Methoden (Seyfarth, 1993 b) Oberflächen- und Luftkeimzahlen sowie die Partikelverteilung und -anzahl bestimmt (Raumklassifikation nach US Federal Standard 209e).

3.4. Installationsvoraussetzungen

Die Anwendung von gasförmigem Wasserstoffperoxid setzt einen gegenüber der Umgebung abgeschirmten Begasungsraum voraus. Um eine Beeinflussung der lüftungstechnischen Installationen und damit verbunden einen potentiellen Transfer von Wasserstoffperoxid in benachbarte Räume hinein auszuschließen, erfolgte eine Abschottung der Luftzuführung, der Ersatz von Überströmgittern durch geschlossene Scheiben, wobei eine mit 2 Bohrungen für die Gaszu- und abführung versehen war. Türen wurden auf hermetischen Verschluss überprüft und gfs. abgedichtet sowie eine Abschottung des Überganges vom Depyrogenisierungstunnel zur Abfülllinie vorgesehen.

3.5. Prüfung auf akute Korrosion

Die Abschottung des Überganges vom Depyrogenisierungstunnel zur Abfülllinie wurde aus unbehandeltem, dünnwandigen Stahlblech (Abkantmaß ca. 75 x 40 cm) gefertigt. Das Blech wurde an der Unterkante zweimalig

um 90 Grad gekantet, um eine Auffangrinne zu bilden. Um einen Hinweis auf eine akute Korrosionsbildung zu erhalten, wurde das Blech mittig auf 25 cm Breite beidseitig mit Klarlack behandelt, an beiden Seiten begrenzt durch einen jeweils 25 cm breiten, unbehandelten Streifen.

3.6. Unterstützung der Gasverteilung im Raum

Zur Unterstützung einer gleichförmigen und zeitnahen Gasverteilung im Raum wurden 2 Ventilatoren im Raum installiert.

3.7. Chemoindikatoren

Chemoindikatoren werden, gleichmäßig im Begasungsraum verteilt, zur Kontrolle und Visualisierung einer gleichförmigen räumlichen und zeitlichen Gasverteilung eingesetzt. Im zu behandelnden Raum wurden mindestens 25 Chemoindikatoren sowohl frei im Raum als auch innerhalb der Abschottungen der Abfüllanlage platziert (Abb. 4).

3.8. Bioindikatoren

Auf Prüfstreifen aufgebrachte Sporen von *Bacillus stearothermophilus* dienen zur mikrobiologischen Prozessvalidierung. Im zu behandelnden Raum wurden mindestens 25 Bioindikatoren sowohl frei im Raum als auch innerhalb der Abschottungen der Abfüllanlage platziert (Abb. 4). Zur Bestimmung der Populationsreduktion an vermutlich schwer gaszugänglichen Stellen des Raumes (z. B. in den Manipulationshandschuhen an der Abfüllstation) wurden Validierungssets mit 10^3 - bis 10^7 -Sporen von *Bacillus stearothermophilus* pro Teststreifen verwendet.

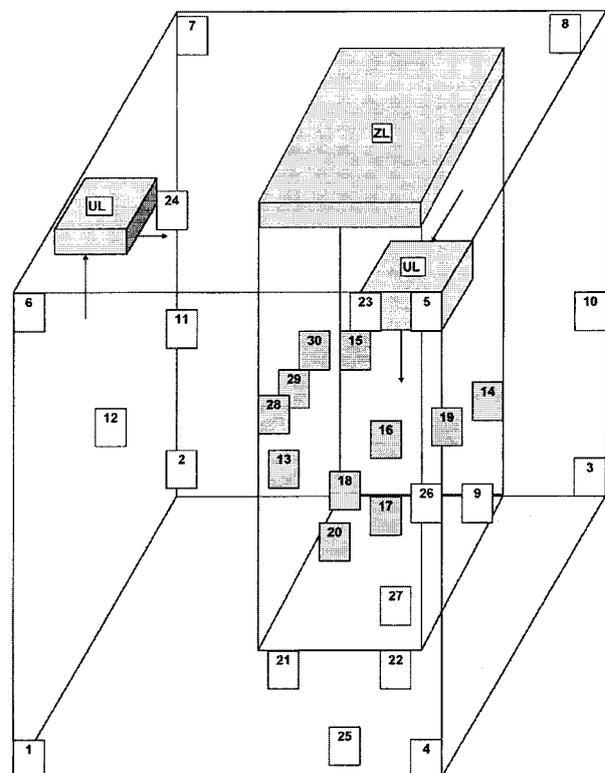


Abb. 4: Perspektivische Ansicht der Anordnung von Indikatoren im Abfüllraum. Die angegebenen Positionen (helle Darstellung: im Raum; schraffiert: innerhalb der Abfüllmaschine) reflektieren die Kombination jeweils eines Chemo- und Bioindikators. ZL: Zuluft (Laminare Fallstromeinheit); UL = Umluftreiniger.

4. Zyklusentwicklung

Die Bestimmung der Entfeuchtungs-, Konditionierungs-, Sterilisations- und Absaugungsphase der Raumbegasung mit Wasserstoffperoxid erfolgte auf der Grundlage der bestimmten Raumlufttemperatur und Luftfeuchtigkeit in Anlehnung an die Angaben des Cycle Development Guide für das VHP-1000-Gerät.

Während der Entfeuchtungsphase wird die relative Luftfeuchtigkeit sowie die Raumtemperatur auf einen Wertebereich eingestellt, in dem eine Kondensation des gasförmigen Wasserstoffperoxids ausgeschlossen werden kann. Mit dem Beginn der Konditionierungsphase wird gasförmiges Wasserstoffperoxid mit einer hohen Durchsatzrate in den Begasungsraum eingebracht. Sobald eine ausreichende Konzentration des Gases pro Raumvolumen erreicht ist, beginnt die Sterilisationsphase. Während der Sterilisationsphase soll eine zuvor berechnete Mindestkonzentration des Gases im Raumvolumen aufrecht erhalten werden. Dazu wird eine gegenüber der Konditionierungsphase reduzierte Gasmenge zur Erhaltung der Mindestkonzentration in den Raum eingeführt. Die weitere Gaszuführung ist notwendig, da das im Raum befindliche Wasserstoffperoxid durch die Absaugvorrichtung sowie auch im Raum selbst katalytisch zersetzt wird. Nach Abschluß der Sterilisationsphase wird kein gasförmiges Wasserstoffperoxid mehr in den Raum eingeblasen. Vielmehr erfolgt eine Absaugung des H₂O₂-Gases in die Trocknungskammer und den Katalysator des Gerätes. In der Absaugleitung ist mit einem Gasdetektor die Restkonzentration in der Ablufströmung zu bestimmen. Die Absaugungsphase ist bei einem Gehalt von < 1 ppm Wasserstoffperoxid beendet und der Raum kann wieder betreten werden.

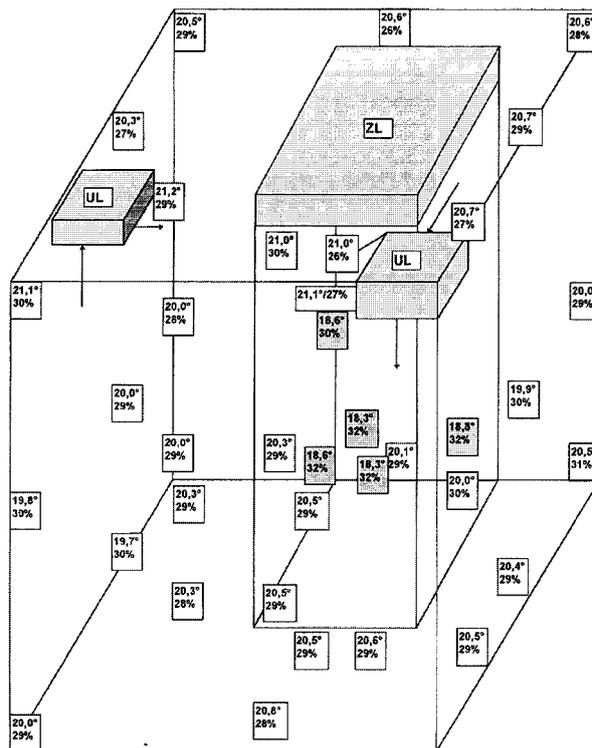


Abb. 5: Perspektivische Ansicht der Temperatur- und Luftfeuchteverteilung im Abfüllraum (helle Darstellung: im Raum; schraffiert: innerhalb der Abfüllmaschine). Dargestellt ist die räumliche Situation in °C (obere Zahlenwerte) und relative Luftfeuchte (untere Zahlenwerte). ZL = Zuluft (Laminare Fallstromeinheit); UL = Umluftreiniger.

5. Ergebnisse

5.1. Raumtemperatur und -luftfeuchte

Die minimale Temperatur im Raum betrug 19,7 °C, die Maximaltemperatur wurde mit 21,3 °C festgestellt. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug minimal 26 % und maximal 31 %. Die Oberflächentemperatur an der Maschine sowie an den Fenstern betrug zwischen 18,3 und 18,8 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 30 bis 32 % (Abb. 5).

5.2. Ausgangsbedingungen der Raumhygiene

Hinsichtlich der Partikelsituation entsprach der Raum zu Beginn des Begasungsversuches und unmittelbar nach Abschluß der technischen Umbaumaßnahmen der Raumklasse C (10 000). Unterhalb der Laminar-Flow-Einheit der Abfüllmaschine wurden die Bedingungen der Klasse A (100) eingehalten. Demgegenüber konnten erhebliche Kontaminationen mit Keimzahlen von mehr als 1000 KBE/25 cm² auf Maschinenoberflächen und maximal 77 KBE/25 cm² auf dem Fußboden des Raumes festgestellt werden. Innerhalb des laminaren Luftstromes und der umgebenden Raumluft wurden 10 bis 100 KBE/m³ nachgewiesen. Damit entsprach der Abfüllbereich nicht den Erfordernissen eines Produktionsraumes für die aseptische Abfüllung von parenteralen Arzneimitteln (Seyfarth, 1993 a). Identifizierungen resultierten im Nachweis von vegetativen Formen der Gattungen Staphylococcus, Micrococcus, Bacillus und vereinzelt Penicillium als hauptsächliche Kontaminationskeime.

5.3. Zyklusbeschreibung

Es wurden 4 Dekontaminationsversuche durchgeführt. Die Zyklusbeschreibung ist Tab. 1 zu entnehmen.

Bei einem angestrebten Feuchtigkeitsgehalt von 6,9 mg Wasser/Liter Raumluft (= 30 % RF) wurde in den ersten 3 Dekontaminationsversuchen eine Menge von 2,3 g Wasserstoffperoxid/min als Erhaltungsmenge in den Raum eingebracht. Im vierten Versuch wurde diese Menge auf 6,0 g Wasserstoffperoxid/min erhöht, wobei die Sterilisationsdauer um 40 min verringert wurde (80 min anstelle von 120 min). Die Absaugungsphase betrug 4 h, so daß der gesamte automatisierte Prozeß einen Zeitraum von 6 h umfaßte.

Tab. 1: Zyklusbeschreibung für die Durchführung von Wasserstoffperoxid Begasungen im Produktionsraum.

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
Entfeuchtung				
Luftgeschwindigkeit (m ³ /h)	36	36	36	36
Zeit (min)	0	0	0	0
Ziel (mg/l)	6,9	6,9	6,9	6,9
Konditionierung				
Luftgeschwindigkeit (m ³ /h)	36	36	36	34
Gasmenge (g/min)	10	10	10	10
Zeit (min)	60	30	60	40
Sterilisation				
Luftgeschwindigkeit (m ³ /h)	32	32	32	32
Gasmenge (g/min)	2,3	2,3	2,3	6,0
Zeit (min)	120	120	120	80
Absaugung				
Luftgeschwindigkeit (m ³ /h)	38	38	38	38
Zeit (h)	6	3	3	4

Anmerkung:

Auf eine Entfeuchtungsphase konnte wegen der aktuellen Raumtemperatur und relativen Luftfeuchtigkeit verzichtet werden.

Versuch 1 und 2 sind in Hinblick auf die Zyklusgestaltung identisch, jedoch erfolgte im Versuch 1 die Gaszuführung an 3 Stellen im Raum.

5.4. Chemoindikatoren

Die Konditionierungs- und Begasungszyklen waren so gewählt, daß alle beobachtbaren Chemoindikatoren innerhalb einer Zeitspanne von 20 bis 27 min nach Beginn der Raumbegasung eine einsetzende Verfärbung zeigten. Die vollständige Verfärbung war 45 bis 49 min nach dem Begasungsbeginn erreicht.

5.5. Bioindikatoren

Die während der ersten und zweiten Versuchsreihe eingesetzten Bioindikatoren wiesen alle noch vermehrungsfähige Keime auf (Tab. 2). Nach der Beseitigung von verbliebenen Zuluftöffnungen konnte im dritten Begasungsversuch eine fast vollständige Sterilisation der eingesetzten Bioindikatoren erreicht werden.

Die Erhöhung der Gasmenge während der Sterilisationszeit von 2,3 g/min auf 6,0 g/min resultierte in einer vollständigen Dekontamination der eingesetzten Sporenstreifen. Auch an offenbar schlecht zugänglichen Stellen (z. B. Bedienerhandschuhe) wurde eine Keimreduktion von 10^3 bis 10^4 erreicht.

5.6. Biodekontamination

Im Anschluß an den ersten Dekontaminationsversuch wurden nur noch auf der Oberfläche eines Stopfenbehälters vereinzelte Keime nachgewiesen. Auf allen übrigen beprobten Flächen ließen sich keine Kontaminationen mehr nachweisen. Weitere mikrobiologische Beprobungen wurden im Anschluß an alle Versuchsdurchläufe durchgeführt. Nur vereinzelt konnten Oberflächen- oder Luftkontaminationen mit max. 3 KBE/25 cm² bzw. m³ nachgewiesen werden. Den hygienischen Erfordernissen eines Produktionsraumes für die aseptische Abfüllung von parenteralen Arzneimitteln (Seyfarth, 1993 a) wurde damit entsprochen.

Tab. 2: Dekontaminationserfolg an verschiedenen Lokationen während der Behandlungszyklen.

Bioindikator Nr. (Plazierung)	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
1 Raum unten	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
2 Raum unten	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
3 Raum unten	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
4 Raum unten	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
5 Raum Decke	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
6 Raum Decke	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
7 Raum Decke	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
8 Raum Decke	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
9 Raum Mitte	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
10 Raum Mitte	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
11 Raum Mitte	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
12 Raum Mitte	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
13 Transportsch.	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
14 Stopfenbeh.	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
15 Innenwand	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
16 Kappenbeh.	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
17 Abfüllnadel	Wachstum	Wachstum	Steril	Steril
18 Maschine	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
19 LF-Maschine	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
20 LF-Maschine	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
21 Raum Boden	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
22 Raum Boden	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
23 Mat. Schl.	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Steril
24 Umlüfter	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
25 Mat. Schl.	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
26 Mat. Schl.	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
27 Mat. Schl.	Wachstum	Wachstum	Steril	n.b.
28 Handschuh	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Wachstum/10 ^{3*}
29 Handschuh	Wachstum	Wachstum	Steril	Wachstum/10 ^{3/4*}
30 Handschuh	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Wachstum/10 ^{3/4*}

* = Validierungssatz 10^3 bis 10^7 Sporen pro Streifen; angegeben sind die Indikatoren, die sich als steril erwiesen.

n.b. = nicht bestückt.

Anmerkung:

Die Positionen 28, 29 und 30 beziehen sich auf Bioindikatorstreifen, die innerhalb der Bedienungshandschuhe plaziert waren. Im vierten Versuch wurden Keimreduktionen von 3 bzw. 4 Logstufen erreicht.

5.7. Akute Korrosion

Eine akute Kondensationsbildung wurde weder auf beobachtbaren Metalloberflächen noch auf dem präparierten Abschottblech nachgewiesen. Es ergaben sich keine Hinweise auf eine akute Korrosionsbildung.

5.8. Kontrolle des Dekontaminationserfolges durch wiederholte Nährmedienabfüllungen

Im Anschluß an die Dekontaminationsversuche erfolgte eine Funktionsqualifizierung der Abfülllinie, verbunden mit einer Validierung des aseptischen Fertigungsprozesses. Hierzu wurden 3 unabhängige, jeweils zweitägige Nährmedienabfüllungen nach den Vorgaben der ISO/DIS 13408-1 durchgeführt. In allen Fällen wurde das gesetzte maximale Kontaminationslimit von 0,1 % (95 % Konfidenzniveau) für befüllte Behältnisse nicht überschritten. Die abgefüllten Nährmedien erfüllten die Anforderungen auf wachstumsfördernde Eigenschaften, was durch Beimpfung mit Prüfkeimen belegt werden konnte.

6. Zusammenfassung und Bewertung der Methode

Das VHP-1000-System zur Erzeugung von gasförmigem Wasserstoffperoxid wurde erfolgreich zur Dekontamination eines Produktionsraumes inklusive einer Füll- und Verschleißmaschine eingesetzt. Für das zu dekontaminierende Raumvolumen von 56 m³ wurde ein geeigneter Behandlungszyklus entwickelt, dessen Wirksamkeit durch umfangreiche mikrobiologische Statuserhebungen der Raumhygiene vor und im Anschluß an die Dekontaminierungszyklen sowie mittels Bioindikatoren (Sporen von *Bacillus stearothermophilus*) dokumentiert werden konnte.

Für das zu dekontaminierende Raumvolumen war es notwendig, während der Sterilisationsphase eine relativ hohe Gasmenge von 6 g/min zur Erhaltung einer ausreichenden Gaskonzentration kontinuierlich zuzuführen. Dies resultierte offenbar aus einer nicht vollständig zu unterbindenden Luftzuführung in den Raum hinein. So war eine vollständige Abschottung der luftzuführenden Laminar-Flow-Einheit aus technischen Gründen nicht möglich.

Während über die eingesetzten Chemoindikatoren eine schnelle und gleichmäßige Gasverteilung im Raum nachzuweisen war, gelang es in den Versuchen 1 bis 3 nicht, 10^5 -Sporen des Indikatorkeimes *Bacillus stearothermophilus* vollständig zu sterilisieren. Begleitende Untersuchungen zur Raumhygiene belegten aber auch in diesen Versuchen eine biologische Wirkung in einer Größenordnung der Keimzahlreduktion von 3 logarithmischen Stufen.

Nach einer Erhöhung der Erhaltungsdosis wurden Bioindikatoren mit einer Resistenz, die gleich oder größer ist als mit 10^6 -Sporen von *Bacillus stearothermophilus* inokulierte Edelstahlplättchen, vollständig deaktiviert. Die an der Anlage installierten Bedienerhandschuhe stellten im Hinblick auf eine homogene Gasdurchdringung kritische Bereiche dar. Hier wurde ebenfalls eine biologische Wirkung in einer Größenordnung der Keimzahlreduktion von 3 bis 4 logarithmischen Stufen erreicht.

Der gesamte Behandlungszyklus (von der Vorbereitung der Räume bis hin zum Wiederbetreten) verlief automatisch gesteuert und umspannte eine Zeitdauer von 6 h. Dabei nahm die Absaugungsphase mit 4 h den zeitlich größten Anteil des gesamten Dekontaminationsvorganges ein.

Das VHP-1000-System zur Erzeugung von gasförmigem Wasserstoffperoxid kann nach der vorliegenden Datengrundlage zur Dekontamination großvolumiger Produktions-

räume eingesetzt werden. Die Dekontamination mit gasförmigem Wasserstoffperoxid erfolgte im Anschluß an umfangreiche räumliche und apparative Umbaumaßnahmen an der Füll- und Verschleißmaschine. Obgleich während dieser Maßnahmen keine regelmäßigen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen erfolgten, ergab die Ermittlung der Hygienesituation im Anschluß an die Dekontaminationsversuche eine den Anforderungen entsprechende Situation.

7. Literatur

Amsco, Hydrogen Peroxide Gas Decontamination of Clean/Speciality Rooms, Scientific Application Engineering News 9 (1993) – Amsco, Spordex-VHP™ Biological and CHEMDI-VHP™ Chemical Indicators, Datenblatt SD-541R (1994) – Amsco, Datenblatt VHP® 1000 Series, SD-500R3 (1995) – Anonymus, Aseptic processing of health care products, ISO/DIS 13408-1 (1995) – Bässler, H.-J., Swiss Contamination Control 9, 8 (1996) – DFG, MAK- und BAT-Werte-Liste, Deutsche For-

schungs Gesellschaft (1995) – Nicholson, M., Hydrogen Peroxide Gas Sterilization, Amsco/Finn-Aqua Publication „Currents“ Issue 1/1994 (1994) – Ruffieux, P., Swiss Contamination Control 9, 5 (1996) – Seyfarth, H., Pharm. Ind. 55, Nr. 5, 503 (1993 a) – Seyfarth, H., Pharm. Ind. 55, Nr. 6, 606 (1993 b) – Sirch, E. Pharm. Ind. 58, Nr. 1, 67 (1996) – Wilke, B., Gasförmige Sterilisations- und Dekontaminationsverfahren, H₂O₂-Anwendungen aus der Sicht des Maschinenherstellers, Concept Heidelberg Symposium, März 1996

Danksagung

Herrn Klaus Krumtüngrer wird für die technische Durchführung der Begasungsversuche gedankt. Die Autoren danken zudem Herrn M.-P. Kühnel und Frau D. Zwillus für die fachgerechte Durchführung der mikrobiologischen Kontrolluntersuchungen und Herrn K. Lorenzen für die Erstellung von technischen Zeichnungen.

Korrespondenz: Dr. Michael Jahnke, Pharma Hameln GmbH, Qualitätswesen/Mikrobiologie, Langes Feld 13, D-31789 Hameln