

Entwicklung und Charakterisierung von Gassterilisationsprozessen am Beispiel der Oberflächensterilisation mittels Wasserstoffperoxid und Ethylenoxid

Dissertation zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz

Torsten Mau
geb. in Preetz

Mainz 2006

Tag der mündlichen Prüfung: 08. März 2007

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Die Auswahl eines geeigneten Sterilisationsverfahrens	1
2 Die Aufgabenstellung	5
2.1 PROZESSENTWICKLUNG AUF BASIS DER WASSERSTOFFPEROXID - STERILISATION (VPHP)	6
2.2 PROZESSENTWICKLUNG AUF BASIS DER ETHYLENOXID – STERILISATION	7
Allgemeiner Teil	8
3 Übersicht der Sterilisationsverfahren	8
3.1 DIE KLASSIFIZIERUNG DER STERILISATIONSVERFAHREN	8
3.2 DIE WIRKSAMKEIT VON STERILISATIONSVERFAHREN	9
3.3 DIE WASSERSTOFFPEROXID STERILISATION (VPHP)	11
3.4 DAS ETHYLENOXID – STERILISATIONSVERFAHREN	14
4 Bioindikatoren und ihre Verwendung	17
Material	19
5 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)	19
5.1 AUFBAU UND FUNKTION DER DRILLING-, DETACHING-, CONTROLLING- ANLAGE	19
5.2 FUNKTIONSWEISE DES AMSCO VHP 1001 – GENERATORS	20
5.3 DIE PIAB CLASSIC VAKUUMPUMPE H120	22
5.4 DER AUFBAU DES SCHLAUCHMODELLS	22
5.5 DIE KONSTRUKTION DES ERWEITERTES TESTMODELL	23
5.6 DIE BESONDERHEITEN DES STERILISATIONSMODULS DER DDC – ANLAGE	24
5.7 DER ENTWICKLUNGSISOLATOR DER FA. SKAN	25
5.8 ÜBERSICHT DER IN DEN VERSUCHEN EINGESETZTEN SENSOREN	26
5.9 EINGESETZTE BIOINDIKATOREN	31
6 Ethylenoxid - Sterilisation	32
6.1 KOMPONENTEN DES RESPIMAT® – PRIMÄRPACKMITTELS	32
6.2 DIE VERWENDETEN ETO – STERILISATIONSKAMMERN	33
6.3 DAMPFSTERILISATOR DER FA. SAUTER	34
6.4 DER H₂O₂ – PLASMASTERILISATOR VOM TYP GMP 100S	34
6.5 BEHÄLTHERBESTRAHLUNGSANLAGE JS 8500	34
6.6 DATENLOGGER ZUR AUFZEICHNUNG DER RELATIVEN FEUCHTE	35
6.7 EINGESETZTE BIOINDIKATOREN	35
6.8 MESSAPPARATUREN ZUR BESTIMMUNG DER KRAGENHÖHE UND DER SCHICHTDICKE	36
6.9 DRUCK – ZUG – PRÜFMASCHINE ZUR BESTIMMUNG DER SCHLIEBKÄRFT	36
6.10 INHALATIONSLSÖSUNGEN ZUR ANWENDUNG IN VERBINDUNG MIT DEM RESPIMAT - DEVICE	37

Methoden	39
7 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)	39
7.1 POSITIONIERUNG DES DRUCKSENSORS	39
7.2 DURCHFÜHRUNG DER DURCHFLUSSMESSUNGEN	39
7.3 AUFZEICHNUNG DER FEUCHTEPROFILE	40
7.4 ERFASSUNG DER TEMPERATURPROFILE	41
7.5 AUFZEICHNUNG DER WASSERSTOFFPEROXID – VERTEILUNG	44
7.6 UNTERSUCHUNGEN DES ADSORPTIONSVERHALTENS DER KUNSTSTOFFSCHLÄUCHE UND KUNSTSTOFFBEHÄLTER	47
7.7 DURCHFÜHRUNG DER MIKROBIOLOGISCHE LEISTUNGSBEURTEILUNG	49
7.8 REM – AUFNAHMEN VON MEHRFACH STERILISIERTEN DICHUNGSMATERIALIEN	61
7.9 PRÜFUNG AUF DICHTIGKEIT DES PRÜFKREISES	62
8 Ethylenoxid – Sterilisation	62
8.1 POSITIONIERUNG DER TEMPERATUR- UND FEUCHTE – DATENLOGGER IN DEN STERILISATIONSKAMMERN	62
8.2 MIKROBIOLOGISCHE LEISTUNGSBEURTEILUNG DER ETHYLENOXIDSTERILISATION	63
8.3 PRÜFUNG AUF VERÄNDERUNGEN DER ABMESSUNGEN	68
8.4 UNTERSUCHUNG DES KOLLABIERVERHALTENS	69
8.5 DURCHFÜHRUNG DER KRÄFTEMESSUNGEN	70
8.6 REM – AUFNAHMEN VON STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN	71
8.7 DICHTIGKEITSPRÜFUNG IM LAGERTEST (MASSEVERLUST)	72
8.8 UNTERSUCHUNG DER EXTRACTABLES (EXTRAHIERBARE BESTANDTEILE)	72
8.9 DURCHFÜHRUNG VON KOMPATIBILITÄTSPRÜFUNGEN ZWISCHEN KUNSTSTOFFBAUTEILEN UND INHALATIONSLSÖSUNGEN	76
8.10 ERMITTLUNG DER DESORPTIONSKINETIK	89
Ergebnisse und Diskussion	92
9 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)	92
9.1 AUSWAHL UND QUALIFIZIERUNG GEEIGNETER BIOINDIKATOREN	92
9.2 GRUNDLAGENSTUDIE AM SCHLAUCHMODELL	95
9.3 VERFAHRENEVALUIERUNG AM ERWEITERTEN TESTMODELL	101
9.4 PROZESSENTWICKLUNG AM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE	112
10 Ethylenoxid – Sterilisation	126
10.1 GRUNDLAGENSTUDIE ZUR ANWENDUNG DER ETHYLENOXIDSTERILISATION	126
10.2 MATERIALPRÜFUNGEN AN STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN UND KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN	127
10.3 UNTERSUCHUNG DER EXTRAHIERBAREN BESTANDTEILE	139
10.4 KOMPATIBILITÄTSPRÜFUNG ZWISCHEN RESPIMAT – PRIMÄRPACKMITTEL UND INHALATIONSLSÖSUNGEN	141
10.5 EVALUIERUNG DER ETO – STERILISATIONSZYKLEN	147
10.6 DURCHFÜHRUNG DER VALIDIERUNG DER GEWÄHLTEN STERILISATIONSZYKLEN	152

Zusammenfassung	157
Anhang	159
11 Übersicht der eingesetzten Geräte	159
12 Fließschemata der DDC – Anlage und des Sterilisationsmoduls	160
13 Reactive Pattern (Auswertung der Wachstumskontrolle)	167
13.1 REACTIVE PATTERN DES ENTWICKLUNGSISOLATORS	167
13.2 REACTIVE PATTERN DES SCHLAUCHMODELLS	169
13.3 REACTIVE PATTERN DES ERWEITERTEN TESTMODELLS	169
13.4 REACTIVE PATTERN DES STERILISATIONSMODULS DER DDC – ANLAGE	172
14 Messdatentabellen	178
14.1 ABMESSUNGEN	178
14.2 KOLLABIERVERHALTEN	179
14.3 KRÄFTEMESSUNGEN	180
14.4 DICHTIGKEITSPRÜFUNG IM LAGERTEST	181
14.5 EXTRACTABLES	181
14.6 WIRKSTOFFGEHALT	182
15 Abbildungsverzeichnis	183
16 Tabellenverzeichnis	191
17 Gleichungsverzeichnis	195
18 Literaturverzeichnis	196

Abkürzungen und Symbole

Tab. 1-1 Abkürzungen

Abkürzung	Beschreibung
ACN	Acetonitril
ATCC	American Type Culture Collection
BI	Bioindikator
BIEE	Bioindikator Exponierende Einheit
BIER	Biological Indicator Evaluator Resistometer
CPMP	Committee for Proprietary Medicinal Products
DAB	Deutsches Arzneibuch
DDC	Drilling Detaching Controlling
DMCPS	Decamethylcyclopentasiloxan
DOL	Dampf-, Ozon-, Luftverfahren
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMEA	European Agency for Evaluation of Medicinal Products
EN	Europäische Norm
EP	European Pharmacopoeia
ETC	Ethylenchlorhydrin
ETG	Ethylenglykol
ETO	Ethylenoxid
FCKW	Fluorchlorkohlenwasserstoff
FDA	Food and Drug Administration
FID	Flammenionisationsdetektion
GMP	Good Manufacturing Practices
GC	Gaschromatographie
GRAS	Generally Recognized As Safe
HCL	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
HEPA	High Efficiency Particular Air
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HSKP	Holocomb Spearman Karber Procedure
IMS	Ionen Mobilitäts- Spektroskopie
IPC	In Process Control
ISO	International Organization For Standardization
KBE	Koloniebildende Einheiten

Abkürzung	Beschreibung
LF	Laminar Flow
LSKP	Limited Spearman Karber Procedure
LSMCP	Limited Stumbo Murphy Cochran Procedure
MAX	Maximum
MIN	Minimum
MG	Molekulargewicht
MPN	Most Probable Number
MTBE	Methyl-tert.butylether
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid (Natronlauge)
NIR	Nahes Infrarot
NK	Nachkonditionierung
PDMS	Polydimethylsiloxane
PE	Polyethylen
ppm	Parts per million
PTFE	Polytetrafluorethan (Teflon)
PU	Polyurethan
PVC	Polyvinylchlorid
USP	United States Pharmacopoeia
R&I	Rohrleitungs- und Instrumentierungsschema
SAL	Sterility Assurance Level
SCM	Survivor Curve Method
SD	Standard Deviation
SIS	Skan Integrated Sterilization System
SPC	Statistical Process Control
SPS	Speicherprogrammierbare Steuerung
USP	United States Pharmacopoeia
VHP	Vaporized Hydrogen Peroxide
VK	Vorkonditionierung
VPHP	Vapour Phase Hydrogen Peroxide
WIT	Wasserintrusionstest
ZSP	Zersetzungsprodukt

Tab. 1-2 Symbole

Symbol	Einheit	Beschreibung	Gleichung
a	[-]	Faktor zur Berechnung der Varianz	Form. 7-12
A	[m ²]	Elektrodenfläche	Form. 7-13 Form. 5-1
C	[F]	Kapazität	Form. 5-1
d	[min]	Zeitintervall zwischen den Entnahmen	Form. 7-3 Form. 7-5
d _{elek}	[m]	Abstand der Elektroden zueinander	Form. 5-1
D	[min]	Dezimalreduktionswert (D-Wert)	Form. 3-2 Form. 3-3 Form. 3-4 Form. 3-5 Form. 3-7 Form. 7-4 Form. 7-10 Form. 7-11 Form. 7-14
D _(low/high)	[min]	Konfidenzintervall des D-Wertes	Form. 7-6 Form. 7-7 Form. 7-11 Form. 7-16
ε	[As/v]	Dielektrizitätskonstante	Form. 5-1
F	[min]	Wirksamkeit von Sterilisationsverfahren	Form. 3-7
k	[-]	Inaktivierungskonstante	Form. 3-1
k _{konf}	[-]	Korrekturfaktor	Form. 7-7
n	[St]	Anzahl der Bioindikatoren pro Gruppe	Form. 7-3 Form. 7-5 Form. 7-9 Form. 7-14 Form. 7-15 Form. 7-16 Form. 7-17
n _D	[-]	Anzahl Zehnerpotenzen	Form. 3-7
n _i	[St]	Anzahl der Bioindikatoren in der jeweiligen Gruppe	Form. 7-9 Form. 7-13 Form. 7-14
N	[KBE]	Keimzahl nach Sterilisation	Form. 3-7
N ₀	[KBE]	Anzahl Keime zum Zeitpunkt t=0 (Ausgangskeimzahl)	Form. 3-1
N _t	[KBE]	Anzahl überlebender Keime zum Zeitpunkt t	Form. 3-1
P _{N(t)}	[-]	Wahrscheinlichkeitsverteilung von positiven und negativen Ergebnissen in Abhängigkeit zur Expositionszeit	Form. 3-6
U _{sk}	[min]	Mittlere Einwirkzeit bis zur Sterilität	Form. 7-3 Form. 7-4 Form. 7-6 Form. 7-7

Symbol	Einheit	Beschreibung	Gleichung
U_1	[min]	Späteste Entnahmezeit bei der alle Bioindikatoren einer Gruppe Wachstum zeigen; bei jeder früheren Entnahmezeit zeigen alle Bioindikatoren ebenfalls Wachstum	Form. 7-3
U_k	[min]	Früheste Entnahmezeit [min], bei der alle Bioindikatoren einer Gruppe kein Wachstum zeigen; bei jeder späteren Entnahmezeit [min] zeigen alle Bioindikatoren ebenfalls kein Wachstum	Form. 7-3
U_{k-1}	[min]	Entnahmezeit vor U_k	Form. 7-3
μ	[min]	Durchschnittliche Einwirkzeit bis zur Sterilität	Form. 7-13 Form. 7-9 Form. 7-10
r	[-]	Anzahl Bioindikatoren, die zum Entnahmezeitpunkt kein Wachstum zeigen	Form. 7-14 Form. 7-15 Form. 7-16 Form. 7-17
r_i	[-]	Anzahl Bioindikatoren, die zum Zeitpunkt der Entnahme kein Wachstum zeigen	Form. 7-3 Form. 7-5 Form. 7-9 Form. 7-13
$s_{U(sk)}$	[-]	Standardabweichung der mittleren Einwirkzeit bis zur Sterilität	Form. 7-5 Form. 7-6 Form. 7-7
t	[min]	Einwirkzeit	Form. 3-1
t_i	[min]	Einwirkzeit	Form. 7-13
V	[-]	Varianz des D - Wertes	Form. 7-11 Form. 7-12
x	[-]	Faktor zur Berechnung des Konfidenzintervalls	Form. 7-15 Form. 7-16
x_i und y_i	[-]	Faktoren zur Berechnung der durchschnittlichen Zeit bis zur Sterilität	Form. 7-9

Einleitung

1 Die Auswahl eines geeigneten Sterilisationsverfahrens

Für eine Vielzahl von Darreichungsformen wird in der Europäischen Pharmakopöe (EP) Sterilität gefordert. Dabei handelt es sich ausschließlich um Zubereitungen, die nicht über den Magen – Darm – Trakt appliziert werden. Neben der Gruppe der Parenteralia sind dies vor allem ophthalmologische Formulierungen, Zubereitungen zum Spülen und bei besonderer Indikation flüssige, halbfeste und feste Arzneiformen zur kutanen Anwendung [1, 2, 3, 4]. Im Zuge wachsender Ansprüche an die mikrobiologische Qualität von Arzneimitteln, wird die Liste der sterilen Zubereitungen kontinuierlich erweitert. So wurden unlängst auch Inhalationslösungen, Inhalationssuspensionen und inhalative Sprays auf wässriger Basis von der amerikanischen Überwachungsbehörde Food and Drug Administration (FDA) als sterile Zubereitungen klassifiziert [5, 6]. Sinngemäß schließt die Forderung nach Sterilität auch die Behältnisse (Primärpackmittel), die zur Aufnahme steriler Arzneiformen vorgesehen sind mit ein. Sie müssen darüber hinaus geeignet sein, die Sterilität des Produktes während der gesamten Dauer der Verwendung aufrecht zu erhalten [7, 8].

Wurde Sterilität im Kapitel IX. „*Sterilisationsmethoden*“ des DAB 10 noch aus dem Nachweis einer bestandenen „*Prüfung auf Sterilität*“ heraus definiert, versteht die Europäische Pharmakopöe unter diesem Begriff, die Abwesenheit von lebensfähigen Mikroorganismen und stellt fest, dass die Sterilität einer Zubereitung nicht durch eine Prüfung sichergestellt werden kann. Entscheidend sei vielmehr die Anwendung eines geeigneten und validierten Herstellungsverfahrens [7, 9, 10]. Eine Sichtweise die sich in vergleichbarer Form auch in der amerikanischen Pharmakopöe (USP) wieder findet [11]. Folglich stehen nicht mehr nur einzelne Sterilisationsmethoden im Vordergrund, sondern der Schwerpunkt wird auf den Gesamtprozess zur Herstellung eines sterilen Produktes verlagert [12]. Dies geschieht unter Einbeziehung der qualitätsrelevanten Bereiche Personal, Räumlichkeiten, Produktionsausstattung, Ausgangsmaterialien, sowie aller Herstellungsschritte inklusive In – Prozess – Kontrollen (IPC) in die Verfahrensentwicklung. Nach ihrer Etablierung müssen diese Teilbereiche, im Sinne der Prozesssicherung, einer ständigen Kontrolle unterliegen. Als bindend gelten in diesem Zusammenhang die Richtlinien zur Guten Herstellungspraxis (Good Manufacturing Practices) [13].

Es ist festzuhalten, dass der Begriff Sterilität nicht absolut verstanden werden kann. Ungeachtet des Umfangs der angewandten Maßnahmen besteht immer die Möglichkeit, dass ein Mikroorganismus überleben kann. Aus diesem Grund kann die Sterilität eines jedes einzelnen Gutes aus einer Gruppe von zu sterilisierenden Gütern nicht garantiert werden. Die Sterilität der Gesamtheit der behandelten Gegenstände ist daher im Bezug auf die Wahrscheinlichkeit der Existenz eines unsterilen Gegenstandes zu definieren [14]. Davon abgeleitet kann, nach Ansicht der Kommission der Europäischen Pharmakopöe, ein Gegenstand dann als steril betrachtet werden, wenn die theoretische Wahrscheinlichkeit, dass sich ein lebensfähiger Keim auf dem Gegenstand befindet, kleiner oder gleich eins in 1×10^6 Gegenständen ist [15]. Bezogen auf Sterilisationsprozesse bedeutet dies einen Sterility Assurance Level (SAL, Sterilitätssicherheits-Wert), definiert als die theoretisch zu erwartende Anzahl unsteriler Einheiten innerhalb einer Produktionscharge, von 10^{-6} [12].

Die Auswahl einer geeigneten Sterilisationsmethode ist von verschiedenen Faktoren abhängig (siehe Tab. 1-1). Neben einem breiten Wirkungsspektrum und einer hohen Effektivität des Verfahrens sind die Eigenschaften des zu sterilisierenden Gutes, insbesondere dessen Stabilität gegenüber dem sterilisierenden Agens entscheidend. Hinzu kommen die Art und der Umfang der mikrobiellen Ausgangskontamination (Bioburden), der mögliche Verbleib von Restmengen des sterilisierenden Agens sowie seiner Abbauprodukte im Gut und letzten Endes auch die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens. Wo immer es möglich ist, fordert das europäische Arzneibuch eine terminale Sterilisation im Endbehältnis und stellt dabei den Einsatz der Referenzverfahren Hitzesterilisation (Dampf bzw. Heißluft) und ionisierende Strahlung in den Vordergrund [7, 8].

Tab. 1-1 Anforderungen an ein ideales Sterilisationsverfahren [16].

Auswahlkriterium	Anforderung
Wirkungsspektrum	Das Verfahren sollte über ein breites Wirkungsspektrum (viruzid, fungizid, bakterizid und sporozid) verfügen.
Verfahrenseffektivität	Die Methode soll eine schnelle Keimabtötung ermöglichen.
Penetrationseigenschaften	Das sterilisierende Agens sollte in der Lage sein, Packmaterialien und Produktzwischenräume gut zu durchdringen.
Materialkompatibilität	Auch bei wiederholter Anwendung soll keine Beeinträchtigung der zu behandelnden Materialien im Hinblick auf Funktion und Aussehen eintreten.
Toxizität	Ein gesundheitliches Risiko für Bediener und Patient soll ausgeschlossen sein. Ferner soll keine Gefahr der Umweltschädigung bestehen.
Beständigkeit gegenüber organischen Materialien	Es soll keine Beeinträchtigung der Wirksamkeit durch organische Materialien gegeben sein.
Adaptierbarkeit	Das Verfahren sollte sich für Anlagen unterschiedlicher Größe und Bauart eignen.
Prozessmonitoring	Einfache und exakte Prozessüberwachung mit physikalischen, chemischen und biologischen Sensoren soll möglich sein.
Kosten	Geringe Installations- und Betriebskosten werden angestrebt.

Entsprechend erlaubt der Gesetzgeber auch nur im Falle der Referenzverfahren eine Parametrische Freigabe [17]. Hier erfolgt die Freigabe einer Charge ausschließlich auf Basis von Prozessdaten, ohne eine finale Prüfung auf Sterilität durchführen zu müssen. Schließen Instabilitäten der Formulierung, beispielsweise bei Verwendung von hitzelabilen Primärpackmitteln, die Anwendung der Referenzmethoden aus, kann auf Sterilfiltration oder aseptische Herstellung zurückgegriffen werden. Jedoch müssen in einem solchen Fall die Gründe für die Wahl einer aseptischen Herstellung in den Zulassungsunterlagen dargelegt und wissenschaftlich begründet werden. Liegt die Entscheidung für eine aseptische Herstellung in der Wahl des Endbehältnis begründet, so hat der Hersteller auch nach Erteilung der Zulassung die Verpflichtung nach alternativen Packmitteln zu suchen, die die Anwendung einer terminale Sterilisation erlauben [18].

Um die Hersteller steriler Arzneiformen bei der Auswahl eines geeigneten Sterilisationsverfahrens zu unterstützen, hat die European Agency for Evaluation of Medicinal Products (EMA) Entscheidungsbäume für flüssige, halbfeste und pulverige Zubereitungen veröffentlicht (siehe Abb. 1-1 und Abb. 1-2) [18]. Diese können sowohl für Sterilisationen im Endbehältnis als auch für Sterilisationen von Zwischenprodukten im Rahmen einer aseptischen Herstellung herangezogen werden. Analog den Vorgaben des Europäischen Arzneibuches stehen auch hier die Hitzesterilisationsverfahren an erster Stelle, gefolgt von Strahlensterilisation, Sterilfiltration und aseptischer Herstellung. Neben den etablierten Standardbedingungen (siehe Tab. 3-2) wurden bei der Ausarbeitung der Entscheidungshilfen auch alternative Kombinationen von Einwirkzeit und Temperatur bzw. Strahlendosis berücksichtigt. Diese Alternativverfahren ermöglichen bei annähernd gleicher Effektivität eine schonendere Behandlung des Gutes.

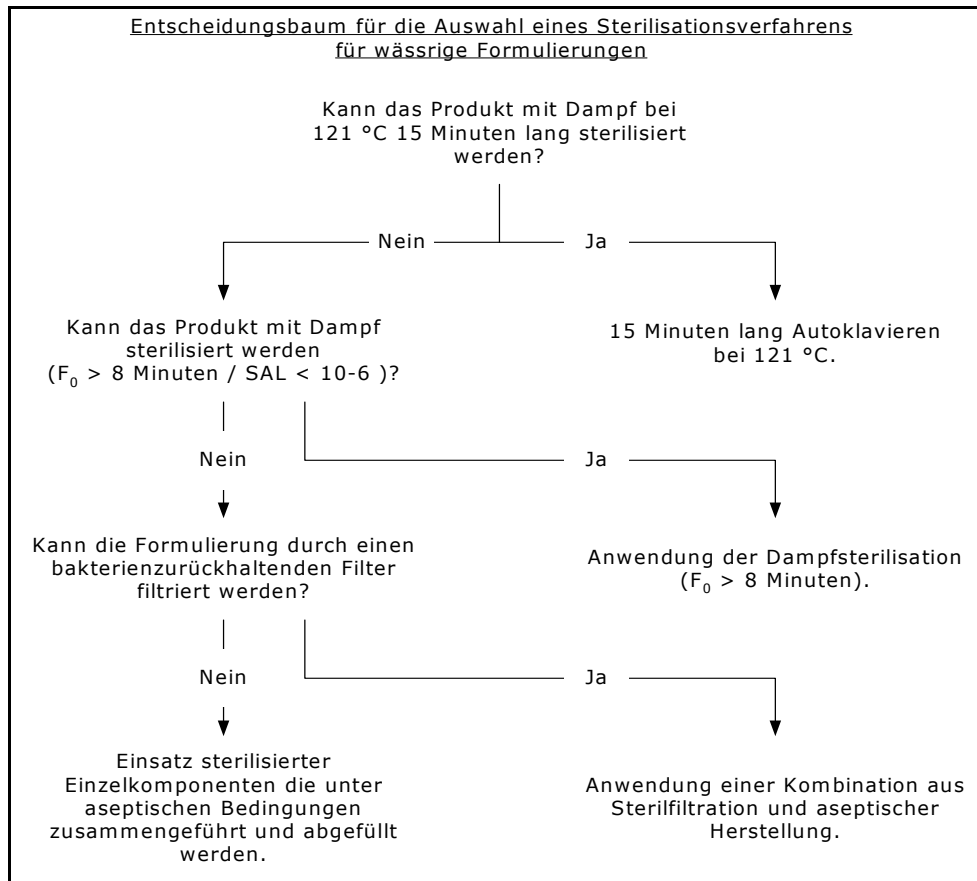


Abb. 1-1 Entscheidungsbaum der EMEA zur Auswahl eines Sterilisationsverfahrens für wässrige Formulierungen [18].

Während das Europäische Arzneibuch unter der Voraussetzung, dass geeignete Alternativen nicht zur Verfügung stehen, die Anwendung von Gassterilisationsverfahren zulässt, spielt diese Form der Keimabtötung innerhalb der EMEA - Entscheidungsbäume keine Rolle. Dies liegt vor allem darin begründet, dass der Anwendung von mikrobiziden Gasen aufgrund der hohen Toxizität der eingesetzten Agenzien, der reduzierten Umweltverträglichkeit, sowie der aufwendigen Prozessführung im pharmazeutischen Umfeld mit Skepsis begegnet wird [19].

Dabei zeigen sich gerade im niedrigen Temperaturbereich die Vorteile der Gassterilisationsverfahren gegenüber den thermischen Methoden. Bei entsprechenden Rahmenbedingungen kann sogar unterhalb der Raumtemperatur sterilisiert werden. Das Problem der ausreichenden Thermostabilität des zu sterilisierenden Gutes wird vor diesem Hintergrund gegenstandslos [20]. Ein Umstand der dazu führt, dass der Gassterilisation bis in die heutige Zeit hinein eine entscheidende Bedeutung zukommt. Ging man beispielsweise 1987 mit der Ratifizierung des Montrealer Abkommens zum Schutz der Ozonschicht [21] und dem sich daraus ableitenden Verbot der Fluorchlorkohlenwasserstoffe (FCKW) noch davon aus, dass mit diesem Schritt auch das Ende der Ethylenoxidsterilisation eingeleitet werde, so bescheinigen Analysen aus dem Jahre 1999 der Ethylenoxidsterilisation nach wie vor einen großen Anteil am weltweiten Sterilisationsmarkt [22, 23]. Dieser ist vor allem auf den hohen Verbreitungsgrad des Verfahrens auf dem Sektor der Sterilisation von Medizinprodukten und Krankenhausartikeln zurückzuführen.

Darüber hinaus wurden mit der Entwicklung neuer Technologien wie der Vapour Phase Hydrogen Peroxide (VPH) – Methode und der Plasmasterilisation die Palette der Gassterilisationsverfahren kontinuierlich erweitert.

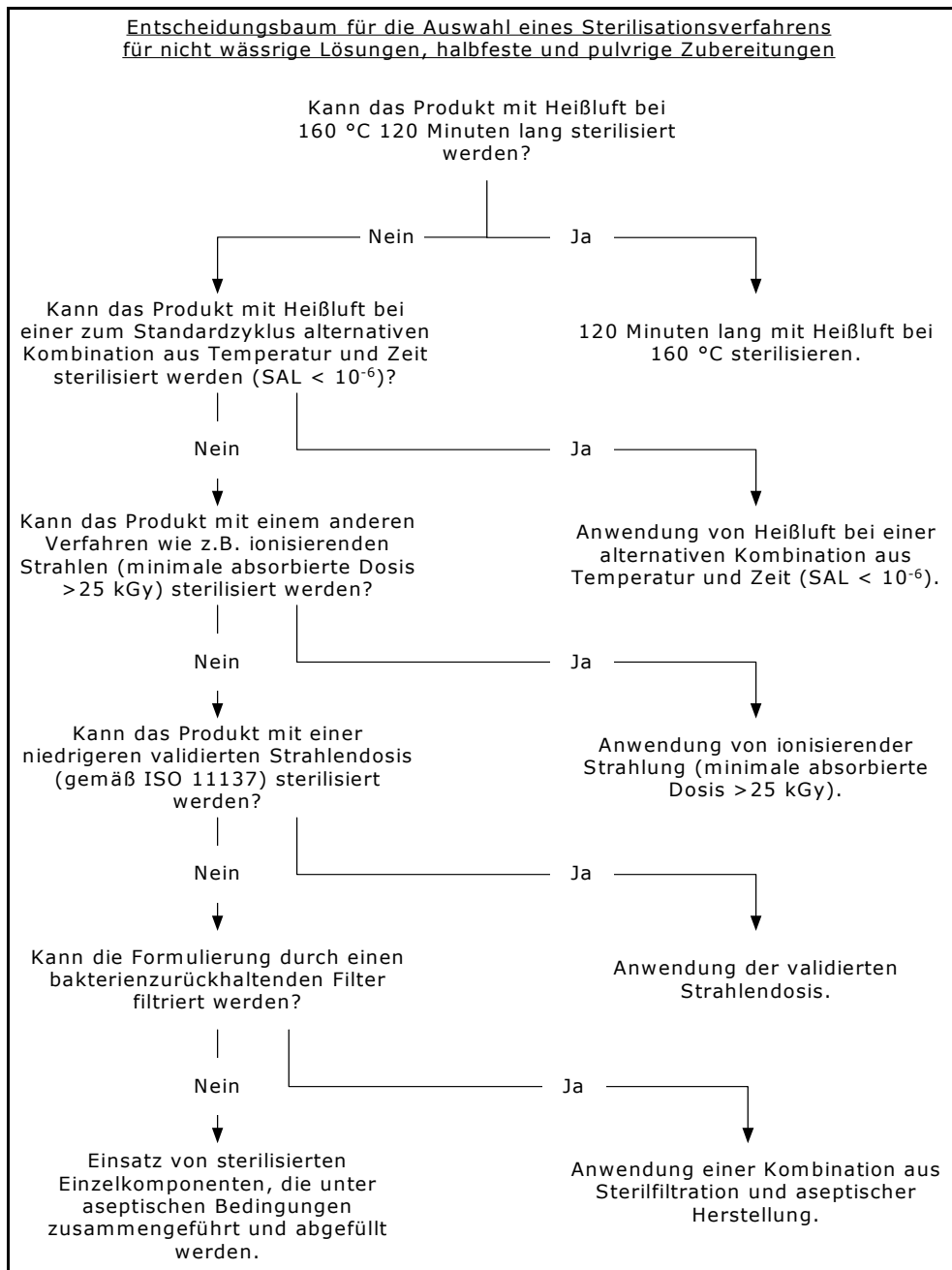


Abb. 1-2 Entscheidungsbaum der EMEA zur Auswahl eines Sterilisationsverfahrens für nicht wässrigen Lösungen, halb feste und pulverige Zubereitungen [18].

2 Die Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der technologischen Entwicklung und Charakterisierung von Sterilisationsanwendungen auf der Basis gasförmiger Agenzien. Dabei werden die verschiedenen Stufen der Prozessentwicklung, beginnend mit grundlegenden Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Verfahrens, über die Verfahrensevaluierung im Modellmaßstab, bis hin zur finalen Applikation vorgestellt. Im Zuge der einzelnen Entwicklungsstufen werden die relevanten Einflussgrößen identifiziert und charakterisiert, sowie abschließend die Vor- und Nachteile des jeweiligen Verfahrens diskutiert. Die folgenden drei Kernpunkte bilden das Grundgerüst für die gewählte Vorgehensweise:

A. Physikalische Leistungsbeurteilung

Im Rahmen der physikalischen Leistungsbeurteilung werden verfahrensspezifisch die relevanten physikalischen (Temperatur, Feuchte, Druck) und chemischen (Gasabbau) Parameter beschrieben und gegenseitige Abhängigkeiten aufgezeigt.

B. Mikrobiologische Leistungsbeurteilung

Das Ziel einer mikrobiologischen Leistungsbeurteilung ist es, durch Inaktivierung von Indikatorkeimen, den Nachweis zu erbringen, dass das gewählte Verfahren sich zur Sterilisation eines bestimmten Produktes eignet [24].

C. Materialprüfungen

Materialprüfungen (Maßhaltigkeit, Dichtigkeit, Oberflächengüte) dienen der Erkennung von strukturellen Veränderungen am sterilisierten Gut.

Als Modellprozesse fungieren zwei Sterilisationsapplikationen aus dem Umfeld der aseptischen Herstellung des Respimat® Soft Mist Inhaler, eines mechanischen Verneblers für wässrige Inhalationslösungen (siehe Abb. 2-1) [25, 26, 27].

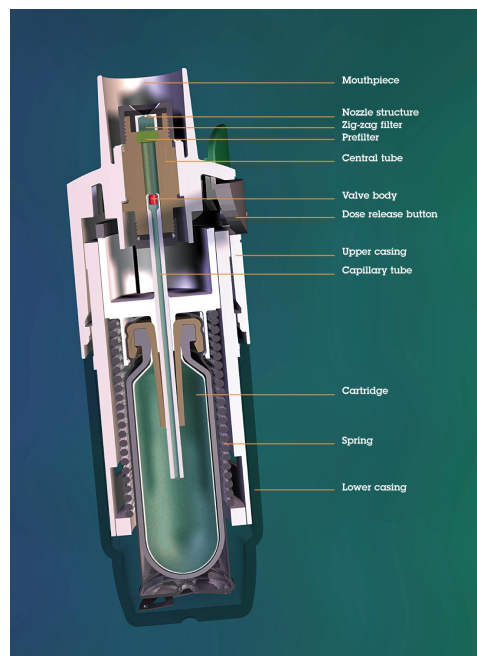


Abb. 2-1 Schnittdarstellung des Respimat® Soft Mist Inhaler.

Während das erste Verfahren auf der Einwirkung von gasförmigem Wasserstoffperoxid (VPH) basiert, fußt der zweite Prozess auf dem Einsatz von Ethylenoxid. Das Ziel beider Anwendungen ist die reproduzierbare Erzeugung und Aufrechterhaltung steriler Bedingungen auf den behandelten Oberflächen.

2.1 Prozessentwicklung auf Basis der Wasserstoffperoxid - Sterilisation (VPHP)

Entwickelt und charakterisiert wird das Sterilisationsmodul der Aufbereitungsanlage für den Respimat® - Kunststoffbehälter (siehe Kap. 5.1). Der Schwerpunkt der Prozessentwicklung liegt dabei auf der Gewährleistung einer gleichmäßigen Beaufschlagung aller relevanten Oberflächen des komplexen, englumigen Luftleitungssystems mit Wasserstoffperoxidgas. Die homogene Distribution des Gases innerhalb des Leitungssystems ist Grundvoraussetzung für die Sicherstellung einer erfolgreichen Sterilisation der Anlage. Darüber hinaus ist zu belegen, dass das Gas nach erfolgter Sterilisation vollständig aus den Leitungswegen entfernt wird und keinen negativen Einfluss auf die in der Anlage verarbeiteten Materialien, sowie auf die Funktionsfähigkeit der Prüfmaschine nimmt (Materialprüfungen). Folgender Ablauf der Verfahrensentwicklung leitet sich aus dieser Zielsetzung ab (siehe Abb. 2-2):

- Auswahl und Qualifizierung geeigneter Bioindikatoren.
- Auswahl geeigneter Sensoren zur Überwachung der einzelnen Phasen des Sterilisationsprozesses.
- Untersuchung der grundsätzlichen Anwendbarkeit des Verfahrens an einem einfachen Modell (Grundlagenstudie).
- Evaluierung des Verfahrens an einem erweiterten Modell.
- Validierung der finalen Applikation inklusive der Materialprüfungen.

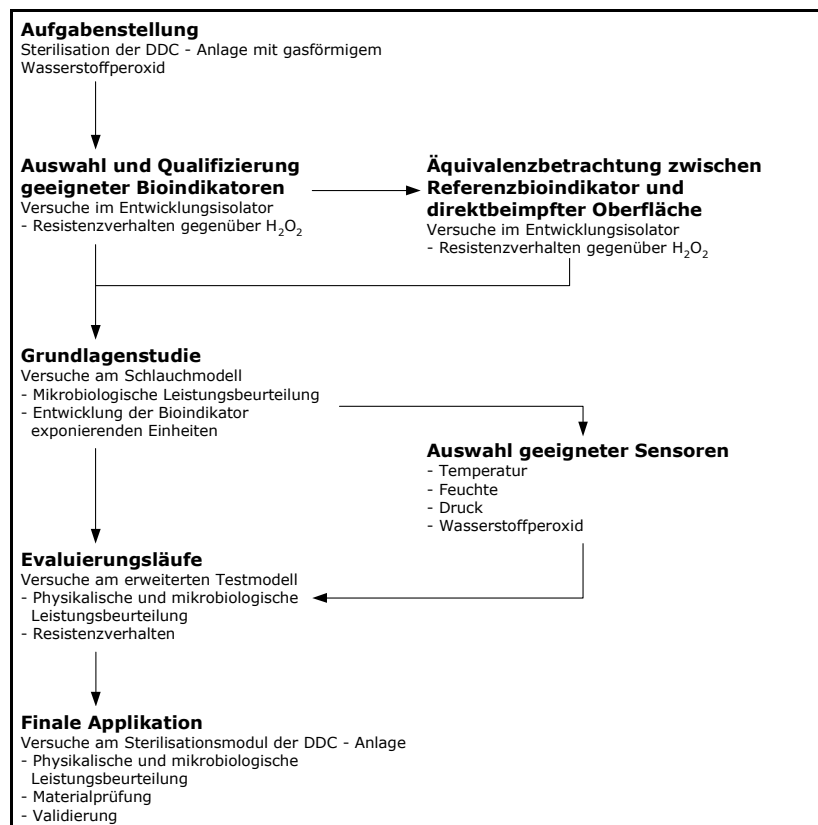


Abb. 2-2 Ablaufschema der Prozessentwicklung (VPHP – Sterilisation).

2.2 Prozessentwicklung auf Basis der Ethylenoxid – Sterilisation

Konzipiert und bewertet wird der Ethylenoxid - Sterilisationsprozess für die beiden Kunststoffbauteile des Respimat® - Primärpackmittels (siehe Kap. 6.1). Der Fokus wird bei dieser Anwendung auf die Sterilisation aller Oberflächen sowie der Zwischenräume der Einzelkomponenten gelegt. Aufgrund der Toxizität des Ethylenoxids (ETO) und seiner Begleitprodukte ist der Restgasabbau ein entscheidender Aspekt [28]. Kompatibilitätsstudien sollen zeigen, ob sich durch die Sterilisation qualitative Veränderungen im Kunststoffbehälter bzw. Kunststoffverschluss ergeben und ob diese nachfolgend die Qualität der Inhalationslösungen negativ beeinflussen [29, 30]. Es werden zusätzlich im Rahmen der Grundlagenstudie Vergleiche zu anderen Sterilisationsverfahren gezogen. Materialprüfungen sollen strukturelle Veränderungen in Folge der Gaseinwirkung aufzeigen, da diese unmittelbar Einfluss auf die Verarbeitbarkeit der Kunststoffbauteile während der Abfüllung nehmen. Es ergibt sich folgender Entwicklungsablauf (siehe Abb. 2-3):

- Untersuchung der grundsätzlichen Anwendbarkeit des Verfahrens in einer Entwicklungskammer (Grundlagenstudie).
- Durchführung von Kompatibilitätsstudien und Materialprüfungen unter Einbeziehung anderer Sterilisationsverfahren (Dampfsterilisation, Strahlensterilisation und Plasmasterilisation).
- Entwicklung eines provozierenden Prüfkörpers im Rahmen der Verfahrensevaluierung.
- Validierung des finalen Sterilisationszyklus.

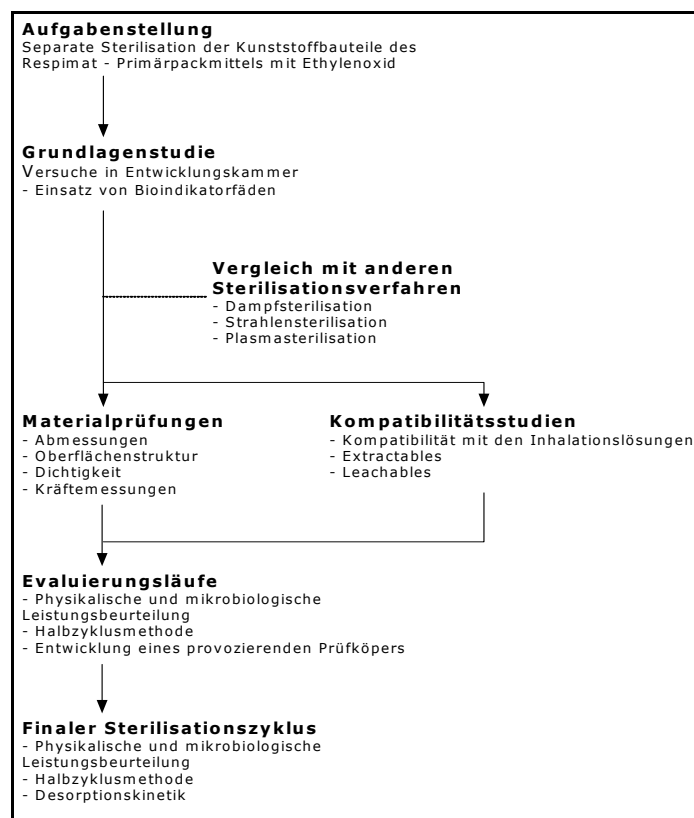


Abb. 2-3 Ablauf der Prozessentwicklung (Ethylenoxidsterilisation).

Allgemeiner Teil

3 Übersicht der Sterilisationsverfahren

„Sterilisieren heißt Abtöten oder Entfernen der an Stoffen, Zubereitungen und an Gegenständen vorkommenden lebensfähigen Formen von Mikroorganismen [31].“

3.1 Die Klassifizierung der Sterilisationsverfahren

Die derzeit angewendeten Sterilisationsverfahren lassen sich in zwei Gruppen einteilen, die thermischen Sterilisationsverfahren, auch als klassische Sterilisationsverfahren bezeichnet und die so genannten modernen „Kaltsterilisationsverfahren“ [32]. Tab. 3-1 gibt eine Übersicht über die gängigen Sterilisationsmethoden und ihre Gruppenzugehörigkeit.

Tab. 3-1 Einteilung der Sterilisationsverfahren.

Thermische Sterilisationsverfahren	Kaltsterilisationsverfahren
Dampfsterilisation ^a	Strahlensterilisation ^a :
Trockene Hitze ^a	
	Gassterilisation ^b :
	<ul style="list-style-type: none"> • Chlordioxid • Ethylenoxid • Formaldehyd • Ozon (DOL) • Peressigsäure • Wasserstoffperoxid <ul style="list-style-type: none"> ○ VPHP ○ Plasma
	Sterilfiltration ^c

^a Physikalische Sterilisation; ^b Chemische Sterilisation; ^c Mechanische Sterilisation

Der gebräuchliche Begriff der Kaltsterilisationsverfahren ist allerdings semantisch nicht ganz korrekt, da formal betrachtet die Keimreduktion dieser Verfahren nicht auf Abkühlung basiert [20]. Die Bezeichnung trägt vielmehr dem Umstand Rechnung, dass diese Verfahren bereits bei Temperaturen unterhalb von 80 °C sterilisierende Wirkung zeigen. Eine weitere Möglichkeit der Klassifizierung stellt die Unterteilung in physikalische, chemische und mechanische Verfahren dar (siehe Tab. 3-1) [19].

Die Sterilisationsverfahren auf Basis gesättigten Wasserdampfs, trockener Hitze und ionisierender Strahlung werden als Referenzverfahren bezeichnet und hielten als solche Einzug in die Arzneibücher [7, 11]. Bei diesen drei Verfahren ist der Zusammenhang zwischen physikalischen Parametern und resultierender Keimreduktionsrate hinlänglich bewiesen und Standardbedingungen konnten abgeleitet werden (siehe Tab. 3-2)

Die Anwendung der genannten Verfahren unter Standardbedingungen ermöglicht die sichere Abtötung aller in der pharmazeutischen Industrie vorkommenden Keime und Viren im „overkill“.

Dies bedeutet, dass unter der Annahme, dass jede der zu sterilisierenden Einheiten mit 10^6 resistente Bakteriensporen kontaminiert sei, die Sterilisation noch immer einen SAL von 10^{-6} garantiert. Das entspricht einer Keiminaktivierung von 12 logarithmischen Größenordnungen [33].

Tab. 3-2 Standardbedingungen der Referenzverfahren [7].

Sterilisationsverfahren	Standardbedingungen			Geforderter SAL
	Einwirkzeit	Temperatur	Strahlendosis	
Dampfsterilisation	15 min	121 °C	-	$\geq 10^{-6}$
Trockene Hitze	2 h	160 °C	-	
Strahlensterilisation	-	-	25 kGy	

Anders sieht die Situation bei den Gassterilisationsverfahren aus. Hier sind alle Einflussgrößen in Abhängigkeit von der Art der Anwendung neu zu evaluieren. Ein Grund hierfür ist die häufig fehlende Korrelation zwischen den physikalischen Messgrößen und der Wirksamkeit des Verfahrens [34]. Dennoch ergibt sich aus der zunehmenden Entwicklung komplexer, hitzeempfindlicher, medizinisch – pharmazeutischer Produkte (siehe Respimat® Soft Mist Inhaler; Kap. 2) die Notwendigkeit eines vermehrten Einsatzes moderner Gaststerilisationsverfahren wie der VPHP – Technologie [32]. Entsprechend hoch ist das Bestreben, für derartige Verfahren Standardbedingungen bzw. standardisierte Methoden und Abläufe im Rahmen der Prozessentwicklung zu etablieren.

3.2 Die Wirksamkeit von Sterilisationsverfahren

Der Inaktivierung von Mikroorganismen liegt eine Reaktion erster Ordnung zugrunde, die durch nachfolgende Exponentialfunktion beschrieben wird (Überlebenszeitmodell) [35], [36].

$$(1) \quad N_t = N_0 \cdot e^{-kt}$$

N_t = Anzahl überlebender Keime zum Zeitpunkt t
 N_0 = Anzahl Keime zum Zeitpunkt t=0 (Ausgangskeimzahl)
 k = Inaktivierungskonstante
 t = Einwirkzeit

Form. 3-1 Inaktivierungskinetik von Mikroorganismen (Exponentialfunktion).

Überträgt man diese Funktion auf definierte Sterilisationsprozesse so ergibt sich unter Einbeziehung des D – Wertes (Dezimalreduktionswert) folgender Zusammenhang:

$$(2) \quad N_t = N_0 \cdot 10^{-\frac{t}{D}}$$

Form. 3-2 Inaktivierungskinetik von Mikroorganismen (Überlebenszeitmodell).

Der D – Wert (D) ist die Zeit [min], die erforderlich ist die Keimzahl um eine Zehnerpotenz (90%) zu reduzieren. Der D – Wert ist eine keim- und verfahrensspezifische Größe. Logarithmisch ausgedrückt erhält man:

$$(3) \quad \log N_t = \log N_0 - \frac{t}{D}$$

Form. 3-3 Inaktivierungskinetik von Mikroorganismen (logarithmische Darstellung).

Stellt man diesen Zusammenhang graphisch in einem semilogarithmischen Diagramm dar, so erhält man die Überlebenskurve (Survivor Curve) als Gerade mit der Steigung $1/D$ bzw. $k/2,303$ [37, 38, 39].

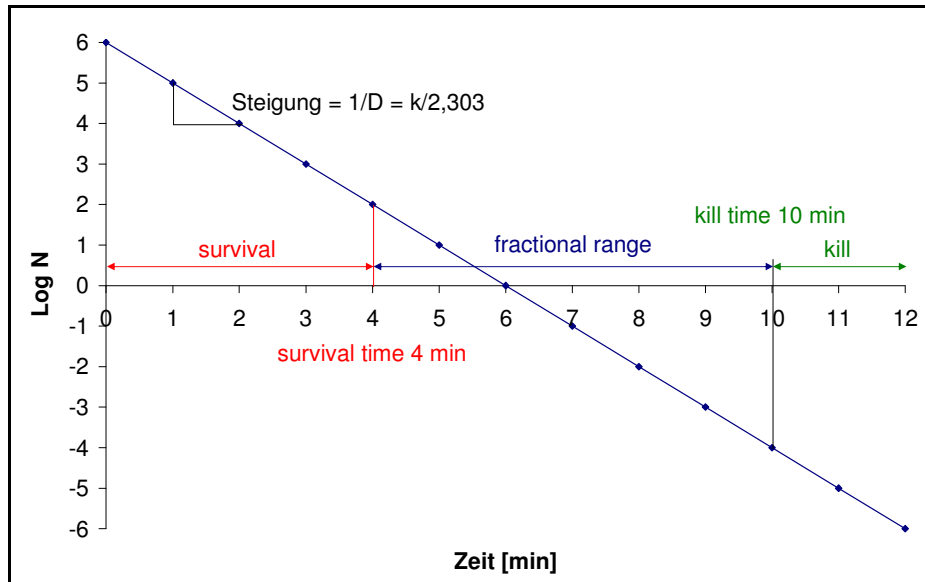


Abb. 3-1 Überlebenskurve mit $N_0=1 \times 10^6$ [KBE] und $D=1$ [min].

Gemäß des in Abb. 3-1 dargestellten Zusammenhangs kann auf der Basis des D - Wertes eine Überlebenszeit (Survival Time) und eine Abtötungszeit (Kill time) definiert werden [40].

$$(4) \quad \text{Survival Time} < (\log N_0 - 2) \cdot D [\text{min}]$$

Form. 3-4 Definition der Survival Time.

$$(5) \quad \text{Kill Time} > (\log N_0 + 4) \cdot D [\text{min}]$$

Form. 3-5 Definition der Kill Time.

Folglich zeigen Keimpopulationen (z.B. Bioindikatoren) die mit einer Expositionszeit kleiner als der Survival Time sterilisiert wurden, beim nachfolgenden Wachstumstest (siehe Kap. 7.7.7) sicher positive Resultate. Im Gegensatz dazu führen Expositionszeiten größer als die Kill Time zu einer sicheren Inaktivierung aller vorhandenen Mikroorganismen. Zwischen beiden Zeiten liegt das Fraktionale Feld (Fractional Range). Dieses Zeitfenster repräsentiert den Endpunkt der mikrobiologischen Inaktivierung bei dem nur noch eine geringe Anzahl an Mikroorganismen der ursprünglichen Ausgangskeimzahl überlebt haben und die beim Wachstumstest sowohl positive als auch negative Resultate erzeugen. Der Übergang von sicher überlebenden über das Fraktionale Feld zu sicher inaktivierten Keimpopulationen, basiert auf einer Wahrscheinlichkeitsverteilung ($P_{N(t)}$).

Es gilt:

$$(6) \quad P_{N_t} = e^{-N_t}$$

Form. 3-6 Wahrscheinlichkeitsverteilung von positiven und negativen Resultaten.

Auf Basis des Survivor Curve Modells kann unter Anwendung statistischer Methoden wie der Fraction Negative Analysis (siehe Kap. 7.7.1) für jedes Sterilisationsverfahren ein D – Wert ermittelt werden. Anhand des D – Wertes und der angestrebten Keimreduktionsrate kann dann die Wirksamkeit (F) des Sterilisationsverfahrens (Dauer der Expositionszeit) anhand der folgenden Formel berechnet werden.

$$(7) \quad F = (\log N_0 - \log N) \cdot D = \log \frac{N_0}{N} \cdot D = n_D \cdot D$$

Form. 3-7 Wirksamkeit eines Sterilisationsverfahrens.

3.3 Die Wasserstoffperoxid Sterilisation (VPHP)

Das VPHP - Sterilisationsverfahren wurde zu Beginn der 80er Jahren des letzten Jahrhunderts entwickelt und basiert auf der kontrollierten Einbringung von Wasserstoffperoxid – Dampf in ein geschlossenes zu sterilisierendes System [41, 42]. Das H₂O₂-Gas wird dabei durch kontinuierliches Verdampfen einer 30-35%igen wässrigen Wasserstoffperoxidlösung erzeugt (siehe Kap. 5.2). Verdampfer Einheit und System bilden hierbei einen geschlossenen Kreislauf. Das Verfahren arbeitet sowohl bei Über- als auch Unterdruck und kann in einem Temperaturbereich von 4 – 80°C eingesetzt werden [43, 44]. Der Begriff VHP® = Vaporized Hydrogen Peroxide ist synonym zu verwenden.

3.3.1 Die verschiedenen Phasen des VPHP - Sterilisationszyklus

Der Sterilisationszyklus setzt sich aus vier aufeinander folgenden Zyklusphasen zusammen (siehe Abb. 3-2):

Phase 1: Vorkonditionierung / Trocknung (A)

In dieser Phase wird die Luft des zu entkeimenden Raumes auf eine bestimmte relative Feuchte einreguliert. Auf diese Weise werden für jede Sterilisation die gleichen Ausgangsbedingungen generiert und Reproduzierbarkeit gewährleistet.

Phase 2: Konditionierung (B)

Die Konditionierung dient dazu die H₂O₂-Konzentration innerhalb kurzer Zeit auf den angestrebten Wert anzuheben.

Phase 3: Sterilisieren (C)

In dieser Zyklusphase wird die Gaskonzentration konstant gehalten, um die gewünschte Keimreduktion zu erzielen. Das durch Abtötungsprozesse und Oberflächenwechselwirkungen verbrauchte Gas wird kontinuierlich ergänzt.

Phase 4: Belüftung (D)

Mittels Frischluftzufuhr wird während der Belüftungsphase die Wasserstoffperoxidkonzentration im System auf einen Sollwert abgesenkt. Dieser orientiert sich zumeist am H₂O₂ – MAK – Wert.

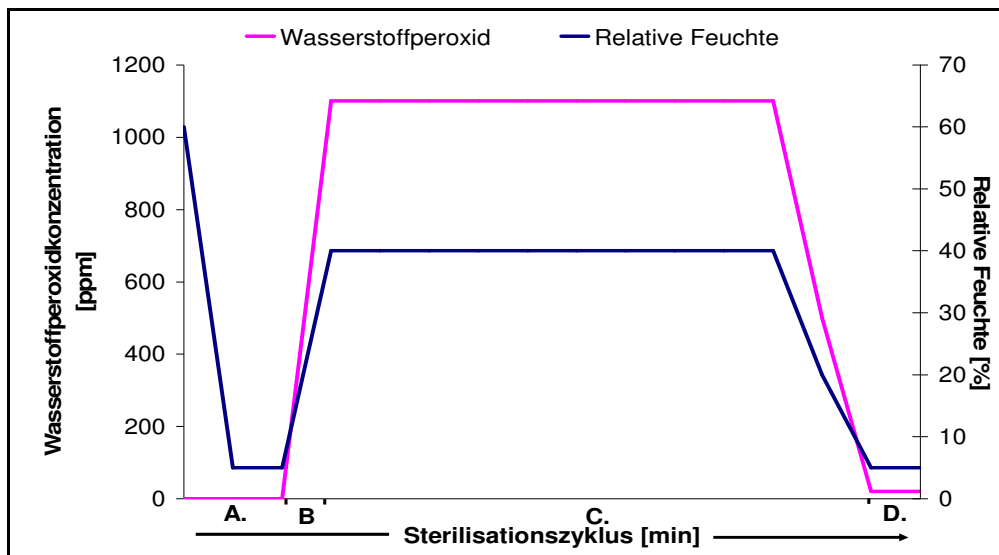


Abb. 3-2 Diagramm eines VPHP – Sterilisationszyklus. Die Ziffern A bis E beziehen sich auf die Angaben in Kap. 3.3.1

3.3.2 Einflussgrößen der VPHP - Sterilisation

Folgende Parameter sind in die Prozessentwicklung einzubeziehen, da sie unmittelbar einen Einfluss auf die Verfahrenseffizienz nehmen [45]:

Temperatur und Feuchte

Angestrebt wird ein einheitliches Temperaturgefüge auf den Oberflächen des zu sterilisierenden Systems. Empfohlen wird eine Schwankungsbreite von $\pm 2^\circ\text{C}$ um die Zieltemperatur [46]. Die Zieltemperatur ist so zu definieren, dass es nicht zu unkontrollierten Kondensationserscheinungen innerhalb der Applikation kommt, da das Kondensat aus konzentriertem Wasserstoffperoxid besteht und Korrosionsschäden verursachen kann [47]. Zu hohe Oberflächentemperaturen wirken der keimtötenden Wirkung des Wasserstoffperoxidgases entgegen und führen zu einer Erhöhung des Dezimalreduktionswertes [48]. Unmittelbar an die Temperatur gekoppelt ist die relative Feuchte. Sie stellt eine wichtige Größe bei allen Gassterilisationsverfahren dar. Nur bei genügend hoher Feuchte innerhalb des Systems können resistente Keime, wie Sporenbildner, ausreichend rehydriert und somit vom sterilisierenden Agens durchdrungen werden. Darüber hinaus stabilisiert eine hohe Feuchte das Wasserstoffperoxid in der Gasphase.

Gaskonzentration / Gasverteilung / Einwirkzeit

Für eine erfolgreiche Sterilisation muss das Gas an allen relevanten Oberflächen in ausreichender Menge präsentiert werden. Folglich sind eine gleichmäßige Verteilung des Gases, sowie die Aufrechterhaltung einer konstanten Gaskonzentration über einen definierten Zeitraum innerhalb der Applikation von entscheidender Bedeutung [48]. Positionen im System, die vom Gas nur schwer zu erreichen sind bzw. an denen sich keine konstante Gaskonzentration aufbauen lässt, werden als worst case Positionen eingestuft.

Keimreduktionsrate (Halbzyklus / Fraction Negative Analysis)

Um eine Aussage über die Effektivität eines Sterilisationsverfahrens treffen zu können, muss die Keimreduktionsrate bestimmt werden. Sie wird ausgedrückt durch den D-Wert (siehe Kap. 3.2) und ist unmittelbar abhängig von den physikalischen und chemischen Kenngrößen der angewendeten Sterilisationstechnologie. Für die Evaluierung des D – Wertes ist gerade bei Gassterilisationsverfahren der Einsatz von Bioindikatoren zwingend erforderlich.

Restgasabbau

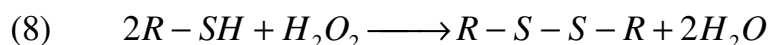
Das zu sterilisierende Gut darf durch die Anwendung des Sterilisationsverfahrens nicht in seinen Eigenschaften verändert werden. Dementsprechend ist es notwendig das eingebrachte Gas sowie mögliche Abbauprodukte nach Einwirkung wieder vollständig zu entfernen. Bei der Sterilisation von Räumen die im Anschluss von Personen betreten werden sind die gesetzlichen Vorgaben zur Luftqualität einzuhalten (MAK – Wert, siehe Kap. 3.3.5). Die VPHP – Technik zeichnet sich durch den Umstand aus, das H_2O_2 schnell an der Luft zu Wasser und Sauerstoff aufgespalten wird und somit keine langwierigen Desorptionszeiten einzuhalten sind.

3.3.3 Anwendungsgebiete der Wasserstoffperoxidsterilisation

Die VPHP – Technologie findet im Bereich der Sterilisation von Isolatoren, Materialschleusen, Abfüllanlagen und Reinräumen breite Anwendung [49, 50, 51]. Diese Anlagen sind als geschlossene Systeme ausgelegt und können optimal in das Kreislaufprinzip eingebunden werden. Größere Wasserstoffperoxid – Verdampfer sind in der Lage Volumina von mehr als 500 m^3 in angemessener Zeit zu dekontaminieren. Neuere Systeme zur Raumdekontamination arbeiten mittels in der Reinraumdecke platzierten H_2O_2 -Düsen, die einen feinen Sprühnebel auf alle Oberflächen auftragen. Die Intensität der Begasung wird über Sensoren zur Bestimmung der Kondensationsrate gesteuert [52]. Zu diesen Anwendungsgebieten kommt eine Vielzahl von Sonderapplikationen hinzu, bei denen thermische Standardverfahren nicht anwendbar sind. Hierzu zählen unter anderem Produktionsanlagen mit thermolabiler Sensorik, Gefriertrockner und Versuchstieranlagen [53, 54, 55]. Darüber hinaus ist Wasserstoffperoxid das in der Lebensmittelindustrie am häufigsten eingesetzte Entkeimungsmittel [56].

3.3.4 Wirkungsmechanismus des Wasserstoffperoxids

Das Wasserstoffperoxidgas verfügt über ein breit gefächertes Wirkungsspektrum. In Abhängigkeit von Konzentration und Einwirkzeit werden Bakterien, Sporen, Pilze und Viren zuverlässig inaktiviert [57, 58]. Für die mikrobizide Wirkung des Wasserstoffperoxids wird das hohe Oxidationspotential der Verbindung verantwortlich gemacht. In die Zelle aufgenommen, oxidiert H_2O_2 die SH – Gruppen stoffwechselrelevanter Zellproteine, die dadurch irreversibel in ihrer Funktion gehemmt werden (siehe Form. 3-8) [59].



Form. 3-8 Oxidation der SH- Gruppen.

3.3.5 Physikalische Eigenschaften des Wasserstoffperoxids

Reines Wasserstoffperoxid ist eine farblose, viskose Flüssigkeit, die bei 150°C siedet und bei $-0,9^\circ\text{C}$ zu farblosen, nadelförmigen Kristallen erstarrt. Hoher Schmelz- und Siedepunkt sowie die ölige Konsistenz sind eine Folge der starken Vernetzung über Wasserstoffbrücken. Das Molekül besitzt eine „verdrillte“ Struktur. Das Molekulargewicht (MG) beträgt 34,02. Handelsüblich sind wässrige Lösungen mit einem Gehalt von 3% oder 30% [60]. Diese schwach sauer reagierenden, ebenfalls farblosen Lösungen zersetzen sich leicht unter Einwirkung von Metallen, insbesondere Schwermetalle, Alkalien, Staub sowie durch Katalysatorenrückstände in Kunststoffen. Sie werden daher in der Regel durch geeignete Zusätze, wie z.B. Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Natriumdiphosphat stabilisiert. Konzentrierte Lösungen sind starke Oxidationsmittel, doch wirkt H_2O_2 gegenüber stärkeren Oxidationsmitteln, wie z.B. $KMnO_4$ reduzierend. Gemäß der Gefahrstoffverordnung wird die 30%ige Lösung als brandfördernd und reizend eingestuft. Die zulässige Maximale Arbeitsplatz Konzentration (MAK) liegt bei $1\text{ ppm} = 1,4\text{ mg/m}^3$ [61, 62].

Die MAK ist definiert als die Konzentration eines Stoffes in der Luft am Arbeitsplatz, bei der im Allgemeinen die Gesundheit der Arbeitnehmer nicht beeinträchtigt wird [63]. Wasserstoffperoxid wurde von der FDA als GRAS (Generally Recognized As Safe) eingestuft [64].

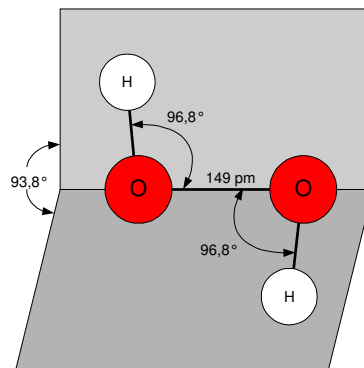


Abb. 3-3 Die Struktur des H_2O_2 - Moleküls.

3.4 Das Ethylenoxid – Sterilisationsverfahren

Die Ethylensterilisation findet seit 1950 industrielle Anwendung und ist bis in die heutige Zeit hinein das klassische „Kaltsterilisationsverfahren“ für Medizinprodukte [65, 66]. Das Verfahren basiert auf der Einspeisung von Ethylenoxid in große Sterilisationskammern. Auf Basis des während der Sterilisationsphase anliegenden Betriebsdruckes werden drei Verfahren unterschieden:

Vakuum- oder Unterdruckverfahren

Bei diesem Verfahren liegt der Betriebsdruck während der Expositionszeit unterhalb des Atmosphärendruckes.

Gleichdruckverfahren

Hier bleibt der Druck in jeder Phase des Verfahrens annähernd gleich dem Atmosphärendruck.

Überdruckverfahren

Während der Sterilisationsphase steigt bei diesem Verfahren der Betriebsdruck deutlich über den Atmosphärendruck. Je nachdem welches Verfahren angewendet wird, erfolgt die Sterilisation entweder mit reinem Ethylenoxid oder mit Gasgemischen (ETO/CO_2 oder ETO/N_2) unterschiedlicher Konzentration [67].

3.4.1 Der Prozessablauf der Ethylenoxidsterilisation im Unterdruckverfahren

Allgemein ergibt sich folgender Prozessablauf (siehe Abb. 3-4):

Vorkonditionierung (A/B)

Aufbau des Unterdrucks (nicht beim Gleichdruckverfahren) und Leckage – Test (Explosionsschutz). Temperierung sowie aktive Befeuchtung der zu sterilisierenden Ware.

Sterilisation (C/D)

Einspeisung und Aufrechterhaltung der erforderlichen Ethylenoxidmenge. Die Sterilisation erfolgt häufig im Versandgebilde (tertiärverpackt).

Fraktioniertes Belüften (E)

Entfernung des Sterilisiergases eventuell mit anschließender Frischlufteinspeisung

Nachkonditionierung / Desorption

Ausgasen des sterilisierten Gutes.

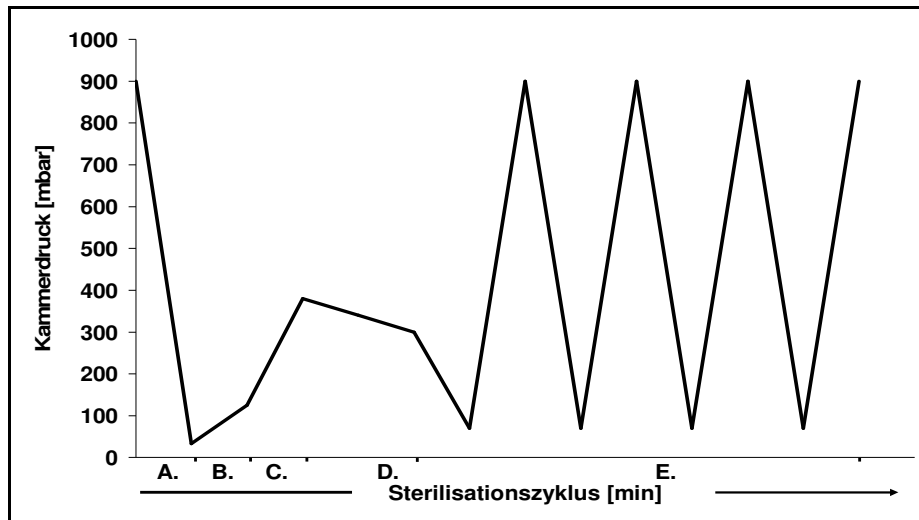


Abb. 3-4 Diagramm eines Ethylenoxid – Sterilisationszyklus im Unterdruckverfahren[68]. Die Ziffern A bis E beziehen sich auf die Angaben in Kap. 3.4.1

3.4.2 Einflussgrößen der Ethylenoxidsterilisation

Die folgenden Parameter stehen in direktem Zusammenhang zur Effektivität des Sterilisationsverfahrens und müssen daher im Rahmen der Verfahrensentwicklung evaluiert werden [69, 70, 71]:

Temperatur und Feuchte

Temperatur und Feuchte sind für die Ethylenoxidsterilisation von entscheidender Bedeutung. Hohe Temperaturen ermöglichen einen kleinen D – Wert (schneller Sterilisationserfolg). Kalte Stellen, so genannte „cold spots“, innerhalb der Sterilisationskammer zeichnen sich durch eine erhöhte Resistenz gegenüber der Keimabtötung aus. Daher ist auch bei diesem Verfahren analog der VPHP – Methode auf eine gleichmäßige Temperaturverteilung zu achten. Auf die besondere Rolle der Feuchte im Zusammenhang mit der Abtötung von Sporenbildnern wurde bereits in Kap. 3.3.2 hingewiesen. Da die Ethylenoxidsterilisation zumeist bei bereits tertiär verpackten Produkten (siehe Kap. 8.2.2) zur Anwendung kommt ist eine ausreichende Befeuchtung des Gutes vor Sterilisation unbedingt erforderlich. Ohne eine gleichmäßige Befeuchtung der Kartonnagen wäre eine Durchdringung mit Ethylenoxid ausgeschlossen.

Druck

Neben dem Sicherheitsaspekt aufgrund des bestehenden Explosionsrisikos (siehe Kap. 3.4.5) nimmt die Druckdifferenz in der Kammer einen entscheidenden Einfluss auf die Distribution des Gases und damit letztendlich auch auf den Sterilisationserfolg.

Gaskonzentration / Gasverteilung / Expositionsdauer

Einer homogenen Gasverteilung, sowie einer ausreichenden Exposition des Gutes mit Ethylenoxid einer bestimmten Konzentration kommt erwartungsgemäß eine hohe Bedeutung im Hinblick auf den Sterilisationserfolg zu. Die Aufrechterhaltung einer konstanten Gaskonzentration ist abhängig von der Beschaffenheit der Kammerbeladung und dem daraus resultierenden Adsorptionsverhalten der Ware. Besonders bei Mischbeladungen besteht die Gefahr, dass ein Teil des Gutes Ethylenoxid verstärkt adsorbiert, wie zum Beispiel PVC - haltige Produkte, während der andere Teil an Gas verarmt.

Keimreduzierungsrate (Halbzyklus)

Die Keimreduktionsrate ist die entscheidende Kenngröße für die Bewertung der Effektivität des Sterilisationsverfahrens. Die Evaluierung des D – Wertes erfolgt in der Regel über das Halbzyklusverfahren (siehe Kap. 8.2.1) und stützt sich auf den Einsatz von geeigneten Bioindikatoren.

Restgasabbau

Im Hinblick auf Bediener- und Patientensicherheit ist der rückstandsfreie Abbau des Ethylenoxid und seiner Begleitprodukte zwingend erforderlich. Aufgrund des hohen Adsorptionsverhaltens vieler Kunststoffe gestaltet sich die Desorptionsphase im Vergleich zur Einwirkzeit sehr zeitintensiv [72].

3.4.3 Anwendungsbereiche der Ethylenoxidsterilisation

Die Ethylenoxidsterilisation findet breite Anwendung bei einer Vielzahl von Medizinprodukten:

- Katheter
- Spritzen und Nadeln
- Handschuhe
- Prothesen
- Implantate
- Schläuche
- Textilien
- Endoskope

Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf Arzneidrogen wurde von behördlicher Seite stark eingeschränkt. Die Sterilisation von pharmazeutischen Ausgangsstoffen ist gänzlich untersagt [73]. Behältnismaterialien dürfen nur unter der Voraussetzung, dass andere Sterilisationsmethoden nicht anwendbar sind mit Ethylenoxid behandelt werden. Tab. 3-3 fasst die von der EMEA vorgeschlagenen Restgaskonzentrationen für Ethylenoxid und Ethylenchlorhydrin zusammen [74].

Tab. 3-3 Restgaskonzentrationen für Ethylenoxid und Ethylenchlorhydrin definiert von der EMEA

Sterilisiertes Gut	Ethylenoxid	Ethylenchlorhydrin
Rohmaterialien	1 µg/g	50 µg/g
Fertigware	1 µg/g	50 µg/g
Behältnisse	1 µg/ml (Behältervolumen)	50 µg/ml (Behältervolumen)

3.4.4 Wirkungsprinzip des Ethylenoxids

Ethylenoxid verfügt über ein breites antimikrobielles Wirkungsspektrum. Seine keimtötende Wirkung beruht auf einer irreversiblen Reaktion des Epoxids mit den funktionellen Endgruppen der Zellproteine (siehe Abb. 3-5). Die daraus resultierende Proteindenaturierung führt zur Inaktivierung der Mikroorganismen [75].

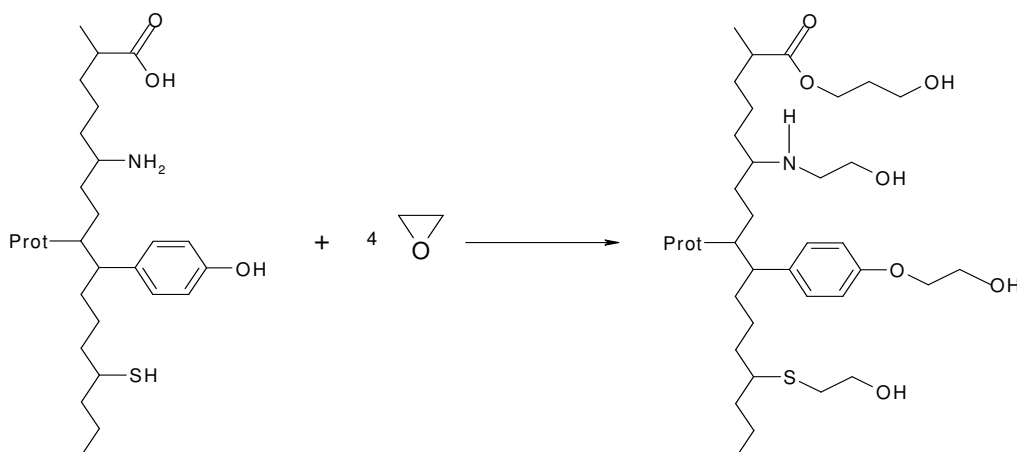


Abb. 3-5 Denaturierungsreaktion von Proteinen unter der Einwirkung von Ethylenoxid [67].

3.4.5 Physikalische Eigenschaften des Ethylenoxids

Ethylenoxid (C_2H_4O) ist ein farbloses Gas mit einem süßlichen, ätherischen Geruch. Der Siedepunkt liegt bei $10,7\text{ °C}$. Aufgrund seiner Epoxidstruktur ist Ethylenoxid hochreaktiv. Ethylenoxid löst sich vollständig in Wasser unter der Bildung von Ethylenglykol. Mit Chlorwasserstoff reagiert Ethylenoxid zu Ethylenchlorhydrin (siehe Kap. 8.10).

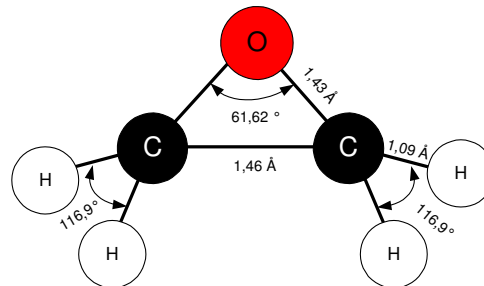


Abb. 3-6 Die Struktur des Ethylenoxid – Moleküls.

Mit Luft bildet Ethylenoxid explosive Gemische. Die Gefahrstoffverordnung stuft Ethylenoxid als reizend, hochentzündlich, krebserzeugend und erbgutverändernd ein. Aufgrund seiner Mutagenität wird für Ethylenoxid kein MAK – Wert mehr angegeben. Etwa 100-200 mg/l Atemluft wirken für den Menschen in wenigen Augenblicken tödlich [76]. Der TRK – Wert wurde auf $1\text{ ppm} = 2,0\text{ mg/m}^3$ festgelegt. Der TRK ist definiert als die Konzentration eines Stoffes in der Luft am Arbeitsplatz, die nach dem Stand der Technik erreicht werden kann [77].

4 Bioindikatoren und ihre Verwendung

Unter Bioindikatoren versteht man standardisierte Zubereitungen aus ausgewählten Mikroorganismen mit definierten Resistenzeigenschaften, die zur Prüfung der Wirksamkeit von Sterilisationsverfahren eingesetzt werden [78]. In der Regel handelt es sich um Sporenpräparationen, die auf einem inerten Träger (Papierstreifen, Glasträger, Metallplättchen) aufgebracht und in einer Hülle verpackt sind. Die Hülle schützt sowohl vor Kreuzkontaminationen im Rahmen der Validierung als auch vor Verkeimung der Umgebung. Die eingesetzten Testkeime sind apathogen.

Ein Bioindikator ist charakterisiert durch den Teststamm, die Sporenanzahl und den D-Wert. Vor Einsatz der Bioindikatoren im Rahmen der Validierung eines Sterilisationsverfahrens sind diese zu qualifizieren [79, 80, 81]. Tab. 4-1 gibt eine Übersicht über die von den Arzneibüchern empfohlenen Testkeime.

Während die Europäische Arzneibuchkommission im EP Supplement 4.3 mit *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 noch einen Testkeim für die Sterilisation mit Wasserstoffperoxid und Peressigsäure erwähnt, wurde im Supplement 4.8 keine Empfehlung mehr ausgesprochen. Begründet wurde die Entscheidung damit, dass diese Sterilisationsverfahren nicht mehr im Fokus des Europäischen Arzneibuches stehen.

Tab. 4-1 Testkeime des Europäischen und Amerikanischen Arzneibuches.

Sterilisationsverfahren	EP [82]	USP [83]
Dampfsterilisation	Bacillus stearothermophilus ATCC 7953	Bacillus stearothermophilus, Clostridium sporogenes, Bacillus subtilis und Bacillus coagulans
Trockene Hitze	Bacillus subtilis ATCC 9372	Bacillus subtilis
Strahlensterilisation	Bacillus pumilis ATCC 27.142	Bacillus pumilis
Gassterilisation	Bacillus subtilis ATCC 9372	Bacillus subtilis
VPHP	-	Bacillus stearothermophilus, Bacillus subtilis und Clostridium sporogenes

Material

5 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)

5.1 Aufbau und Funktion der Drilling-, Detaching-, Controlling-Anlage

Die DDC – Anlage (Wilco AG, Wohlen) dient der Aufbereitung und Funktionskontrolle des doppelwandigen Respimat® – Kunststoffbehälters (siehe Kap. 6.1). Mittels eines speziellen Transportsystems (Shuttles) werden die Behälter in die DDC Anlage eingebracht und dort für die Abfüllung vorbereitet, sowie auf generelle Eignung geprüft. Die Anlage besteht aus fünf verschiedenen Funktionseinheiten. Diese sind in Serie angeordnet und über das Transportsystem miteinander verbunden (siehe Abb. 5-1).

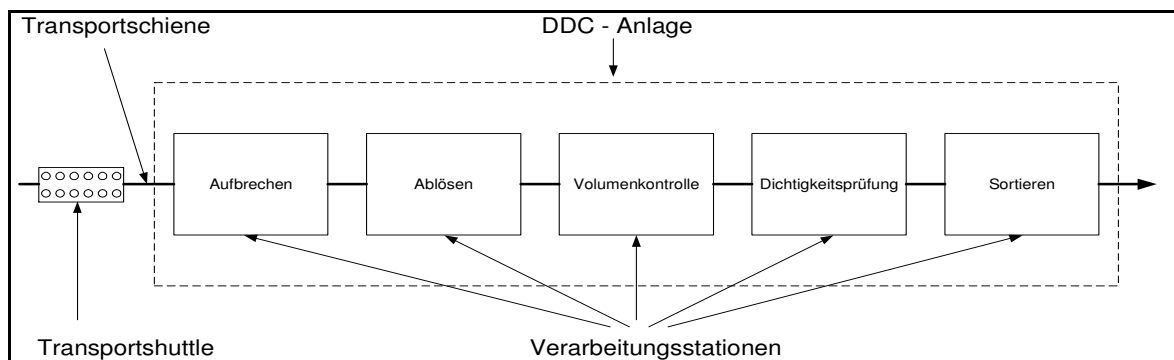


Abb. 5-1 Funktionsschema der DDC – Anlage.

Die fünf Funktionseinheiten:

Aufbrechen

Beim Aufbrechen werden die Behälter an der Schulter, im Bereich des Außenbehälters, mit zwei Dornen aufgebrochen und dadurch bleibend geöffnet.

Ablösen

Im nachfolgenden Ablöseprozess wird der an der Außenhülle anhaftende Innenbehälter mittels alternierender Druck- und Vakuumstöße abgelöst. Abb. 5-2 zeigt den aufgebrochenen und abgelösten Kunststoffbehälter schematisch.

Volumenkontrolle

Die anschließende Volumenkontrolle prüft mittels einer Druckmessung die Güte des Ablöseprozesses. Nach Beaufschlagung des Innenbehälters mit einem definierten Volumen muss sich ein entsprechender Druck im Prüfsystem einstellen.

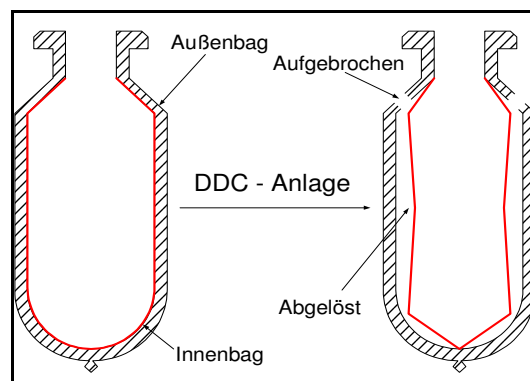


Abb. 5-2 Schematische Darstellung der Behälteraufbereitung in der DDC – Anlage.

Dichtigkeitsprüfung

Zur Integritätskontrolle des Innenbehälters wird abschließend eine Dichtigkeitsprüfung vorgenommen. Dabei darf nach Anlegen von Vakuum an den Innenbehälter der Druck innerhalb eines definierten Zeitfensters einen bestimmten Wert nicht überschreiten. Diese Form der Dichtigkeitsprüfung wird als Druckänderungsverfahren bezeichnet [84].

Sortieren

Behälter bei denen ein Qualitätsmangel detektiert wurde, werden mittels der Sortierstation aus dem Produktionsprozess entfernt. Im Anschluss daran werden die Behälter zur Abfüll- und Verschließmaschine weitertransportiert. Die ersten vier Funktionseinheiten bestehen aus jeweils zwei identischen Verarbeitungsstationen (siehe Abb. 12-1). Jede Verarbeitungsstation wurde für die gleichzeitige Bearbeitung von zwölf Behältern ausgelegt. Für die Behälterverarbeitung werden die Verarbeitungsstationen auf die Transportshuttles abgesenkt und nach Abschluss der Bearbeitungsphase wieder angehoben. Der Kontakt zwischen Behälter und Verarbeitungsstation wird über Prüfformen realisiert (siehe Abb. 5-3).

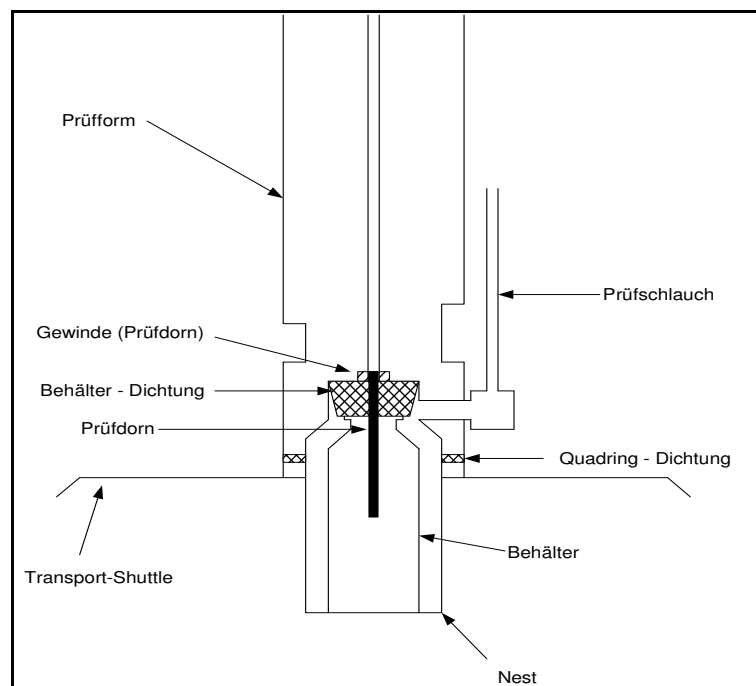


Abb. 5-3 Schematische Darstellung einer Prüfform.

Die DDC – Anlage ist für den Betrieb unter aseptischen Bedingungen ausgelegt. Laminar Flow (LF) – Einheiten sorgen innerhalb der Anlage für eine horizontale, parallel gerichtete Luftströmung auf Höhe der Transportshuttles. Die Aufbereitung der Kunststoffbehälter erfolgt mittels sterilfiltrierter Prüfluft. Die Verarbeitungsstationen Ablösen, Volumenkontrolle und Dichtigkeitsprüfung sind an das integrierte Sterilisationsmodul (siehe Kap. 5.6) angeschlossen. Nur bei diesen Verarbeitungsstationen wird die später produktberührende Oberfläche des Innenbehälters mit Prüfluft beaufschlagt.

5.2 Funktionsweise des AMSCO VHP 1001 – Generators

Der AMSCO – VHP 1001 Generator (Steris GmbH, Hürth) ist eine mobile Einheit zur Erzeugung von gasförmigem Wasserstoffperoxid. Er wird zur Sterilisation von sauberen und trockenen Oberflächen innerhalb abgedichteter Räume, ab einem Volumen von 0,02 m³ eingesetzt [85]. H₂O₂ – Gas wird durch kontinuierliches Verdampfen einer 30 - 35%igen wässrigen Wasserstoffperoxid – Lösung erzeugt. Zu diesem Zweck wird die Lösung zunächst aus einer Vorratsflasche in ein zwischengeschaltetes Reservoir überführt.

Dieses dient im Verlauf des Sterilisationsprozesses der Versorgung der Verdampferinheit. Die Dosierung erfolgt dabei über spezielle Injektionsnadeln. Die Injektionsmenge wird mittels einer Waage kontrolliert und auf einem Sterilisationsprotokoll festgehalten. Der Verdampfer selbst besteht aus einer beheizbaren Platte, die während der Konditionierungs- und Sterilisationsphase den zirkulierenden Luftstrom mit gasförmigem Wasserstoffperoxid anreichert. Das Prinzip der spontanen Lösungsverdampfung wird als „Flash - Vaporization“ bezeichnet. Das Konzentrationsverhältnis H_2O_2 zu H_2O im entstehend Gas - Wasserdampf - Gemisch steht dabei nicht im Gleichgewicht zum Konzentrationsverhältnis innerhalb der ursprünglichen Lösung [86]. Während des Sterilisationsprozesses bilden Generator und zu sterilisierender Raum einen geschlossenen Kreislauf (siehe Abb. 5-4).

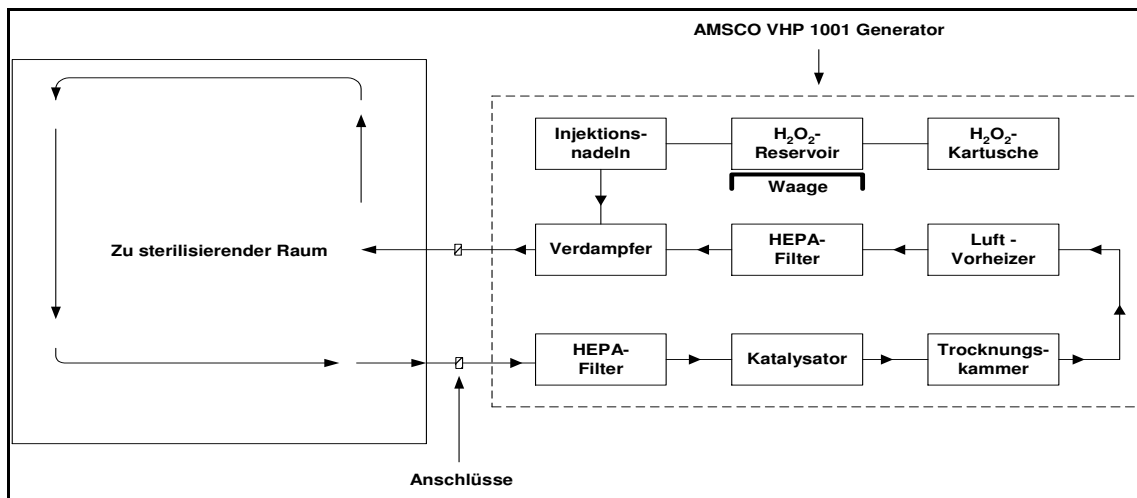


Abb. 5-4 Flussdiagramm des AMSCO VHP 1001 Generators.

Zur Erzeugung der Zirkulationsströmung, wird die Luft aus dem zu sterilisierenden Raum in den Generator geführt. Dort passiert der Luftstrom zunächst einen HEPA (High Efficiency Particulate Air) - Filter und wird anschließend zu einem Katalysator weitertransportiert. Dieser entfernt restliches Wasserstoffperoxid und leitet die frisch aufbereitete Luft über eine Trocknungskammer dem Verdampfer zu. Anschließend wird die angereicherte Luft in das zu sterilisierende Volumen zurückgeführt (siehe Abb. 5-4). Der Lufthaushalt wird während des gesamten Zyklus überwacht und bei Bedarf über die Gebläseleistung nachreguliert. Die Gewährleistung des Zirkulationsprinzips ist für die einwandfreie Funktion des Generators zwingend erforderlich. Nacheinander arbeitet der Generator die Phasen Trocknen, Anreichern, Sterilisieren und Belüften ab. Für jeden Zyklusabschnitt stehen die relevanten Parameter einstellbar zur Verfügung (siehe Tab. 5-1).

Tab. 5-1 Parameter des AMSCO VHP 1001 Generators.

Parameter	Einheit	Zyklusphase
Luftströmungsrate ^b	m ³ /h	T/A/S/B ^a
Injektionsrate	g/min	A/S
Luftfeuchtigkeit	% bzw. mg/l	T
Dauer	min	T/A/S/B
Verdampfertemperatur	°C	A/S

^a T = Trocknen; A = Anreichern; S = Sterilisieren; B = Belüften;

^b Die Luftströmungsrate bezieht sich in der vorliegenden Arbeit ausschließlich auf den Luftstrom innerhalb der Ringleitung

Die integrierte Trocknungskammer des Generators muss in regelmäßigen Abständen regeneriert werden. Für die Regeneration werden ca. 18 Stunden benötigt. Das Intervall zwischen den einzelnen Regenerationsphasen ist abhängig von der Dauer der Belüftungsphase des Sterilisationszyklus.

5.3 Die Piab Classic Vakuumpumpe H120

Die Piab Classic Vakuumpumpe Model H120 (Piab Vakuum GmbH, Friedberg) arbeitet nach dem Venturi – Prinzip (siehe Abb. 5-5). Dabei strömt Druckluft (1) durch die Düsen (2). Es entsteht ein Sog an den Öffnungen der einzelnen Stufen (3) und Umgebungsluft wird durch den Strahl mitgesaugt. Hierdurch wird Vakuum erzeugt (4).

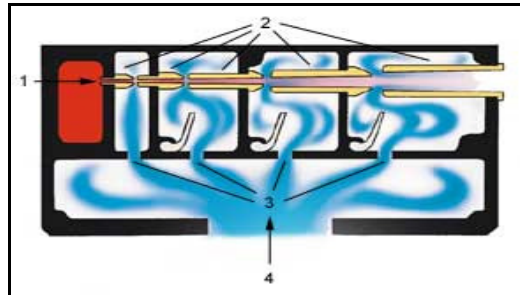


Abb. 5-5 Fließschema Venturi Vakuumpumpe.

Bei einem Luftverbrauch von 7,6 l/s kann ein maximaler Unterdruck von -100,8 kPA erreicht werden [87]. Für die Versuche wurden die Vakuumpumpen auf maximale Saugleistung eingestellt.

5.4 Der Aufbau des Schlauchmodells

Das Schlauchmodell besteht aus zwei Kunststoffverteiltern die über zehn Kunststoffschläuche direkt miteinander verbunden werden. Die Kunststoffschläuche bestehen aus Polyethylen (PE) und haben einen Durchmesser von 2 bzw. 4 mm. Einer der beiden Verteiler ist in die zentrale Versorgungsleitung (Ringleitung) integriert. Die Ringleitung wird an den AMSCO VHP 10001 Generator angeschlossen und dient im Verlauf des Sterilisationsprozesses der Aufrechterhaltung der Zirkulationsströmung (siehe Kap. 5.2). Mittels einer Venturi – Vakuumpumpe wird der Gasstrom anteilig aus der Ringleitung durch die Verteiler und Schläuche transportiert und anschließend dem Abluftsystem zugeführt.

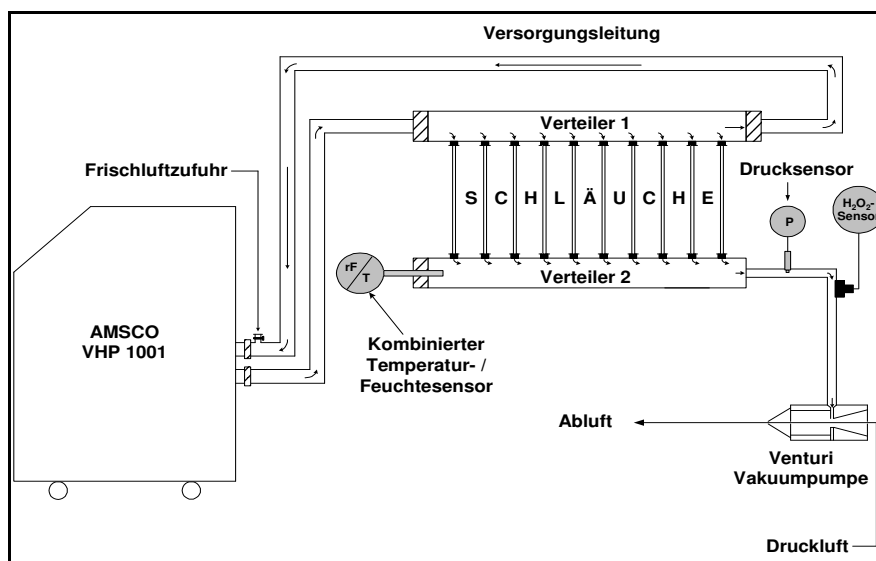


Abb. 5-6 Flussdiagramm des Schlauchmodells.

Um einer Störung des Lufthaushaltes innerhalb der Ringleitung entgegenzuwirken wird der entnommene Anteil kontinuierlich durch Frischluft ergänzt (siehe Abb. 5-6). Ein kombinierter Temperatur-, Feuchtesensor (siehe Kap. 5.8.3), ein Drucksensor (siehe Kap. 5.8.1) und eine Sonde zur Erfassung der Wasserstoffperoxidkonzentration (siehe Kap. 5.8.5) vervollständigen das Modell.

5.5 Die Konstruktion des erweitertes Testmodell

Das erweiterte Testmodell basiert auf einer einzelnen Verarbeitungsstation zur Dichtigkeitsprüfung. Alle in der Originalkonstruktion vorhandenen Leitungswege, Filtereinheiten und Verteiler sind im Modell realisiert. Die Entscheidung, das erweiterte Testmodell auf der Basis eines Dichtigkeitsprüfkopfes zu konstruieren, leitet sich aus dem Aufbau des Leitungssystems der Prüfstation ab. Die Dichtigkeitsstation ist die einzige Prüfeinheit der DDC – Anlage, bei der das H_2O_2 – Gas pfadabhängig durch zwei Sterilfilter geführt werden muss (siehe Abb. 12-6). Der aus den Filtereinheiten resultierende erhöhte Systemwiderstand wirkt einer schnellen Verteilung des Gases innerhalb der Leitungswege entgegen. Vor diesem Hintergrund wird die Dichtigkeitsprüfstation als worst case Einheit eingestuft. Wie auch beim Schlauchmodell (siehe Kap. 5.2) dient die Kombination aus AMSCO VHP 1001 Generator und Ringleitung der Beaufschlagung der Prüfeinheit mit Wasserstoffperoxid - Gas. Zum Transport des Gases durch das Leitungssystem kann neben einer Venturi - Vakuumpumpe am Ende des Systems (siehe Abb. 5-7), alternativ ein vorgeschalteter Kompressor (siehe Abb. 5-8) eingesetzt werden. Damit das Gas durch den Prüfkopf strömen kann, müssen die nach unten offenen Prüfformen durch einen Werkstückträger verschlossen werden. Während sich bei der DDC – Anlage die einzelnen Prüfköpfe auf die Werkstückträger absenken (siehe Kap. 5.1 und 9.4), wird beim Modell der Werkstückträger mittels eines pneumatischen Hubzylinders an die Prüfformen gepresst. Um bei der Sterilisation alle Leitungswege erfassen zu können, müssen am Modell, wie auch im Sterilisationsmodul der DDC – Anlage, zwei Pfade berücksichtigt werden (siehe Kap. 5.6). Diese lassen sich am Modell manuell durchschalten.

Das Rohrleitungs- und Instrumentierungsschema (R&I) (siehe Abb. 12-3) zeigt die Pfadzugehörigkeiten innerhalb des erweiterten Testmodells an. Zur Vermeidung von Kondensation innerhalb des Prüfsystems, sind an den Filtereinheiten und den Verteilern regelbarer Heizmatten angebracht. Sie können einzeln aktiviert werden und erreichen eine maximale Temperatur von 40 °C. In Ergänzung zum AMSCO VHP 1001 Generator kann die Trocknung und das Belüften mittels separater Druckluft durchgeführt werden.

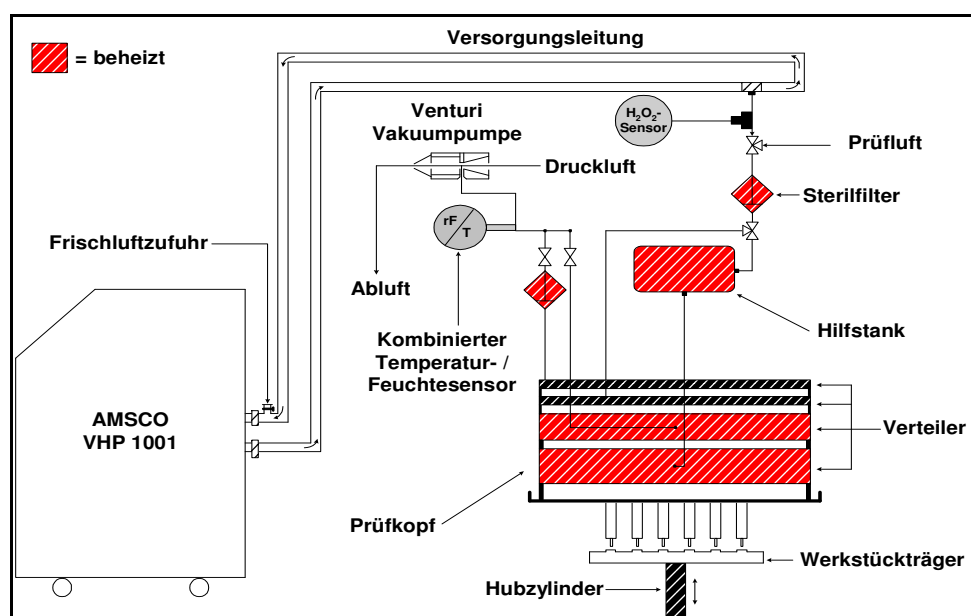


Abb. 5-7 Flussdiagramm des erweitertes Testmodells. Die Gasführung erfolgt mittels endständiger Venturi Vakuumpumpe.

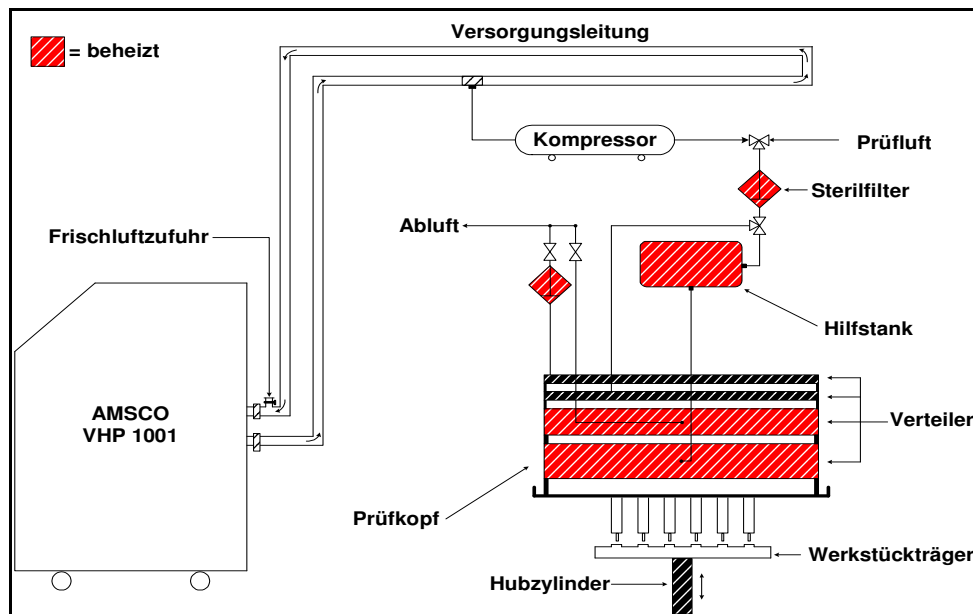


Abb. 5-8 Flussdiagramm des erweiterten Testmodells. Die Gasführung erfolgt mittels vorgeschaltetem Kompressor.

5.6 Die Besonderheiten des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage

Als zentrales Element des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage findet sich auch hier die übergeordnete Versorgungsleitung, die vom AMSCO VHP 1001 Generator gespeist wird. Im Gegensatz zu den Modellen ist die Ringleitung der DDC – Anlage jedoch beheizbar ausgelegt. Mittels terminaler Venturi – Vakuumpumpen wird das Wasserstoffperoxidgas über die Prüfköpfe der zu sterilisierenden Verarbeitungsstationen Ablösen, Volumenkontrolle und Dichtigkeitsprüfung (siehe Kap. 5.1) transportiert und anschließend der zentralen Abluftleitung zugeführt (siehe Abb. 12-2).

Der Sterilisationsprozess setzt sich aus zwei Sterilisationszyklen zusammen, da das gesamte Leitungssystem nicht in einem einzigen Durchgang sterilisiert werden kann. Es werden zwei Sterilisationspfade unterschieden, die entweder getrennt oder unmittelbar nacheinander mit Wasserstoffperoxidgas beaufschlagt werden können (siehe Kap. 5.5). Die R&I - Schemata Abb. 12-4, Abb. 12-5 und Abb. 12-6 zeigen die Pfadzugehörigkeiten der einzelnen Verarbeitungsstationen. Nach erfolgreicher Sterilisation wird das Leitungssystem mit Stützluft (siehe Abb. 5-9) beaufschlagt. Darunter wird eine gerichtete Luftströmung verstanden, die an der Ringleitung eingespeist wird und im Bereich der offenen Prüfformen aus dem System austritt (siehe Abb. 5-9). Auf diese Weise wird eine Rekontamination des sterilisierten Systems verhindert.

Überwacht wird der Sterilisationsprozess anhand von kombinierten Temperatur-, Feuchtesensoren (siehe Kap. 5.8.3.1) und einer in die Versorgungsleitung integrierten H_2O_2 – Sonde (siehe Kap. 5.8.5). Darüber hinaus kontrolliert die Steuerung der DDC – Anlage die Abläufe im AMSCO – VHP 1001 Generator. Der gesamte Sterilisationsablauf wird, in Ergänzung zum Kontrollstreifen des Generators, auf einem separaten Sterilisationsprotokoll dokumentiert.

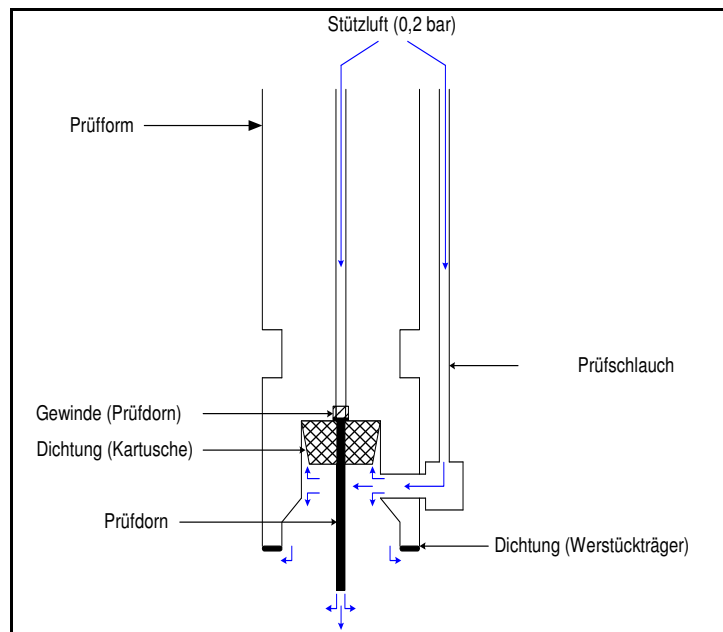


Abb. 5-9 Austritt der Stützluft im Bereich der Prüfform der Volumenkontrollstation.

5.7 Der Entwicklungsisolator der Fa. Skan

Der Entwicklungsisolator (Skan AG, Allschwill; siehe Abb. 5-10) besitzt ein Volumen von $1,4 \text{ m}^3$ und ist mit einem Skan Integrated Sterilization System (SIS) 700 (siehe Kap. 5.7.1) ausgerüstet.

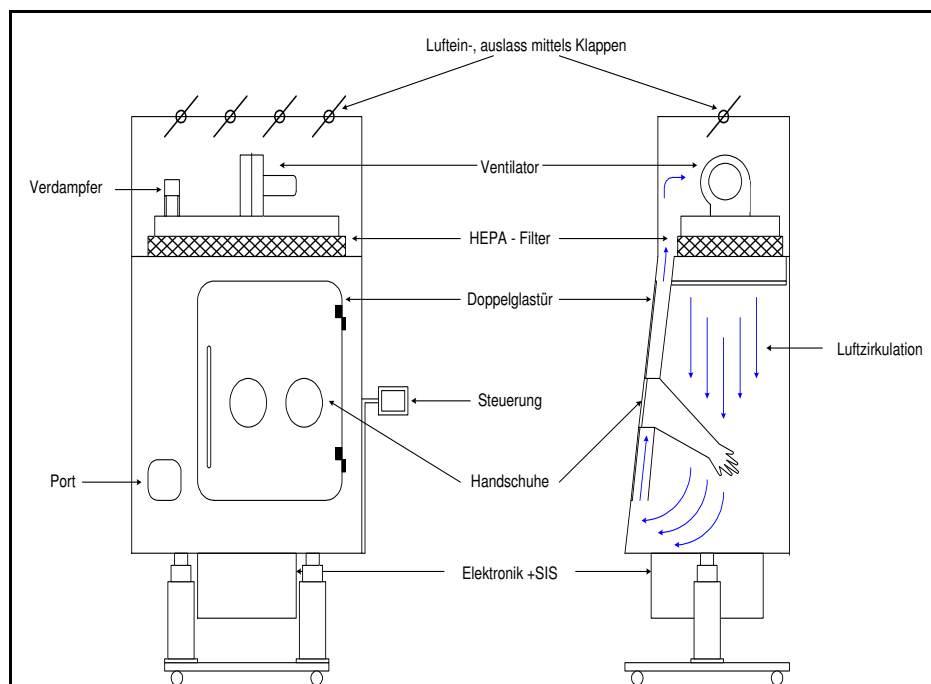


Abb. 5-10 Flussdiagramm des Entwicklungsisolators der Fa. Skan AG.

Der Korpus des Isolators besteht aus Edelstahl. In die aufklappbare Doppelglastür wurde ein einfaches Handschuhsystem integriert. Über den in die Frontseite des Isolators eingearbeiteten Port können Materialien ein- bzw. ausgeschleust werden. Alle Funktionen des Isolators werden über eine zentrale Steuereinheit bedient.

Innerhalb des Isolators herrscht eine vertikal gerichtete laminare Luftströmung vor. Der Ventilator drückt die Luft zunächst durch einen HEPA - Filter von oben in die Isolator-kammer. Anschließend wird die Luft zwischen den Wänden der Doppelglastür zurücktransportiert und erneut dem Ventilator zugeführt. Der resultierende Luftstrom zirkuliert mit einer Geschwindigkeit von durchschnittlich 0,25 m/s. Um gegebenenfalls Luft mit der Umgebung austauschen zu können wird ein, in die Isolatordecke eingelassenes Klappensystem eingesetzt. Je nach dessen Stellung kann Frischluft angesaugt oder Luft aus dem Isolator abgeführt werden.

5.7.1 Das integrierte Sterilisationssystem SIS 700 der Fa. Skan

Die SIS 700 Einheit (Skan AG, Allschwill; siehe Abb. 5-11) dient der Sterilisation der inneren Oberflächen des Isolators. Sie besteht aus H_2O_2 -Reservoir und Verdampfer. Beide Funktionseinheiten können in beliebiger Entfernung zueinander positioniert werden. Verdampft wird oberhalb der HEPA - Filter, um eine optimale Verteilung des Gases innerhalb der Isolator-kammer zu erzielen. Die Dosierung erfolgt wie beim AMSCO VHP 1001 Generator über das Gewicht. Zusätzlich wird die Tropfrate unmittelbar vor der Verdampferplatte mittels Tropfenzähler kontrolliert. Zur weiteren Überwachung des Sterilisationsprozesses werden neben der relativen Feuchte und der Temperatur auch die Wasserstoffperoxid - Konzentration und die Strömungsgeschwindigkeit aufgezeichnet. Auch bei diesem System besteht der Sterilisationszyklus aus den Phasen Trocken, Anreichern, Sterilisieren und Belüften.

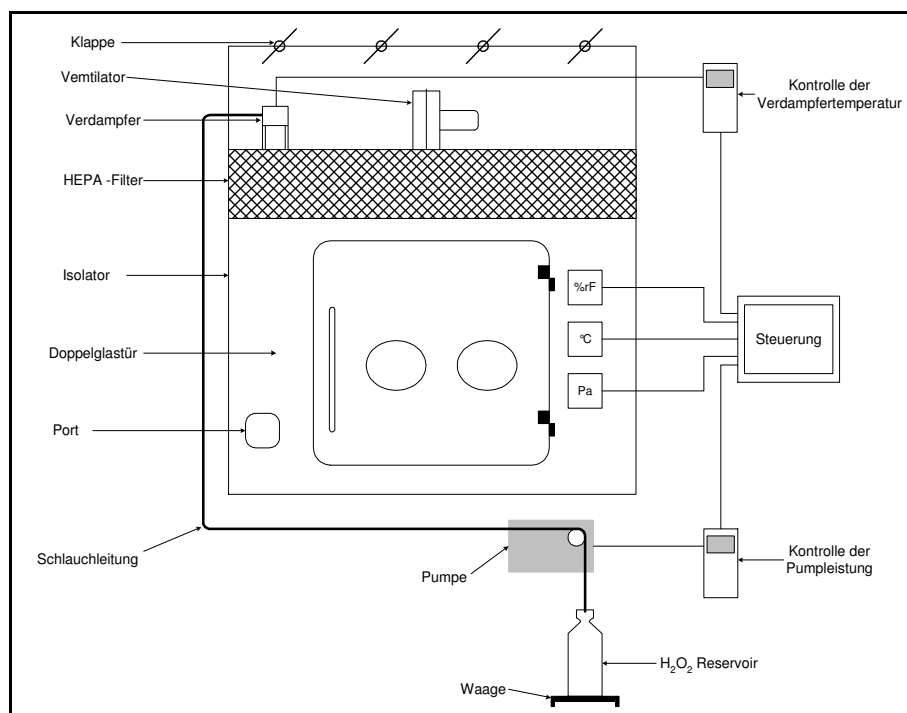


Abb. 5-11 Flussdiagramm des Sterilisationssystems SIS 700 der Fa. Skan AG.

5.8 Übersicht der in den Versuchen eingesetzten Sensoren

An den beiden Modellen und dem Sterilisationsmodul der DDC - Anlage kommen verschiedene Sensoren zum Einsatz. Die Tab. 5-2 gibt einen Überblick, in welchem Zusammenhang die Sensoren verwendet werden.

Tab. 5-2 Übersicht der im Rahmen der Versuche an den verschiedenen Sterilisationseinrichtungen eingesetzten Sensoren.

Sensortyp	Sensorbezeichnung	Schlauchmodell	Erweitertes Testmodell	DDC-Anlage
Druck	PAE5	✓	-	✓
Durchfluss	DFM	-	✓	✓
Feuchte	Dewpro MMR 31	✓	✓	✓
	M4 Hygrometer	-	✓	-
Temperatur	Thermoelement Typ T	-	✓	✓
	Thermoelement Typ K	-	✓	✓
Wasserstoffperoxid	Wasserstoffperoxidsensor	-	✓	✓
	Prüfröhrchen 0,1/a	-	✓	✓
	Chemie VHP Short Strips	-	✓	-

✓ = eingesetzt, - = nicht eingesetzt

5.8.1 Drucksensor vom Typ PEAS

Zur Erfassung von Druckänderungen im Leitungssystem wird der Drucksensor PEAS (Technetics, Freiburg) eingesetzt. Der Messbereich des Edelstahlsensors liegt zwischen 0 und 5 bar Absolutdruck, bei einer Linearität von 0,2%. Als Messzelle dient eine Silizium-Brückenschaltung mit Konstantstromspeisung, die über ein Ölpolster und eine Stahlmembran vor dem Messmedium geschützt wird. Die Signalaufbereitungsschaltung ist über einen Bereich von -40°C bis 100°C temperaturkompensiert [88].

5.8.2 Digitaler Durchflussmesser Modell DFM

Der digitale Durchflussmesser Modell DFM (Erweka GmbH, Düsseldorf) eignet sich für Durchflussmengen im Bereich von 20 bis 120 l/min [89]. Die Durchflussrate wird indirekt über ein Flügelrad, das durch die Luftströmung in Drehung versetzt wird, ermittelt.

5.8.3 Sensoren zur Bestimmung der relativen Feuchte

Zur Bestimmung der relativen Feuchte wird mit drei verschiedenen Sensoren gearbeitet, die auf unterschiedlichen Messprinzipien basieren. Der Sensor Dewpro MMR 31 (siehe Kap. 5.8.3.1) arbeitet nach dem kapazitiven Verfahren. Bei dieser Form der Feuchtemessung besteht die Messzelle aus einem feuchtesensitiven Kondensator. Dieser setzt sich aus zwei flachen Elektroden zusammen, zwischen denen sich eine elektrisch isolierende, hygroskopische Kunststoffschicht (Dielektrikum) befindet. Die Kunststoffschicht, zumeist Zelluloseacetat oder Polyamid, adsorbiert das in der Luft befindliche Wasser. Mit steigender Luftfeuchtigkeit erhöht sich die Menge an adsorbiertem Wasser. Es resultiert ein Anstieg der Dielektrizitätskonstanten (ϵ) und folglich der Kapazität (C) des Kondensators. Folgender Zusammenhang liegt zu Grunde:

$$(9) \quad C = \epsilon \cdot \frac{A}{d_{\text{elek}}}$$

C = Kapazität

ϵ = Dielektrizitätskonstante

A = Elektrodenfläche

d_{elek} = Abstand der Elektroden zueinander

Form. 5-1 Formel zur Berechnung der Kapazität [90].

Beim Hygrometer Model M4 (siehe Kap. 5.8.3.2) handelt es sich um ein so genanntes Tauspiegelhygrometer. Dieses System nutzt die Kondensation von Wasserdampf bei Taupunktunterschreitung zur Berechnung der relativen Feuchte. Hierzu wird die Temperatur einer verspiegelten Fläche mittels eines Peltierelements, so weit abgekühlt, bis diese gerade anfängt zu beschlagen (siehe Abb. 5-12). Die in diesem Moment über ein PT100 Widerstandsthermometer gemessene Temperatur entspricht der Taupunkttemperatur. Aus dieser lässt sich über den Sättigungsdruck und die Temperatur der Luft die relative Luftfeuchte berechnen. Diese entspricht auf Grund der Dampfdruckkurve des Wassers einem absoluten Wassergehaltswert der gemessenen Luft. Um Verunreinigungen auf der Spiegeloberfläche zu vermeiden, wird diese in Intervallen zunächst abgekühlt und anschließend wieder erwärmt. Die Erkennung der Kondensation erfolgt anhand einer Leuchtdiode gepaart mit einem Photodetektor (siehe Abb. 5-12).

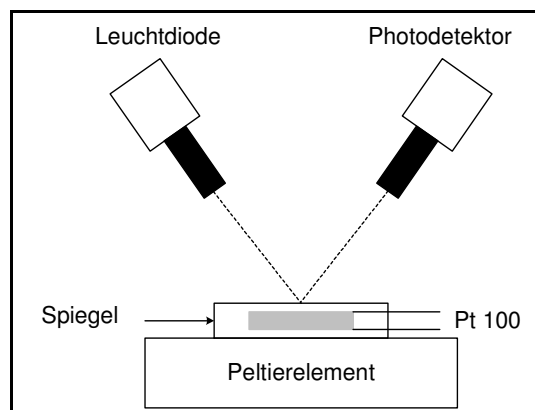


Abb. 5-12 Funktionsschema der Messzelle eines Tauspiegelhygrometers.

5.8.3.1 Kapazitiver Feuchtesensor vom Typ Dewpro MMR 31

Der Dewpro MMR 31 (General Eastern, Haan) ist ein kombinierter Temperatur-, Feuchtesensor mit einer kapazitiv arbeitenden Messzelle (siehe Kap.5.8.3.). Als Dielektrikum kommt ein Polymer auf Siliconbasis zum Einsatz. Der Messbereich für die relative Feuchte liegt zwischen 0 und 100 %, bei einer Genauigkeit von $\pm 2\%$. Die Temperatur kann in einem Intervall von -15 bis $+85^\circ\text{C}$ erfasst werden. Hier liegt die Genauigkeit bei $\pm 1^\circ\text{C}$. Der Sensor kann bis zu einem Umgebungsdruck von 17 bar eingesetzt werden. Aufgrund seiner gefritteten Schutzkappe ist der Messfühler für den Einsatz in aggressiven Medien geeignet [91].

5.8.3.2 Taupunktspiegelhygrometer Model M4 / Sensor SIM-12H

Das Hygrometer Model M4 (General Eastern, Haan) ist ein Tauspiegelhygrometer (siehe Kap. 5.8.3). Ausgerüstet mit dem Taupunktsensor SIM-12H (General Eastern, Haan) und einem zusätzlichen Temperaturfühler kann die relative Feuchte unmittelbar erfasst werden. Der Messbereich für den Taupunkt liegt zwischen -10 und $+75^\circ\text{C}$, bei einer Genauigkeit von $\pm 0,2^\circ\text{C}$. Die relative Feuchte kann zwischen 0 und 100% mit einer Genauigkeit von $\pm 1\%$ berechnet werden. Die Spiegeloberfläche der Messzelle besteht aus plattiertem Rhodium. Im Gegensatz zu den beiden anderen Feuchtesensoren wird das Hygrometer nicht direkt im Leitungssystem positioniert. Über eine separate Vakuumpumpe wird Luft aus dem zu überwachenden Messvolumen entnommen (Flussrate 0,25 – 2,5 l/min) und über die Messzelle transportiert [92].

5.8.4 Funktionsweise der Thermoelemente

Zur Aufzeichnung von Temperaturprofilen werden Thermoelemente vom Typ T und K eingesetzt.

Das Messprinzip des Thermoelements beruht auf dem Effekt, dass an den Enden zweier Drähte aus verschiedenen Werkstoffen in dem Moment eine Spannung entsteht, an dem Temperatur an der Verbindungsstelle der beiden Werkstoffe eine andere ist als die an den Klemmen des Messgerätes. In der Praxis werden diese so genannten Thermoleitungen mit Kupferleitungen, als Vergleichsstelle verbunden (siehe Abb. 5-13). Die an der Vergleichsstelle gemessene Thermospannung ist direkt proportional zur Temperaturdifferenz zwischen Messstelle und Vergleichsstelle.

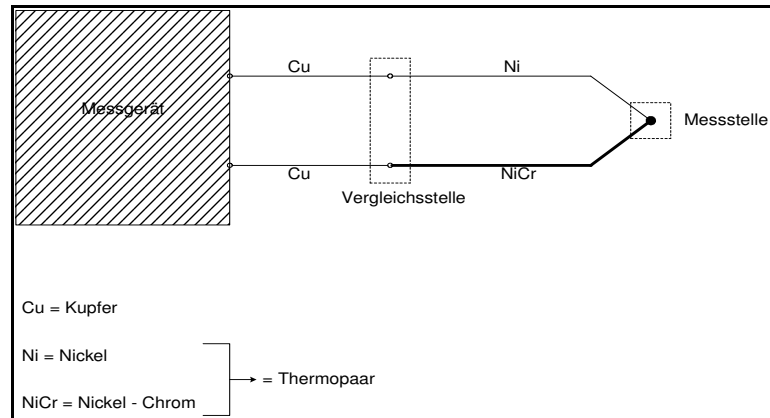


Abb. 5-13 Funktionsschema eines Thermoelements vom Typ K.

5.8.4.1 Thermoelemente vom Typ T Premium

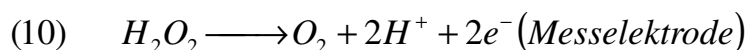
Das Thermopaar beim flexiblen Thermoelement vom Typ T Premium (Kaye Instruments GmbH, Pforzheim) besteht aus Kupfer (Cu) und Konstantan, einem Gemisch aus 57% Kupfer, 41% Nickel (Ni), 1% Eisen (Fe) und 1% Mangan (Mn) [93]. Die Fühler sind auf einen Messbereich von 10 bis 50 °C mit einer Genauigkeit von $\pm 1^\circ\text{C}$ kalibriert [94,95].

5.8.4.2 Thermoelemente vom Typ K

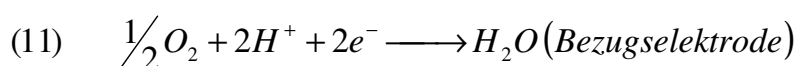
Das Thermoelement vom Typ K (Testo AG, Lenzkirch) basiert auf dem Thermopaar Nickel - Chrom (NiCr; 85 % Nickel - 15 % Chrom) und Nickel. Als gefederter Stab ausgelegt, wird die Sonde mit einem Testo 950 Handmessgerät (Testo AG, Lenzkirch) ausgewertet. Der Messbereich der Sonde ist mit -200 bis 300°C spezifiziert. Die Genauigkeit liegt bei $\pm 1^\circ\text{C}$ [96].

5.8.5 Elektrochemischer Wasserstoffperoxidsensor vom Typ HC der Fa. Dräger

Der verwendete stationäre Wasserstoffperoxidsensor HC (Dräger, Lübeck) eignet sich für den Messbereich 0 – 7000 ppm. Das Messprinzip der Sonde basiert auf Diffusion der zu überwachenden Umgebungsluft durch eine Kunststoffmembran in die Elektrolytlösung im Inneren des Sensors. Dort fließt zwischen der Mess- und der Bezugselektrode ein Strom, der bei konstanter Spannung maßgeblich von der H_2O_2 - Konzentration bestimmt wird und nach Verstärkung gemessen werden kann (siehe Abb. 5-14). Folgende elektrochemische Reaktionen vollziehen sich an der Mess- bzw. Bezugselektrode:



Form. 5-2 Oxidationsreaktion an der Messelektrode.



Form. 5-3 Reduktionsreaktion an der Bezugselektrode.

Auf Grund der Temperaturabhängigkeit der elektrochemischen Reaktion wird der gemessene Strom entsprechend der im Elektrolyten vorherrschenden Temperatur korrigiert. Die Auswertung des Sensors erfolgt über den Polytron 2 Transmitter.

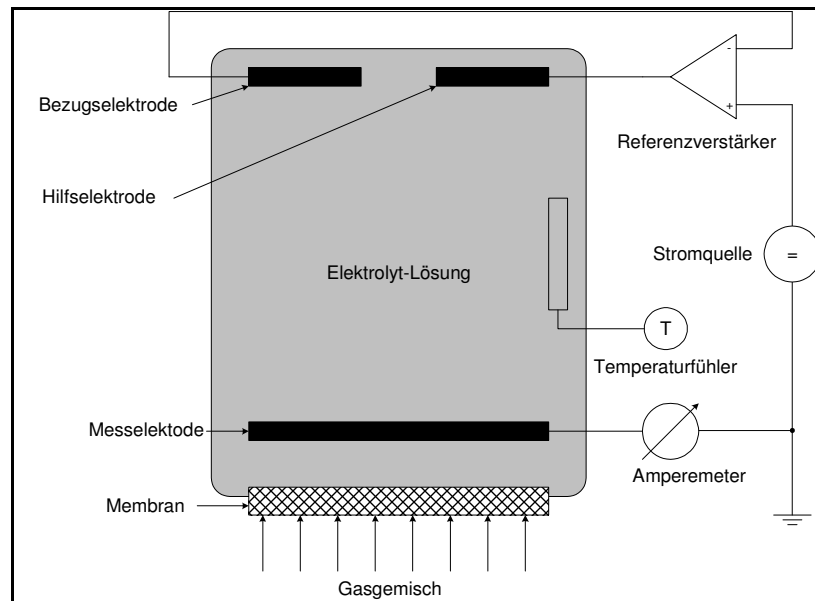


Abb. 5-14 Fließschema des Wasserstoffperoxidsensors der Fa. Dräger.

5.8.6 Wasserstoffperoxid – Glasprüfröhrchen der Fa. Dräger

Die Wasserstoffperoxid – Prüfröhrchen (Dräger Lübeck; siehe Abb. 5-15) stellen eine einfache Methode zur Erfassung von H_2O_2 in der Luft oder technischen Gasen dar. Mittels einer Handpumpe wird eine definierte Gasmenge (20 Hübe) in Pfeilrichtung durch das mit Kaiumiodid – Granulat gefüllte Prüfröhrchen gesaugt.

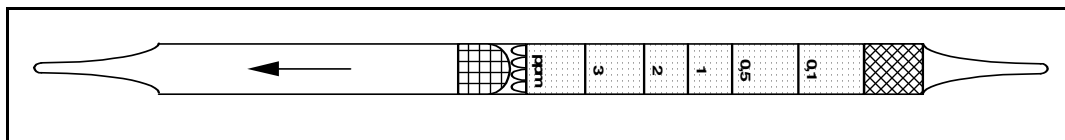
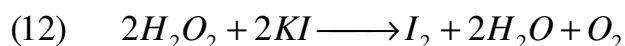


Abb. 5-15 Schematische Darstellung eines Wasserstoffperoxid – Gasprüfröhrchens der Fa. Dräger.

Bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxid verfärbt sich die weiße Anzeigeschicht braun. Anhand der Ausdehnung des Farbumschlages kann dann die vorherrschende H_2O_2 – Konzentration abgelesen werden. Der Messbereich liegt zwischen 0 und 3 ppm.

Folgende Reaktion liegt dem Farbumschlag zu Grunde:



Form. 5-4 Farbumschlagsreaktion beim Wasserstoffperoxid – Gasprüfröhrchen der Fa. Dräger.

5.8.7 Chemoindikatoren VHP – Short – Strips

Bei den VHP – Short – Strips (Steris GmbH, Hürth) handelt es sich um Chemoindikatoren, die mittels Farbumschlag die Anwesenheit von Wasserstoffperoxid anzeigen. Sie bestehen aus einem 5 x 1,5 cm langen Streifen mit einem endständigen gelben Farbfeld. Dieses färbt sich bei Kontakt mit Wasserstoffperoxid violett. Eine quantitative Aussage ist mit den Chemoindikatoren nicht möglich.

5.9 Eingesetzte Bioindikatoren

5.9.1.1 Biological Indicator for gaseous hydrogen peroxide der Fa. Apex

Der Biological Indicator for gaseous hydrogen peroxide (Apex Laboratories, Apex) wurde eigens zur mikrobiologischen Beurteilung von Sterilisationsprozessen auf Basis von gasförmigem Wasserstoffperoxid entwickelt. Die Sporensuspension wird auf einem Metallplättchen hitzefixiert (siehe Abb. 5-16). Die Schutzhülle des Bioindikators besteht aus gasdurchlässigem Tyvek®. Als Testkeim findet der von der American Type Culture Collection (ATCC) klassifizierte *Bacillus stearothermophilus* Stamm 12980 Verwendung.

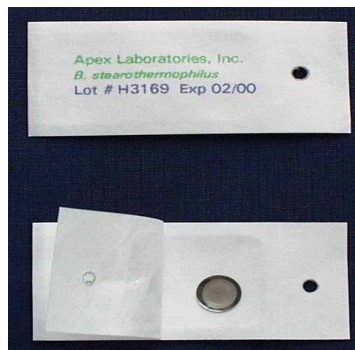


Abb. 5-16 Fotografie des Biological Indicator for gaseous hydrogen peroxide (Apex Laboratories).

Der Hersteller ermittelt für jede Bioindikator – Charge einen eigenen D-Wert bei einer H₂O₂ – Konzentration von 2 mg/l. Tab. 5-3 gibt eine Übersicht über die bei den Versuchen verwendeten Chargen.

Tab. 5-3 Kenndaten der eingesetzten Bioindikator-Chargen.

Charge	Ausgangskeimzahl [KBE ^a]	D-Wert [min]
H0610	3,4 x 10 ⁶	1,7
H1071	2,4 x 10 ⁶	1,4
H2350	3,5 x 10 ⁶	1,5
H3530	2,2 x 10 ⁶	1,2

^a KBE = Koloniebildende Einheiten

5.9.1.2 *Bacillus stearothermophilus* Sporensuspension der Fa. Raven

Zur Direktbeimpfung von Schlauchmaterialien aus der DDC - Anlage wird die Sporensuspension *Bacillus stearothermophilus* Spore Suspension (Raven Biological Laboratories, Omaha) verwendet. Diese besteht aus *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 Sporen dispergiert in einer 40% ethanolischen Lösung. Verwendet wurde die Charge 359S, mit einer Ausgangskeimzahl von 3,0 x 10⁸ KBE/ml. Der D-Wert, ermittelt für die Dampfsterilisation bei 121 °C, beträgt 1 min.

5.9.2 Nährmedium für die Wachstumskontrolle

Im Anschluss an die Beaufschlagung mit gasförmigem Wasserstoffperoxid, werden die Bioindikatoren mit flüssiger CASO - Bouillon (Heipha Dr. Müller GmbH, Eppelheim) auf Wachstum geprüft. Dieses besteht aus Caseinpepton, Sojamehlpepton, Glucose, K₂HPO₄ und NaCl und ist auf einen pH-Wert von 7,3 eingestellt.

Abgefüllt in Röhrchen, besitzt das Nährmedium gute wachstumsfördernde Eigenschaften für *Bacillus stearothermophilus* Teststämme und entspricht in seiner Zusammensetzung den Empfehlungen der europäischen und amerikanischen Pharmakopöe [97,98]. Nicht abgetötete Sporen führen zu einer deutlichen Trübung der Nährlösung.

5.9.3 30%ige Wasserstoffperoxid – Lösung

In allen Versuchen wird eine 30 % wässrige Wasserstoffperoxid – Lösung (Merck, Darmstadt) verwendet. Diese wird durch geeignete Zusätze ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ und H_3PO_4) stabilisiert und entspricht den Anforderungen des Europäischen Arzneibuches [99].

5.9.4 Photometrische H_2O_2 – Konzentrationsbestimmung

Für die photometrische Konzentrationsbestimmung werden die in Tab. 5-4 aufgelisteten Substanzen eingesetzt:

Tab. 5-4 Substanzen für die photometrische H_2O_2 Konzentrationsbestimmung.

Substanz	Summenformel
Ammonium – Eisen(II) – Sulfat	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$
Xylenolorange (Tetra – Natriumsalz)	$\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{Na}_4\text{S}^a$
Konzentrierte Schwefelsäure (96,5 %)	H_2SO_4
Destilliertes Wasser	H_2O

^a Strukturformel siehe Abb. 5-17

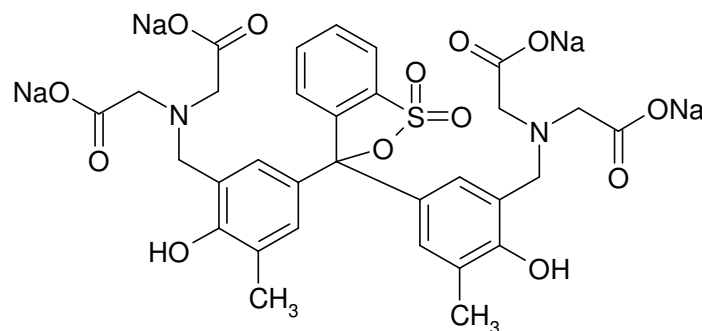


Abb. 5-17 Struktur des Xylenolorange - Moleküls [100].

6 Ethylenoxid - Sterilisation

6.1 Komponenten des Respimat® – Primärpackmittels

Das Respimat® - Primärpackmittel (Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & KG, Ingelheim), konzipiert zur Aufnahme verschiedener Inhalationslösungen auf wässriger Basis, setzt sich aus zwei getrennt voneinander hergestellten Kunststoffbauteilen zusammen. Ein Bauteil ist der Kunststoffbehälter (siehe Kap. 6.1.1). Dieser wird unter aseptischen Bedingungen geblasen, durch die DDC – Anlage aufbereitet (siehe Kap. 5.1) und anschließend mit Arzneistofflösung befüllt. Im nächsten Schritt wird dann das zweite Bauteil, der Kunststoffverschluss (siehe Kap. 6.1.2), auf den Behälter aufgedrückt und auf diese Weise die Inhalationslösung dicht verschlossen (siehe Abb. 6-1).

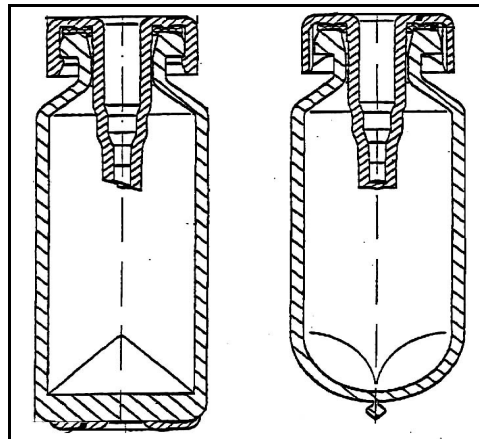


Abb. 6-1 Schnittdarstellung des Respimat – Primärpackmittels bestehend aus Kunststoffbehälter und Kunststoffverschluss.

6.1.1 Der Kunststoffbehälter

Der Kunststoffbehälter wurde als so genanntes Doppelbehältersystem konzipiert. Der formgebende Außenbehälter besteht aus Polypropylen (PP). Der innere Behälter ist kollabierbar ausgelegt und wird aus Polyethylen (PE) gefertigt. Der Kunststoffbehälter wird in einem Co-Extrusionsblasprozess hergestellt. Dabei werden die beiden Kunststoffgranulate zeitgleich geschmolzen und in einem Doppelstrang vereint. Dieser läuft dann in die zugehörige Matrize ein, wird abgeschnitten und mittels steriler Blasluft in seine endgültige Form gebracht. Nach der Herstellung liegen Außen- und Innenbehälter eng aneinander an.

6.1.2 Der Kunststoffverschluss

Der Kunststoffverschluss setzt sich aus zwei Einzelkomponenten zusammen. Der eigentliche Verschluss besteht analog dem Kunststoffbehälter aus Polypropylen. In diese Grundform wird dann eine Dichtung eingebettet. Es handelt sich dabei um einen Ring aus Silikon, der das Primärpackmittel zwischen Behälterkragen und Verschluss abdichtet. Verschluss und Dichtung werden getrennt voneinander gefertigt und anschließend maschinell montiert.

6.2 Die verwendeten ETO – Sterilisationskammern

6.2.1 ETO - Sterilisationskammern K1, K2 und S05 der Fa. Rose

Drei im Volumen unterschiedliche Sterilisationskammern (Rose GmbH, Trier) werden im Rahmen der Zyklusentwicklung genutzt.

Tab. 6-1 Übersicht der im Rahmen der Versuche eingesetzten Sterilisationskammern.

Sterilisationskammer	Verfahren	Nutzbare Kammervolumen
K1	Unterdruck	28 m ³ (= 14 Europaletten)
K2	Unterdruck	36 m ³ (= 18 Europaletten)
S05	Unterdruck	8 m ³ (= 8 Europaletten)

Bei den Sterilisierkammern K1 und K2 wird als sterilisierendes Agens ein Gemisch aus Ethylenoxid und Stickstoff im Verhältnis 40 zu 60 (V/V) verwendet. Beim Sterilisator S05 wird mit reinem Ethylenoxid gearbeitet.

Während des Sterilisationsprozesses werden neben der eingebrachten Ethylenoxidmenge, die Temperatur, der Kammerdruck und die relative Feuchte aufgezeichnet. Für die Vor- und Nachkonditionierung werden bei der Fa. Rose separate Kammersysteme eingesetzt. Die Desorption der Ware erfolgt in abgetrennten Lagerräumen unter kontrollierten Bedingungen.

6.2.2 ETO - Sterilisationskammer 2K0669 der Fa. IBA

Die Kammer 2K0669 (IBA S&I GmbH, Mörfelden – Walldorf) hat ein nutzbares Kammervolumen von 17 m³ (entspricht 10 Europaletten). Sterilisiert wird mit reinem Ethylenoxid im Unterdruckverfahren.

6.3 Dampfsterilisator der Fa. Sauter

Der Dampfsterilisator Modell 6-6-9 VS2 (Sauter AG, Sulgen) verfügt über einen Nutzraum von 445 l und arbeitet nach dem fraktionierten Vakuumverfahren [101]. Temperatur- und Druckverlauf werden während der Sterilisation, mittels eines analogen Datenschreibers automatisch aufgezeichnet. Der Autoklav dient der Sterilisation von hitzebeständigen Materialien, die in den Reinraum des Respimat[®] – Herstellbetriebes eingeschleust werden sollen.

6.4 Der H₂O₂ – Plasmasterilisator vom Typ GMP 100S

Der Sterrad 100S Plasmasterilisator (Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt) ist eine mobile Einheit, entwickelt zur Sterilisation von medizinischen Gerätschaften und Materialien unter Anwendung von Wasserstoffperoxidgas – Plasma im niedrigen Temperaturbereich [102, 103]. Er verfügt über eine zylindrische Sterilisationskammer mit einem nutzbaren Volumen von 0,098 m³ [104]. Das zu sterilisierende Material wird in Tyvek[®] – Sterilbeutel verpackt und in der Kammer auf zwei Einschubhorden verteilt. Ein Sterilisationszyklus dauert ca. 55 min. und setzt sich aus verschiedenen Phasen zusammen [105]. Zunächst wird die Sterilisierkammer evakuiert (Evakuierungsphase). Anschließend wird eine 58%ige wässrige Wasserstoffperoxidlösung in die Kammer eingespritzt (Injektionsphase). Aufgrund des anliegenden Vakuums geht das Wasserstoffperoxid in die Gasphase über und verteilt sich gleichmäßig auf dem zu sterilisierenden Gut (Diffusionsphase). Durch Anlegen eines Hochfrequenzfeldes wird dann im Kammerinneren das Plasma generiert. Dabei zerfällt das Wasserstoffperoxid in die hochreaktiven Hydroperoxi- und Hydroxylradikale. Diese Radikale sind mikrobizid wirksam. Plasma ist neben dem festen, flüssigen und gasförmigen Zustand als der vierte Aggregatzustand definiert (Plasmaphase). Im letzten Schritt wird die Kammer bis zum Druckausgleich belüftet, erneut evakuiert und wieder belüftet (Belüftungsphase).

6.5 Behälterbestrahlungsanlage JS 8500

Bei der vollautomatischen Cobalt (Co) – 60 – Behälterbestrahlungsanlage vom Typ JS 8500 (Noridon International Inc, Vancouver; siehe Abb. 6-2) wird das zu sterilisierende Gut verpackt in Kartons oder Aluminiumcontainer mittels Transportbändern gezielt an der Strahlungsquelle vorbei geführt [106]. Während des Transports nehmen die Bestrahlungseinheiten 74 verschiedene Positionen zur Strahlungsquelle ein. An einigen Positionen wird das Gut bis auf 10 cm an die Strahlungsquelle herangeführt. Sämtliche Bewegungen der Bestrahlungseinheiten werden überwacht und dokumentiert. Die Gesamtverweilzeit der Bestrahlungseinheiten im Strahlungsfeld beträgt ca. 5 Stunden. Die Strahlungsquelle selbst ist zugelassen für eine maximale Beladung von bis zu zwei Millionen Curie und hat eine Abmessung von 255 x 99 cm [107].

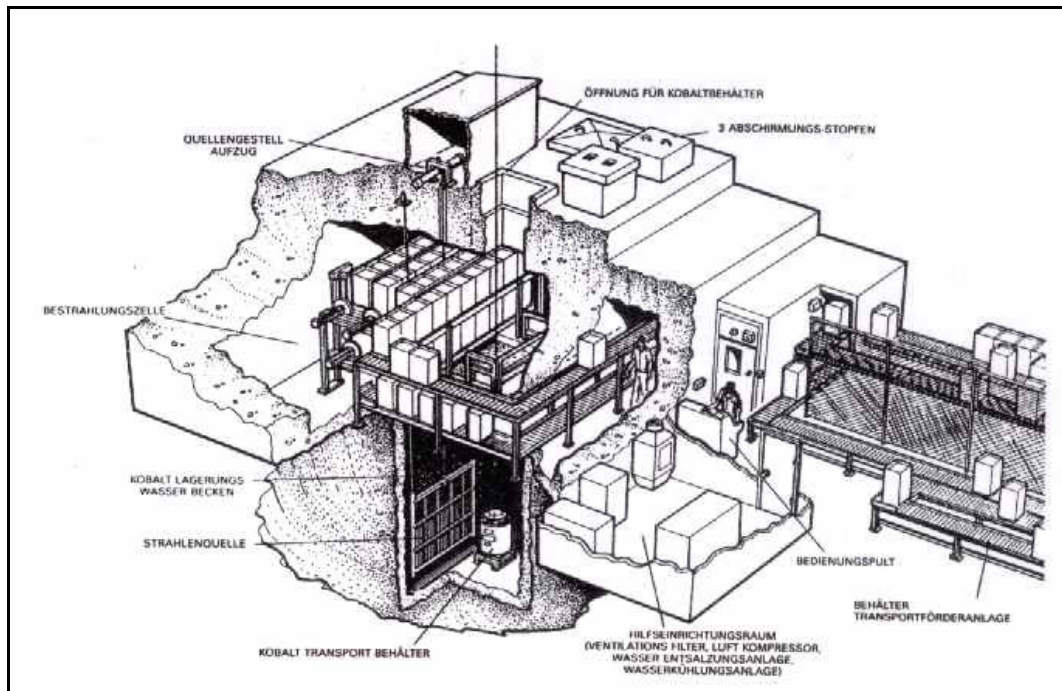


Abb. 6-2 Schema der Behälterbestrahlungsanlage JS 8500 [108].

6.6 Datenlogger zur Aufzeichnung der relativen Feuchte

Der Feuchte – Datenlogger EBI-2TH-611-Ex (ebro Elektronik GmbH & Co KG, Ingolstadt) ist für einen Messbereich von -40 bis +75°C und 0 bis 100% relative Feuchte ausgelegt. Die Messgenauigkeit liegt bei $\pm 0,3$ °C bzw. $\pm 2\%$ relative Feuchte. Die Temperaturmessung erfolgt über ein PT100 Widerstandsthermometer, die relative Feuchte wird mittels eines kapazitiven Sensors erfasst (siehe Kap.5.8.3). Der Datenlogger wurde für Messungen in explosionsgefährdeten Bereich konzipiert. Programmierung und Auswertung des Datenloggers erfolgt mit der Software Winlog 2000[®]

6.7 Eingesetzte Bioindikatoren

Gemäß den Vorgaben der europäischen und amerikanischen Pharmakopöe, wird mit Bioindikatoren (siehe Kap. 5.9) auf Basis des Sporenbildners *Bacillus subtilis* gearbeitet.

6.7.1 Spordex[®] (*Bacillus subtilis*) Biological Indicator der Fa. Steris

Beim Spordex[®] – Bioindikator (Steris GmbH, Hürth) handelt es sich um einen Sporenstreifen mit *Bacillus subtilis* var. niger, NRRL# B4418 als Testkeim. Der Bioindikator ist zugelassen zur Bewertung bzw. Überwachung von Ethylenoxid- und Heißluftsterilisationsprozessen. Eingesetzt werden Bioindikatoren mit einer Ausgangskeimzahl von 10^6 Keimen pro Trägerstreifen.

Tab. 6-2 Kenndaten der eingesetzten Bioindikator-Chargen.

Charge	Ausgangskeimzahl [KBE] ^a
2091	$1,9 \times 10^6$
0136A	$2,1 \times 10^6$
0143A	$1,4 \times 10^6$

^a Ermittelt durch die Gesellschaft für Produktionshygiene und Sterilitätssicherung mbH (Aachen, Deutschland)

6.7.2 Biological Indicators (Spore Threads) der Fa. Raven

Bei den Spore Threads (Raven Biological Laboratories, Omaha) handelt es sich um beimpfte Baumwollfäden. Testkeim ist *Bacillus subtilis* ATCC #9372. Eingesetzt wird die Charge 1T61983 mit einer Ausgangspopulation von 10^6 Keimen pro Trägerfaden. Auch dieser Bioindikatortyp ist für das mikrobiologischen Monitoring der Ethylenoxid- bzw. Heißluftsterilisation zugelassen.

6.8 Messapparaturen zur Bestimmung der Kragenhöhe und der Schichtdicke

Zur Bestimmung der Kragenhöhe und der Inliner – Schichtdicke des Kunststoffbehälters werden zwei verschiedene Messaufbauten eingesetzt. Diese basieren auf der Solvay Messuhr CO MFPM 25 (Solvay, Crisser) und werden im Rahmen der Behälterproduktion zur IPC – Prüfung eingesetzt. In beiden Kontrolleinrichtungen ist die Messuhr höhenverstellbar angebracht und die gesamte Einheit ruht auf einem massiven Marmorblock. Während die Messeinheit zur Bestimmung der Kragenhöhe (siehe Abb. 6-3) über einen Aufbau zur Behälterfixierung verfügt, ist die Messeinheit zur Erfassung der Schichtdicke mit einem schmalen Block aus rostfreiem Stahl versehen, über den der Inliner gespannt werden kann. Mittels eines elektronischen Fußtasters können die Messwerte direkt von den Messuhren in ein elektronisches Datenblatt übertragen werden. Die Auswertung der Datenblätter ermöglicht eine statistische Prozesskontrolle (SPC) der Behälterherstellung.



Abb. 6-3 Fotografie der Messeinheit zur Bestimmung der Kragenhöhe.



Abb. 6-4 Fotografie der Messeinheit zur Bestimmung der Schichtdicke.

6.9 Druck – Zug – Prüfmaschine zur Bestimmung der Schließkräfte

Der Erichsen LRX 2K5 Messroboter (Erichsen GmbH & Co KG, Hemer; siehe Abb. 6-5) dient der Simulation und Erfassung von Kräften, die während der Abfüllung bzw. der späteren Anwendung durch den Patienten auf den Kunststoffverschluss und den Kunststoffbehälter einwirken. Die Druck – Zug – Prüfmaschine wurde eigens zu diesem Zweck von der Erichsen GmbH & Co KG in Zusammenarbeit mit der Abteilung Drug Delivery der Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG entwickelt. Der Messroboter zeichnet Schließkraft (Aufdrücken des Verschlusses auf den Behälter), axiale Steifigkeit des Behälters und Durchstechkraft (Durchstechen des Kunststoffverschlusses mittels Kanüle) an Hand von Kraft – Weg – Diagrammen auf. Die Daten können in ein Tabellenkalkulationsprogramm exportiert und anschließend bewertet werden.



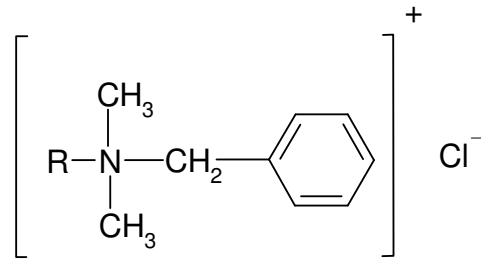
Abb. 6-5 Fotografie der Druck – Zug – Prüfmaschine Erichsen LRX 2K5.

6.10 Inhalationslösungen zur Anwendung in Verbindung mit dem RespiMat - Device

Bei den Inhalationslösungen handelt sich ausnahmslos um wässrige Zubereitungen, die mittels Benzalkoniumchlorid (siehe Abb. 6-6) konserviert werden. Die pH – Wert – Einstellung erfolgt mit 1 N Salzsäure (HCl). Zum Zweck der Stabilisierung wird allen Lösungen Natriumedetat (EDTA) zugesetzt [109, 110, 111]. Die drei Verumlösungen enthalten Arzneistoffe, die zur Behandlung von Asthma bronchiale und der chronisch obstruktiven Bronchitis (Chronic Obstructive Pulmonary Disease = COPD) eingesetzt werden [112].

Tab. 6-3 Übersicht der in den untersuchten Inhalationslösungen enthaltenen Wirkstoffe.

Inhalations- lösung	Wirkstoff	Konzentration [mg/ml]	Wirkstoffklasse	Abbildung
A	Ipratropiumbromid (Monohydrat)	1,79	m – Cholinozeptor – Antagonist	Abb. 6-7
	Fenoterol (Hydrobromid)	4,46	β_2 – Adrenozeptor – Agonist	
B	Ipratropiumbromid (Monohydrat)	3,51	m – Cholinozeptor – Antagonist	Abb. 6-7
	Salbutamolsulfat	17,54	β_2 – Adrenozeptor – Agonist	Abb. 6-8
C	Tiotropiumbromid (Monohydrat)	0,45	m – Cholinozeptor – Antagonist	Abb. 6-8



R = C₈H₁₇ bis C₁₈H₃₇

Abb. 6-6 Benzalkoniumchlorid.

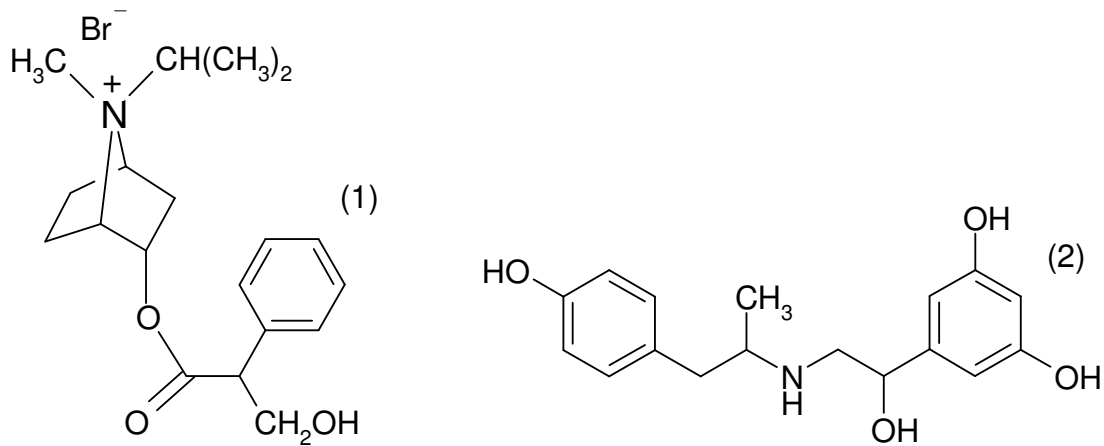


Abb. 6-7 Ipratropiumbromid (1) und Fenoterol (2).

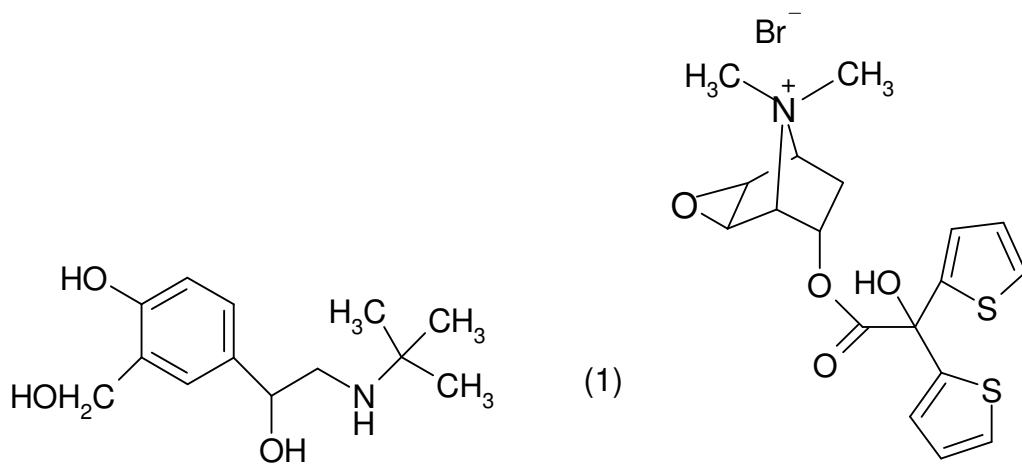


Abb. 6-8 Salbutamol (1) und Tiotropiumbromid (2).

Methoden

7 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)

7.1 Positionierung des Drucksensors

Während der Sterilisation werden Druckmessungen am Schlauchmodell, am erweiterten Testmodell und am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage durchgeführt. Die Integration des Drucksensors in das Leitungssystem erfolgt über ein T – Stück (siehe Abb. 7-1).

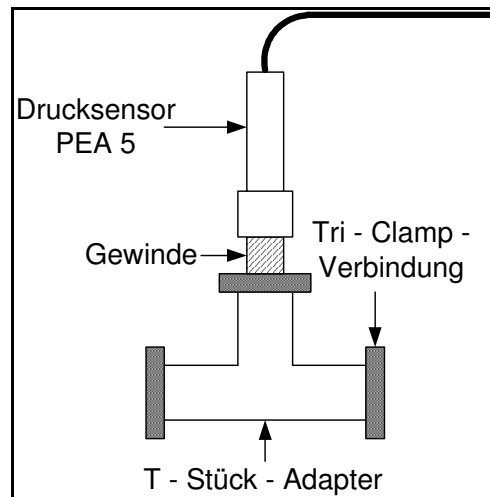


Abb. 7-1 Positionierung des Drucksensors im Leitungssystem

Tab. 7-1 gibt die Messpositionen in den Modellen und dem Sterilisationsmodul der DDC – Anlage wieder.

Tab. 7-1 Übersicht der Druckmesspunkte in den Modellen sowie dem Sterilisationsmodul.

Position	Schlauchmodell	Erweitertes Testmodell	Sterilisationsmodul der DDC - Anlage
Systemeingang	-	✓	-
Hilfstank	-	-	✓
Systemausgang	✓	✓	-

7.2 Durchführung der Durchflussmessungen

Zur Bestimmung des Volumenstroms werden an den Verarbeitungsstationen der DDC – Anlage Durchflussmessungen durchgeführt. Hierzu wird der digitale Durchflussmesser am Eingang der Stationen in das Leitungssystem integriert (siehe Abb. 7-2). Anschließend werden die Venturi – Vakuumpumpen aktiviert und der zu überprüfende Pfad durchgeschaltet. Nach einer Minute wird der jeweilige Durchflusswert abgelesen.

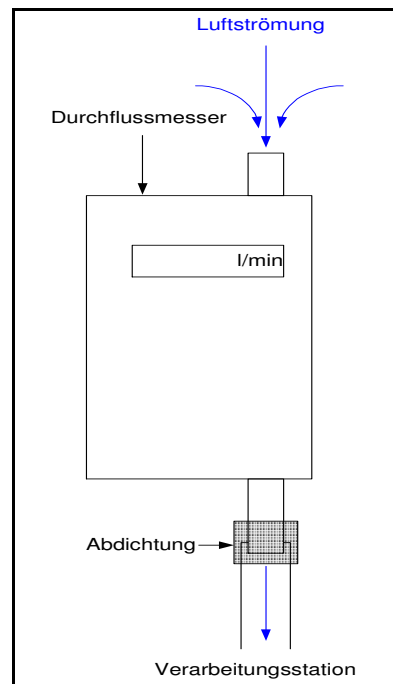


Abb. 7-2 Positionierung des Durchflussmessers am Eingang zur Verarbeitungsstation.

7.3 Aufzeichnung der Feuchteprofile

Zur Aufzeichnung der Feuchteprofile werden die Sensoren an den Systemein- bzw. Systemausgänge in das Leitungssystem der jeweiligen Anlage integriert. Zur Positionierung der Sensoren innerhalb des Rohrleitungssystems werden T - Adapter aus Stahl eingesetzt (siehe Abb. 7-3).

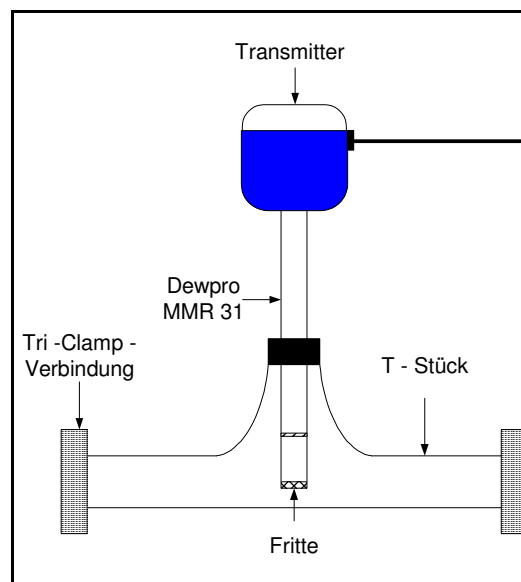


Abb. 7-3 T - Adapter zur Positionierung der Feuchtesensoren.

Analog den Temperaturprofilen werden alle Sterilisationszyklen an den Systemen von einer Aufzeichnung der relativen Feuchte begleitet. Auf diese Weise werden Rückschlüsse zwischen Sterilisationserfolg und relativer Feuchte ermöglicht. Um Vergleichsmessungen mit dem Taupunktspiegel am erweiterten Testmodell vornehmen zu können, werden mittels einer zweiten Vakuumpumpe kontinuierlich Proben aus dem Gasstrom entnommen und über den externen Taupunktspiegel geführt. Abb. 7-4 zeigt den dafür erforderlichen Messaufbau schematisch.

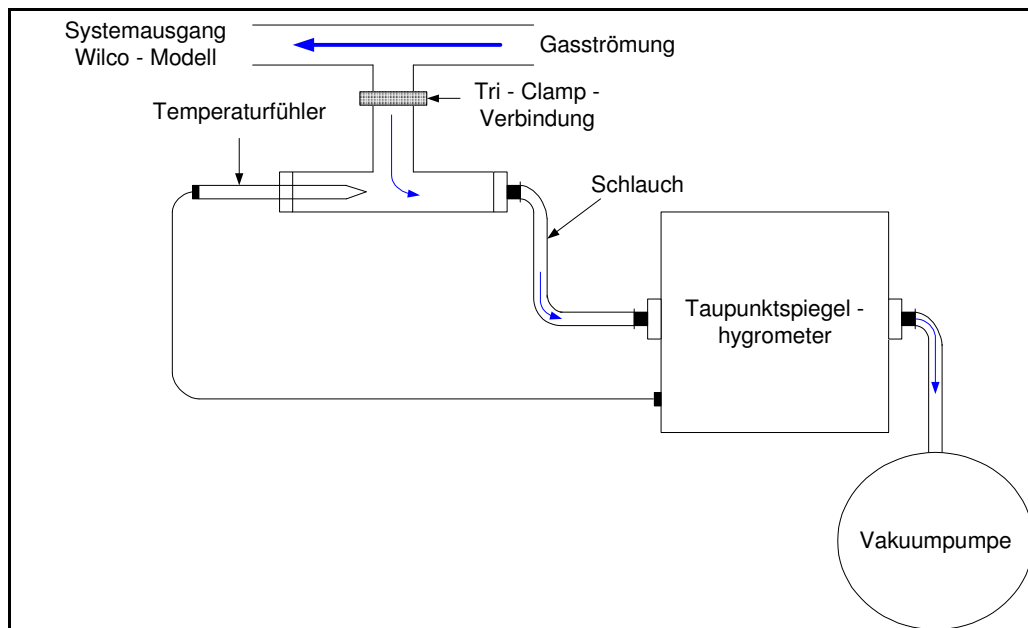


Abb. 7-4 Messaufbau des Taupunktspiegelhygrometer am Sterilisationsmodul der DDC - Anlage.

7.4 Erfassung der Temperaturprofile

Um die Temperaturverteilung innerhalb der betrachteten Systeme aufzeigen zu können, werden während der Sterilisationszyklen repräsentative Messpunkte mittels Thermoelementen überwacht. Bei der Auswahl der Messpunkte wird auf eine gleichmäßige Verteilung der Sensoren auf das gesamte Leitungssystem geachtet. Betrachtet werden sowohl die Temperaturen auf den Oberflächen als auch die innerhalb des Gasstromes. Hierzu werden die flexiblen Thermoelemente (siehe 5.8.4.1) gemäß Abb. 7-5 dauerhaft in das jeweilige Leitungssystem integriert. Um die Thermoelemente sicher durch die Tri - Clamp - Verbindungen führen zu können, werden Dichtungen eingesetzt, die über eine Aussparung in der Breite der beiden Drähte verfügen. Darüber hinaus werden die Außenflächen mit dem Kontaktthermometer (siehe Kap. 5.8.4.2) abgeprüft (siehe Abb. 7-5).

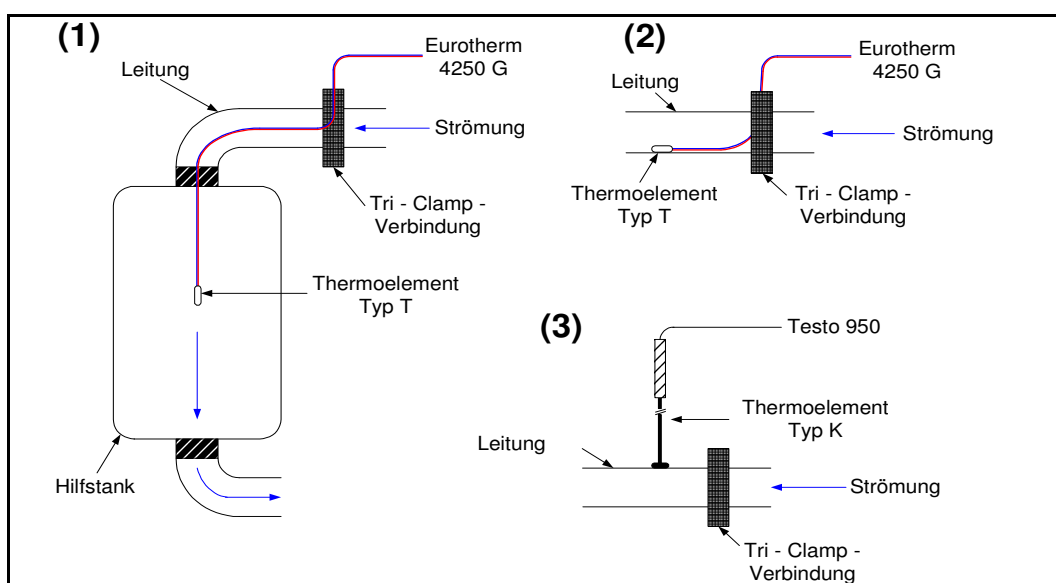


Abb. 7-5 Positionierung der Thermoelemente: (1) im Gasstrom; (2) auf der Innenfläche; (3) auf der Außenfläche.

In den nachfolgenden Kapiteln werden die Positionen der Sensoren innerhalb der einzelnen Systeme aufgezeigt.

7.4.1 Erfassung der Temperaturprofile am Schlauchmodell

Innerhalb des Schlauchmodells wird die Temperatur anhand des kombinierten Feuchte – Temperatursensors im Verteiler 2 aufgezeichnet (siehe Abb. 5-6).

7.4.2 Erfassung der Temperaturprofile am erweiterten Testmodell

Tab. 7-2 gibt eine Übersicht über die überwachten Positionen.

Tab. 7-2 Übersicht der Temperaturmesspunkte am erweiterten Testmodell.

Nr. ^a	Position	Gasstrom	Innenfläche	Außenfläche
1.	Systemeingang	✓	-	-
2.	Sterilfilter 1	✓	✓	✓
3.	Hilfstank	✓	-	✓
4.	Druckverteiler	✓	-	✓
5.	Vakuumverteiler	✓	-	✓
6.	BI Exponierende Einheiten ^b	✓	-	-
7.	Shuttle	-	✓	-
8.	Belüftungssammler	✓	-	✓
9.	Abluftsammler	✓	-	✓
10.	Schlauchleitung	✓	✓	-
11.	Sterilfilter 2	✓	✓	✓
12.	Systemausgang	✓	-	-

^a = siehe Abb. 7-6; ^b = siehe Kap. 7.7.3; ✓ = überwacht; - = nicht überwacht

Abb. 7-6 zeigt die Messpunkte im Fließschema.

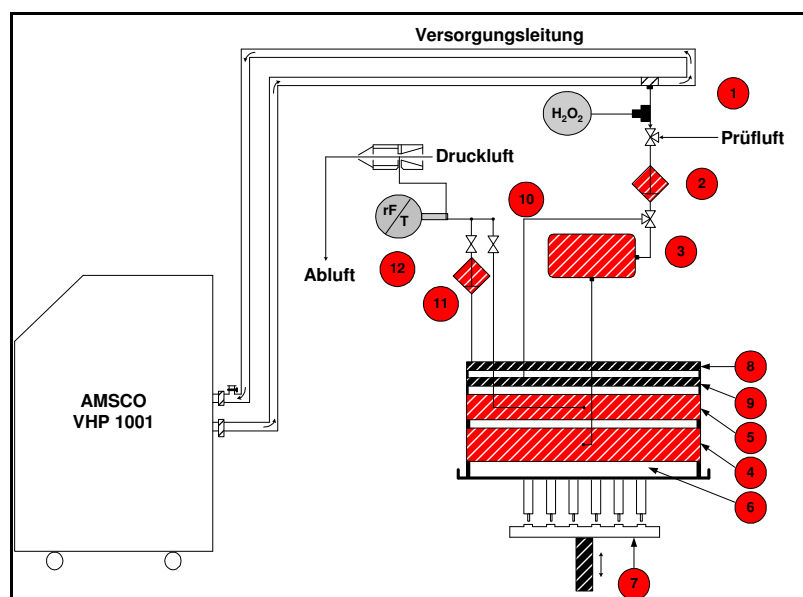


Abb. 7-6 Temperaturmesspunkte am erweiterten Testmodell. Die Nummerierung bezieht sich auf die Angaben der Tab. 7-2.

7.4.3 Erfassung der Temperaturprofile am Sterilisationsmodul der DDC Anlage

Die Positionen, die zur Aufzeichnung der Temperaturprofile herangezogen werden sind in Tab. 7-3 aufgelistet. Gemessen wird auf der Außenfläche der einzelnen Komponenten.

Tab. 7-3 Übersicht der Temperaturmesspunkt am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage.

Nr. ^a	Position	Ablösen	Volumenkontrolle	Dichtigkeitsprüfung
1.	Ringleitung	-	-	-
2.	Systemeingang	✓	✓	✓
3.	Sterilfilter	✓	✓	✓
4.	Hilfstanks	✓	✓	✓
5.	Druckverteiler	✓	✓	✓
6.	Vakuumverteiler	✓	-	✓
7.	Shuttle	✓	✓	✓
8.	Belüftungssammler	-	-	✓
9.	Abluftsammler	✓	✓	✓
10.	Systemausgang	✓	✓	✓

^a = siehe Abb. 7-7; ✓ = überwacht; - = nicht überwacht

Abb. 7-7 gibt am Beispiel der Dichtigkeitsstation die genauen Positionen der Messfühler wieder.

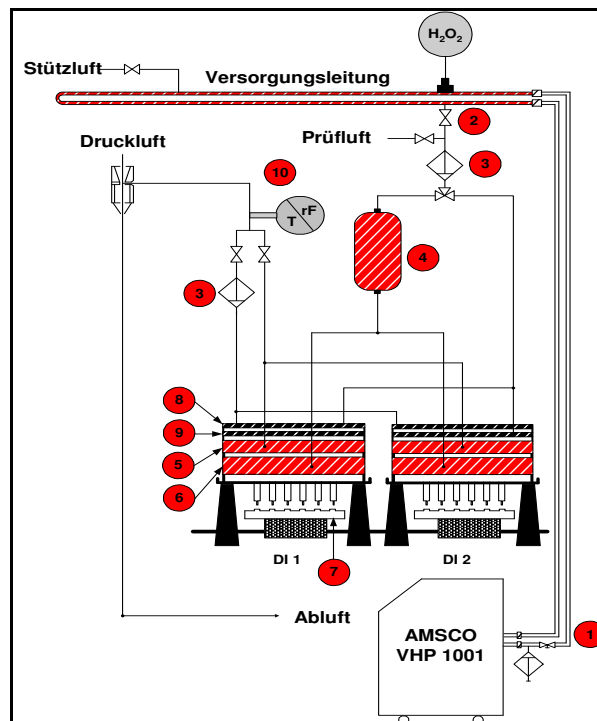


Abb. 7-7 Temperaturmesspunkte der Dichtigkeitsprüfstation. Die Nummerierung bezieht sich auf die Angaben in Tab. 7-2.

Die Positionierung ist repräsentativ für alle Prüfstationen der DDC - Anlage.

7.5 Aufzeichnung der Wasserstoffperoxid – Verteilung

Um Informationen darüber zu erhalten wie sich das H_2O_2 – Gas innerhalb des Leitungssystems verteilt und nach Sterilisation wieder abbaut, wird mit verschiedenen Wasserstoffperoxid - Sensoren gearbeitet (siehe Kap. 5.8.5). Zum Online – Monitoring der H_2O_2 – Gas - Konzentration wird die amperometrische Wasserstoffperoxidsonde in das Leitungssystem integriert (siehe Kap. 5.8.5). Dabei wird die Sonde am Ein- bzw. Ausgang des Systems positioniert. Die Einbindung in die Rohrleitung wird mittels eines Kunststoffadapters vorgenommen (siehe Abb. 7-8).

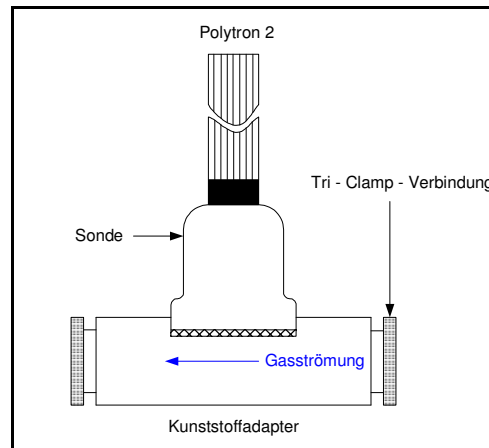


Abb. 7-8 Positionierung der H_2O_2 – Sonde im Leitungsgefüge.

Diese Art der Positionierung erlaubt eine von der Strömungsgeschwindigkeit unbeeinflusste Erfassung der im Leitungssystem vorherrschenden Wasserstoffperoxid – Konzentration (siehe Abb. 7-9 und Abb. 7-10).

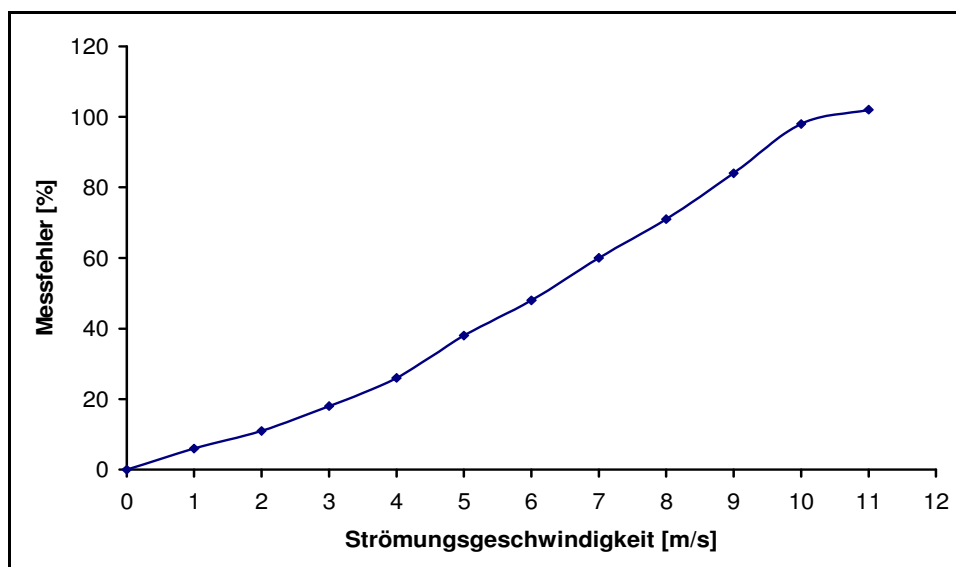


Abb. 7-9 Prozentualer Messfehler der Wasserstoffperoxid – Sonde in Abhängigkeit von der Strömungsgeschwindigkeit [113].

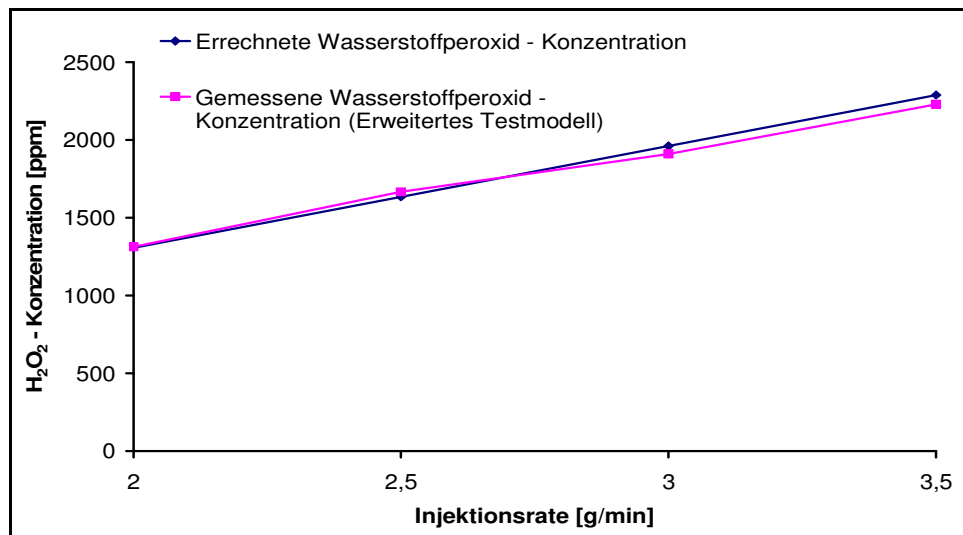


Abb. 7-10 Vergleich zwischen errechneter [114] und am erweiterten Testmodell gemessener H₂O₂ - Konzentration.

Um feststellen zu können, ob sich das Wasserstoffperoxid gleichmäßig innerhalb der Leitungen verteilt, werden am erweiterten Testmodell und dem Sterilisationsmodul zusätzlich Chemioindikatoren eingesetzt. Diese werden analog der Bioindikatoren (siehe Kap. 7.7.2) innerhalb des Aufbaus platziert. Die Auswertung erfolgt visuell.

Die Charakterisierung des Wasserstoffperoxid - Abbaus wird mit Gasprüfröhrchen vorgenommen. Hierzu wird die Belüftungsphase alle zehn Minuten unterbrochen und an definierten Positionen die Wasserstoffperoxidkonzentration gemessen. Am erweiterten Testmodell wird die Konzentrationsbestimmung pfadspezifisch vorgenommen. Die Messungen erfolgen am Systemausgang (1) (siehe Abb. 7-11). An der DDC - Anlage erfolgen die Messungen am Systemausgang (1), der Ringleitung (2) und den Sterilfilter (3) (siehe Abb. 7-12).

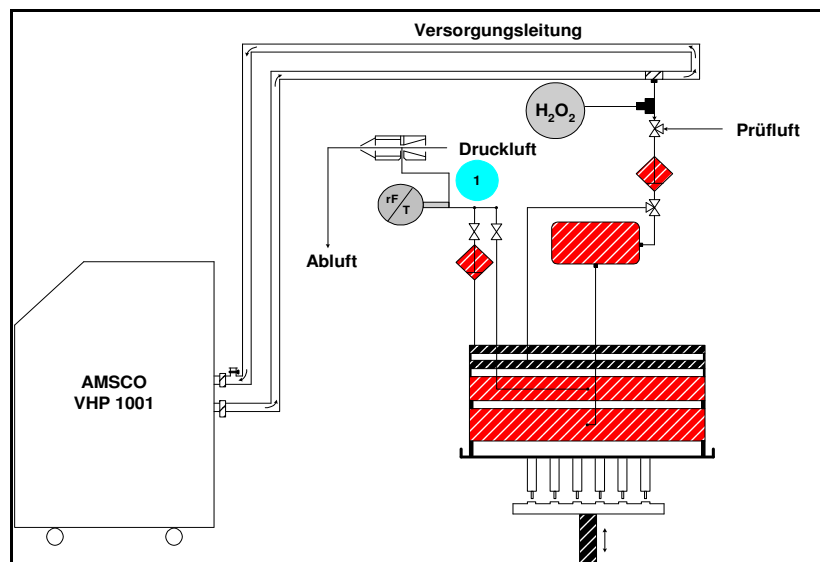


Abb. 7-11 H₂O₂ - Messpunkte mittels Gasprüfröhrchen am erweiterten Testmodell. Die Messungen erfolgen am Systemausgang (siehe Markierung).

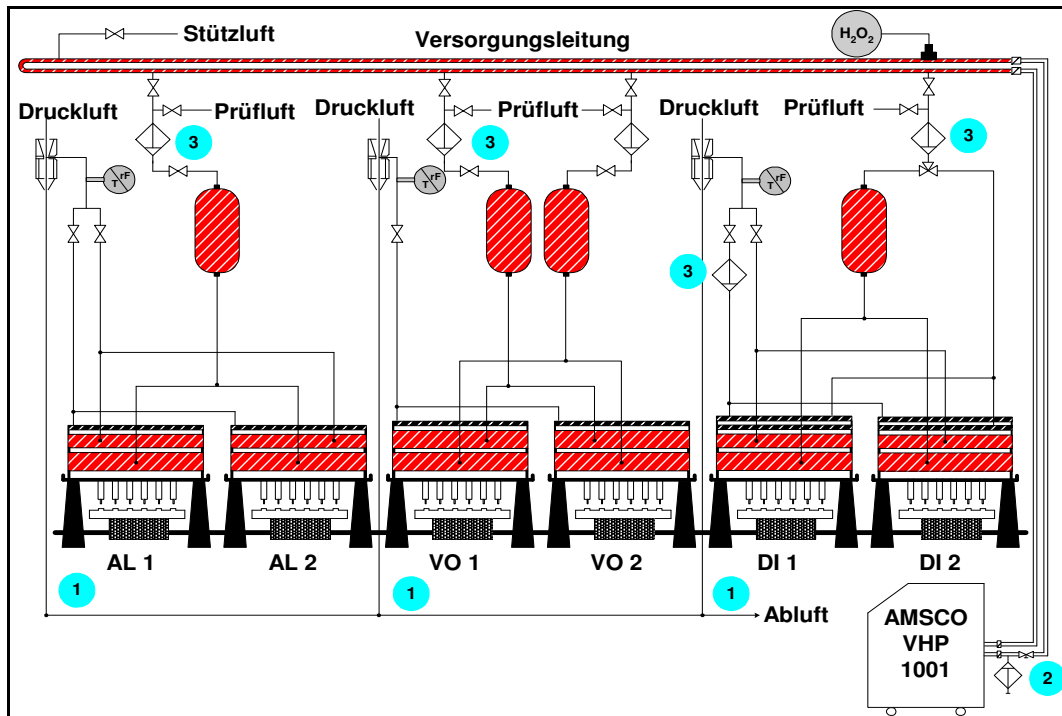


Abb. 7-12 H_2O_2 – Messpunkte mittels Gasprüfröhrchen an der DDC – Anlage. Die Messungen erfolgen am Systemausgang, der Ringleitung und den Sterilfiltern (siehe Markierungen).

Um eine Gasprobe aus dem Leitungssystem entnehmen zu können werden spezielle Adapter eingesetzt. Bei der Überprüfung der Sterilfilter wird ein flexibler Polyethylenschlauch mittels einer Stäubli – Kupplung am Filtergehäuse angeschlossen und mit dem Prüfröhrchen verbunden (siehe Abb. 7-13).

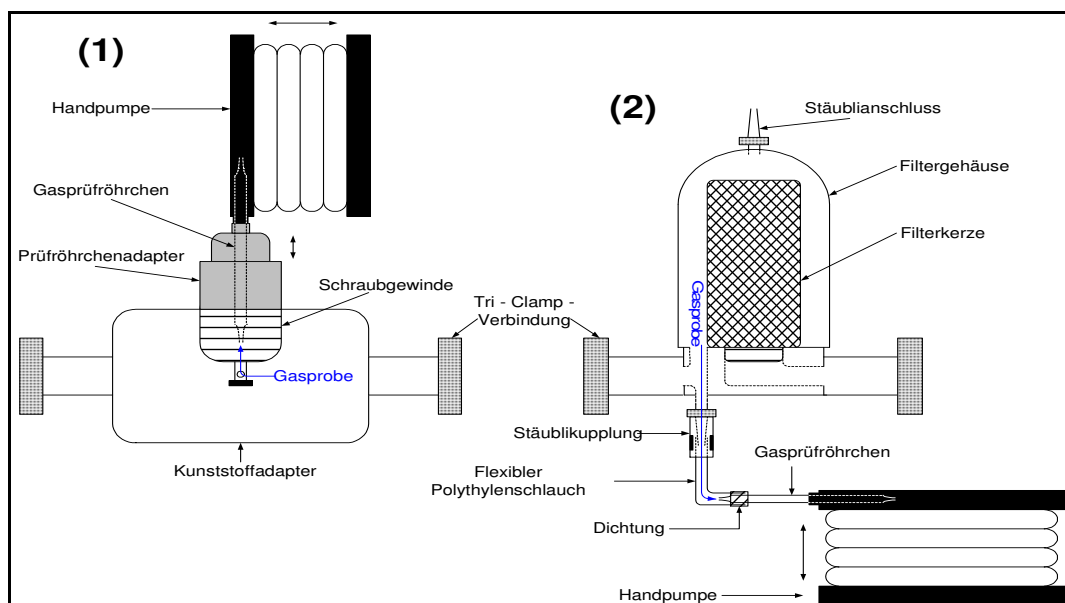


Abb. 7-13 Positionierung der Gasprüfröhrchen im Rohrleitungssystem (1) und am Sterilfilter (2).

7.6 Untersuchungen des Adsorptionsverhaltens der Kunststoffschläuche und Kunststoffbehälter

Um festzustellen, ob die Kunststoffschläuche im Verlauf der Sterilisation Wasserstoffperoxid adsorbieren und dieses während der Belüftungsphase wieder vollständig abgeben, werden an Schlauchmaterialien Konzentrationsbestimmungen durchgeführt (siehe Kap.7.6.2). Des Weiteren wird geprüft, ob sich nach Abschluss der Belüftungsphase bzw. beim Übergang in die Produktionsphase Wasserstoffperoxid in den Kunststoffbehältern nachweisen lässt (siehe Kap. 7.6.3). Die quantitative Bestimmung erfolgt photometrisch.

7.6.1 Photometrische H_2O_2 – Konzentrationsbestimmung

Die verwendete Methode basiert auf der Oxidation von Eisen (II) - zu Eisen (III) - Ionen in Anwesenheit von Wasserstoffperoxid (siehe Form. 7-1). Die entstehenden Eisen (III) - Ionen bilden mit Xylenorange einen braunroten Komplex (siehe Form. 7-2 und Abb. 7-14) der bei 525 nm [115] spektralphotometrisch vermessen werden kann [116, 117]. Anschließend wird die jeweilige H_2O_2 – Konzentration mittels einer Eichgerade berechnet. Folgende Lösungen werden angesetzt:

Lösung A

1,57 g Ammonium – Eisen(II) – Sulfat werden in ca. 600 ml destilliertem Wasser gelöst. Danach werden 2,8 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt und mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Die Lösung wird nicht länger als fünf Tage bei Raumtemperatur gelagert.

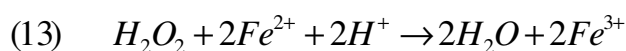
Lösung B

0,380 g Xylenorange wird in 50 ml destilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wird nicht länger als fünf Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Aufgrund der Lichtempfindlichkeit des Xylenoranges wird die Lösung in eine Braunglasflasche gefüllt und dunkel gelagert.

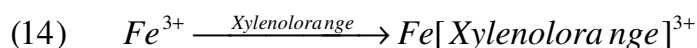
Lösung C

50 ml der Lösung A und 10 ml der Lösung B werden gemischt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wird täglich frisch angesetzt.

Für die photometrische Bestimmung werden von jedem Muster 1 ml entnommen und mit jeweils 4 ml der Lösung C versetzt. Danach werden die Proben bis zur endgültigen Farbentwicklung 30 Minuten stehen gelassen und dann vermessen.



Form. 7-1 Redoxreaktion.



Form. 7-2 Komplexbildungsreaktion.

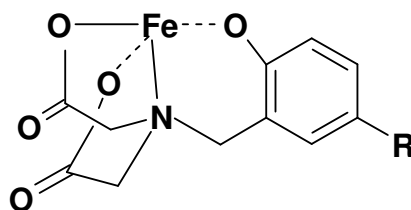


Abb. 7-14 Struktur des Eisen (III) –Xylenorange – Komplexes [118].

7.6.2 Aufbereitung der Prüfschläuche nach Beaufschlagung mit H₂O₂

Für die Erfassung von Adsorptionsvorgängen an Schlauchmaterialien werden am erweiterten Testmodell drei Sterilisationszyklen gefahren. Diese setzen sich aus 20 min Trocknen, 40 min Sterilisieren und 100 min Belüften zusammen. Unmittelbar nach Beendigung der Sterilisationsphase wird das erste Muster gezogen. Alle weiteren Proben werden während der Belüftungsphase entnommen. Nach ihrer Entnahme werden die Schlauchproben zunächst in zwei Teile geschnitten und gewogen. Im nächsten Schritt werden die einzelnen Teilstücke dann in mit 10 ml destilliertem Wasser gefüllte Glasvials überführt. Danach werden die Glasvials verschlossen und die Proben unter ständigem Schwenken zwei Stunden lang extrahiert. Anschließend werden die Muster direkt vermessen. Untersucht werden Schläuche aus Polyurethan, Polypropylen und Polyamid.

7.6.3 Aufbereitung der Kunststoffbehälter nach Beaufschlagung mit H₂O₂

Für die Untersuchung der Kunststoffbehälter werden drei Sterilisationszyklen am erweiterten Testmodell gefahren. Um die Verhältnisse an der DDC – Anlage zu simulieren wird mit den gleichen Zyklusparametern gearbeitet. Lediglich die Belüftungsphase wird im Sinne eines worst – case - Szenarios auf 120 min verkürzt. Nach Abschluss der Belüftungsphase wird ein Kunststoffbehälter im Shuttle des erweiterten Testmodells platziert. Danach werden die Ventile im Modell so eingestellt, das der Innenbag des Behälters für 2 min ununterbrochen mit Prüfluft beaufschlagt wird. Um einen Durchfluss in der Prüfwelle realisieren zu können wurde die Behälter – Dichtung vor Versuchsbeginn entfernt (siehe Abb. 7-15). Anschließend wird dieser Behälter entnommen und der nächste Kunststoffbehälter eingebracht. Dieser Vorgang wird elfmal wiederholt. Bei allen Mustern wird zunächst der Außenbag vom Innenbag getrennt. Dann werden der Außen- und der Innenbag in jeweils vier Teile zerschnitten und in Glasvials überführt. Diese sind im Vorfeld mit 20 ml destilliertem Wasser befüllt worden. Nach dem Verschließen der Glasvials werden die Proben zwei Stunden lang unter kontinuierlichem Schwenken extrahiert. Die Konzentrationsmessungen werden direkt im Anschluss an die wässrige Extraktion vorgenommen.

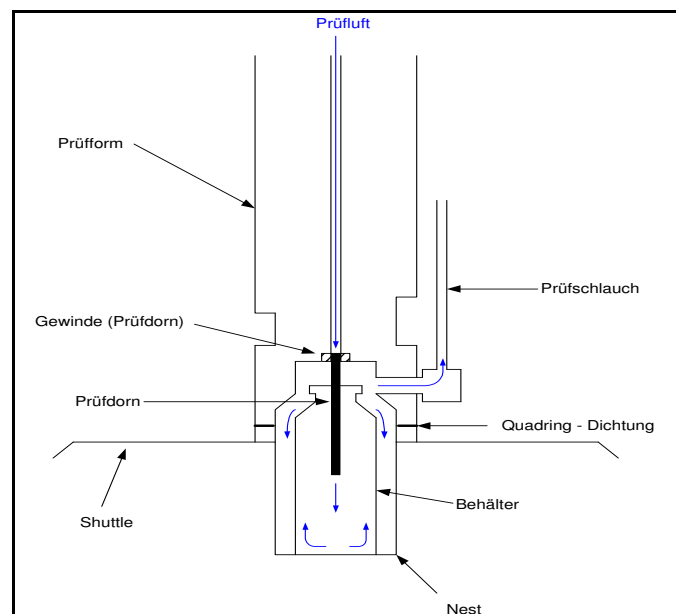


Abb. 7-15 Führung der Prüfluft im Rahmen der Adsorptionsuntersuchung am Kunststoffbehälter.

7.7 Durchführung der mikrobiologische Leistungsbeurteilung

Um die Eignung bzw. Effektivität der H₂O₂ – Oberflächensterilisation bei Anwendung in einem Leitungssystem beurteilen zu können, werden die Sterilisationszyklen mit Bioindikatoren überwacht und anhand der Ergebnisse aus den Wachstumstests (siehe 7.7.7) bewertet. Dabei kommt die Fraction Negative Analysis (siehe Kap. 7.7.1) zur Anwendung. Bevor die Bioindikatoren für das mikrobiologische Monitoring eingesetzt werden können, werden sie auf Keimidentität, Ausgangskeimzahl (siehe Kap.7.7.6) und Resistenzverhalten gegenüber gasförmigem H₂O₂ getestet. Die Charakterisierung der Resistenzeigenschaften erfolgt zunächst in einem Standardisolator (siehe Kap. 5.7). Die Ergebnisse werden anschließend mit denen, die am erweiterten Testmodell ermittelt werden, verglichen. Um die Wirksamkeit von Wasserstoffperoxid direkt auf der inneren Oberfläche der Schläuche zeigen zu können, erfolgt eine Direktbeimpfung (siehe Kap. 7.7.5) ausgewählter Schlauchmaterialien mit Keimsuspension.

7.7.1 Anwendung der statistischen Fraction Negative Analysis

Ziel der Fraction Negative Analysis, auch bezeichnet als Most Probable Number (MPN) Methode, ist die statistische Abschätzung eines D – Wertes in Abhängigkeit vom gewählten Sterilisationsverfahren und eingesetzten Bioindikator. Dabei wird sich nicht wie bei der Survivor Curve Method (SCM) einer direkten Auszählung der überlebenden Keime bedient, sondern anhand der Ergebnisse der Wachstumstests (siehe Kap. 7.7.7) ein D – Wert berechnet [119]. Der Betrachtung werden entweder die gesamte Einwirkzeit oder aber definierte Intervalle zu Grunde gelegt. Im Rahmen der Versuche werden das begrenzte Spearman – Karber – Verfahren (siehe Kap. 7.7.1.1), das Holocomb – Spearman – Karber – Verfahren (siehe Kap. 7.7.1.2), sowie das begrenzte Stumbo – Murphy – Cochran – Verfahren (siehe Kap. 7.7.1.3) verwendet. Alle drei Methoden erlauben, ausgehend vom Fraktionalen Feld der Überlebenskurve, die Abschätzung eines verfahrensspezifischen D-Wertes

7.7.1.1 Das Limited Spearman – Karber – Verfahren

Beim Limited Spearman – Karber – Verfahren (LSKP) wird eine im Vorfeld evaluierte Einwirkzeit in mehrere gleich große Zeitintervalle unterteilt. Bei der Unterteilung ist darauf zu achten, dass alle drei Zeitbereiche der Überlebenskurve, die Survival - Time, das Survival – Kill – Window und die Kill – Time, abgedeckt werden (siehe Kap. 3.2). Für jedes Zeitintervall wird eine immer gleich große Anzahl (so genannte Gruppe) an Bioindikatoren in der Sterilisationsanlage platziert. Mit Beginn der Einwirkzeit wird bei Erreichen eines jeden Zeitintervalls die zugehörige Gruppe vollständig aus der Sterilisationsanlage entnommen und im Wachstumstest ausgewertet. Die Ergebnisse der Wachstumskontrolle werden in einem so genannten „Reactive Pattern“ (siehe Tab. 7-5) visualisiert [34]. Basierend auf den Ergebnissen der Wachstumstests wird dann der D – Wert mathematisch abgeschätzt [120]. Zunächst wird eine „Mittlere Einwirkzeit bis zur Sterilität U_{sk}“ berechnet (siehe Form. 7-3). Aus U_{sk} und der Ausgangskeimzahl N₀ der eingesetzten Bioindikatoren kann dann der zugehörige D – Wert ermittelt werden (siehe Form. 7-4). Über die Standardabweichung von U_{sk} (siehe Form. 7-5) lässt sich abschließend das 95%ige Konfidenzintervall für den D-Wert ermitteln (siehe Form. 7-6).

$$(15) \quad U_{sk} = U_k - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \cdot \sum_{i=1}^{k-1} r_i$$

U_{sk} = Mittlere Einwirkzeit bis zur Sterilität

U_k = Früheste Entnahmezeit [min], bei der alle Bioindikatoren einer Gruppen kein Wachstum zeigen; bei jeder späteren Entnahmezeit zeigen alle BI ebenfalls kein Wachstum

d = Zeitintervall der Entnahmen der BI – Gruppen

n = Anzahl der BI pro Gruppe

r = Anzahl der BI, die zum Entnahmezeitpunkt kein Wachstum zeigen

Form. 7-3 Mittlere Einwirkzeit bis zur Sterilität (LSKP abgeschätzt).

$$(16) \quad D = \frac{U_{sk}}{\log N_0 + 0,2507}$$

Form. 7-4 D - Wert (LSKP abgeschätzt).

$$(17) \quad s_{U_{sk}} = \sqrt{\frac{d^2}{n^2(n-1)} \sum_{i=1}^{k-1} r_i(n-r_i)}$$

Form. 7-5 Standardabweichung von U_{sk} .

$$(18) \quad D_{(low/high)} = \frac{U_{sk} \pm 2s_{U_{sk}}}{\log N_0 + 0,2507}$$

Form. 7-6 95 % Konfidenzintervall des D - Wertes (LSKP abgeschätzt).

Während die ISO - Norm 11138 - 1 [120] zwanzig Bioindikatoren pro Gruppe fordert, lässt die USP 27 [121] zehn und weniger Bioindikatoren zu. Darüber hinaus haben Versuche gezeigt, dass auch mit drei Bioindikatoren pro Gruppe eine zuverlässige Abschätzung des D - Wertes möglich ist [34]. Liegt die Zahl der pro Gruppe eingesetzten Bioindikatoren unter zehn empfiehlt es sich bei der Berechnung des 95 % Konfidenzintervalls einen Korrekturfaktor k_{konf} , basierend auf der Annahme einer Studentverteilung [122], zu berücksichtigen (siehe Form. 7-7).

$$(19) \quad D_{(low/high)} = \frac{U_{sk} \pm 2k_{konf}s_{U_{sk}}}{\log N_0 + 0,2507}$$

Form. 7-7 95 % Konfidenzintervall des D - Wertes (LSKP abgeschätzt) bei $n < 10$.

Tab. 7-4 gibt eine Übersicht über die Größe des Korrekturfaktors k_{konf} in Abhängigkeit zur verwendeten Anzahl Bioindikatoren pro Gruppe.

Tab. 7-4 Korrekturfaktor k für Gruppen mit $n < 10$ [123].

Anzahl Bioindikatoren pro Gruppe	Korrekturfaktor k_{konf}
2	7,0
3	2,3
4	1,7
5	1,4
6	1,3
7	1,3
8	1,2
9	1,2

Entscheidend für die Anwendbarkeit des LSKP ist, dass dem Fraktionalen Feld mindestens eine Gruppe vorstehen muss, bei der alle Bioindikatoren Wachstum zeigen, und mindestens eine bis zwei Gruppen nachfolgen müssen, bei denen kein Bioindikator Wachstum zeigt.

Demzufolge werden in den vorliegenden Versuchen die Ergebnisse der Wachstumstests nur dann für gültig erklärt, wenn sie dieser Voraussetzung entsprechen. Um die Bioindikator - Gruppen in das Leitungssystem des erweiterten Testmodells und des Sterilisationsmoduls der DDC - Anlage einbringen zu können, werden spezielle BI exponierende Einheiten (siehe Kap. 7.7.3) eingesetzt. Diese werden gleichmäßig im Schlauchsystem der Prüfköpfe verteilt, um so jede Gruppe der gleichen Gasexposition aussetzen zu können. Die Positionierung im Isolator erfolgt auf einem eigens konstruierten Gestell, an dem die Bioindikator - Gruppen unmittelbar im Gasstrom aufgehängt werden können (siehe Kap. 0). Für die Versuche wird eine Gruppengröße zwischen 3 und 6 Bioindikatoren pro Gruppe gewählt.

Beispielhafte Anwendung des Limited Spearman - Karber Verfahrens

Im Folgenden wird zur Verdeutlichung auf Basis des in Tab. 7-5 gezeigten Reactive Pattern eine D - Wert Berechnung analog dem begrenzten Spearman - Karber Verfahrens durchgeführt.

Tab. 7-5 Beispiel eines „Reactive Pattern“ ($N_0 = 2,1 \times 10^6$ KBE).

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	
1.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2,7
2.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

A. Berechnung der mittleren Einwirkzeit U_{sk}

$$U_{sk} = U_k - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \sum_{i=1}^{k-1} r_i \quad \text{wobei} \quad U_k = 25 \text{ min}; d = 5 \text{ min}; n = 5 \text{ BI}$$

$$\Rightarrow U_{sk} = 25 \text{ min} - \frac{5 \text{ min}}{2} - \frac{5 \text{ min}}{5} (2 + 3) = \underline{\underline{17,5 \text{ min}}}$$

B. Berechnung des D - Wertes

$$D = \frac{U_{sk}}{\log N_0 + 0,2507} \quad \text{wobei} \quad N_0 = 2,1 \times 10^6 \text{ KBE}$$

$$\Rightarrow D = \frac{17,5 \text{ min}}{\log(2,1 \cdot 10^6) + 0,2507} = \underline{\underline{2,66 \text{ min}}}$$

C. Berechnung der Standardabweichung

$$s_{U_{sk}} = \sqrt{\frac{d^2}{n^2(n-1)} \sum_{i=1}^{k-1} r_i(n-r_i)}$$

$$\Rightarrow s_{U_{sk}} = \sqrt{\frac{5^2}{5^2(5-1)} [(2 \cdot 3) + (3 \cdot 2)]} = \underline{\underline{1,73}}$$

D. Berechnung des 95%igen Konfidenzintervalls

$$D_{(low/high)} = \frac{U_{sk} \pm 2k_{konf} s_{U_{sk}}}{\log N_0 + 0,2507} \quad \text{wobei} \quad k_{konf} = 1,4$$

$$\Rightarrow D_{low} = \frac{17,5 \text{ min} - (2,8 \cdot 1,73)}{\log(2,1 \cdot 10^6) + 0,2507} = \underline{\underline{1,93 \text{ min}}}$$

$$\Rightarrow D_{high} = \frac{17,5 \text{ min} + (2,8 \cdot 1,73)}{\log(2,1 \cdot 10^6) + 0,2507} = \underline{\underline{3,4 \text{ min}}}$$

7.7.1.2 Das Holocomb – Spearman – Karber – Verfahren

Das Holocomb – Spearman – Karber – Verfahren (HSKP) ist dem LSKP sehr ähnlich. Es basiert jedoch auf einer zusammenfassenden Gleichung, bei der die Verwendung gleich großer Zeitintervalle bzw. gleich großer BI – Gruppen nicht zwingend erforderlich ist [119]. Zunächst wird eine durchschnittliche Einwirkzeit (μ) berechnet, nach der kein Bioindikator mehr Wachstum zeigt (siehe Form. 7-8).

$$(20) \quad \hat{\mu} = \sum_{i=1}^{k-1} \mu_i$$

Form. 7-8 Durchschnittliche Einwirkzeit bis zur Sterilität.

Es gilt folgender Zusammenhang:

$$(21) \quad \mu_i = x_i \cdot y_i; \quad x_i = \frac{t_i + t_{i+1}}{2} \quad \text{und} \quad y_i = \frac{r_{i+1}}{n_{i+1}} - \frac{r_i}{n_i}$$

Form. 7-9 Zwischenrechnung für die Berechnung von μ .

Basierend auf der durchschnittlichen Zeit bis zur Sterilität kann dann ein D – Wert abgeschätzt werden (siehe Form. 7-10).

$$(22) \quad D = \frac{\hat{\mu}}{\log N_0 + 0,2507}$$

Form. 7-10 Mittlerer D – Wert (HSKP abgeschätzt).

Das 95 % ige Konfidenzintervall wird über die Form. 7-11 ermittelt.

$$(23) \quad D_{low/high} = D \pm \sqrt{V}$$

Form. 7-11 95% Konfidenzintervall des D – Wertes (HSKP abgeschätzt).

Die Varianz (V) berechnet sich wie folgt:

$$(24) \quad V = a \cdot \left(\frac{2,3026}{0,5772 + \ln N_0} \right)^2$$

Form. 7-12 Berechnung der Varianz.

Für a gilt:

$$(25) \quad a = 0,25 \cdot \sum_{i=2}^{k-1} (t_{i+1} - t_{i-1})^2 \cdot r_i \frac{(n_i - r_i)}{n_i^2 (n_i - 1)}$$

Form. 7-13 Zwischenrechnung zur Berechnung der Varianz.

7.7.1.3 Das Limited Stumbo – Murphy – Cochran – Verfahren

Das Limited Stumbo – Murphy – Cochran – Verfahren (LSMCP) fordert zur Abschätzung eines D - Wertes ein Ergebnis aus dem fraktionalen Feld [119]. Dies setzt voraus, dass die Lage des fraktionalen Feldes innerhalb der Überlebenskurve bereits bekannt ist. Entsprechend wird nur eine einzige Bioindikator - Gruppe in der Sterilisationsanlage platziert und zu einem definierten Zeitpunkt, der innerhalb des fraktionalen Feldes liegen muss, vollständig entnommen und mittels Wachstumstest qualitativ ausgewertet. Die D – Wert – Berechnung erfolgt auf Basis der gewählten Einwirkzeit (t), der Ausgangskeimzahl (N_0) der eingesetzten Bioindikatoren und dem Verhältnis von Bioindikatoren ohne Wachstum (r) zur Gesamtmenge (t) (siehe Form. 7-14).

$$(26) \quad D = \frac{t}{\log N_0 - \log(\ln \frac{n}{r})}$$

Form. 7-14 D – Wert (LSMCP abgeschätzt).

Um hohe Abweichungen bei der Berechnung des D – Wertes zu vermeiden, sollte die Gesamtzahl der eingesetzten Bioindikatoren $n \geq 50$ und das Verhältnis von Bioindikatoren ohne Wachstum zur Gesamtmenge $r/n < 0,9$ sein. Zeigen alle Bioindikatoren Wachstum $r = 0$ bzw. kein Wachstum $r/n = 1$, so ist das Ergebnis für ungültig zu erklären [37]. Auch bei diesem Verfahren ist eine Berechnung des 95 % Konfidenzintervalls möglich (siehe Form. 7-15 und Form. 7-16). Dies gilt jedoch nur, wenn die Voraussetzung aus Form. 7-17 erfüllt ist.

$$(27) \quad x = 1,96 \cdot \sqrt{\frac{r}{n} \cdot \frac{1 - (\frac{r}{n})}{n}}$$

Form. 7-15 Zwischenrechnung für die Berechnung des Konfidenzintervalls.

$$(28) \quad D_{(low/high)} = \frac{t}{\log N_0 - \log \left(\ln \left(\frac{1}{\frac{r}{n} \pm x} \right) \right)}$$

Form. 7-16 95 %iger Konfidenzintervall des D-Wertes (LSMCP abgeschätzt).

$$(29) \quad n \cdot \left(\frac{r}{n} \right) \cdot \left(\frac{n-r}{n} \right) \geq 9$$

Form. 7-17 Voraussetzung für die Berechnung des 95 %igen Konfidenzintervalls.

Die LSCMP wird zur D - Wert - Bestimmung in Zusammenhang mit der Direktbeimpfung von Schlauchmaterialien eingesetzt. Es wird eine Gesamtmenge von 50 Bioindikatoren eingebracht.

7.7.2 Die Positionierung der Bioindikatoren im Leitungssystem der Sterilisationseinheiten

Für die Sterilisationsversuche werden die Bioindikatoren gleichmäßig innerhalb der betrachteten Leitungssysteme verteilt. Dabei werden sowohl repräsentative Komponenten, wie Hilfstanks, Filtereinheiten und Shuttles wie auch, im Sinne der Gasverteilung schwer zugängliche Positionen, wie Schläuche und Verteilerecken überwacht. Aufgrund der engen Leitungsdurchmesser werden die Bioindikatoren aus ihren Schutzhüllen entfernt und entweder unmittelbar auf der Oberfläche oder unter zu Hilfenahme spezieller Halterungen und BI exponierenden Einheiten im Gasstrom fixiert. Die D - Wert - Bestimmungen erfolgen ausschließlich mittels BI exponierenden Einheiten.

7.7.2.1 Die Positionierung der Bioindikatoren im Schlauchmodell

Am Schlauchmodell werden zur mikrobiologischen Leistungsbeurteilung BI exponierende Einheiten (siehe Kap. 7.7.3) eingesetzt. Diese werden mit Bioindikatoren bestückt und in die Schläuche integriert.

7.7.2.2 Die Positionierung der Bioindikatoren im erweiterten Testmodell

Folgende Positionen wurden für Überwachung mit Bioindikatoren ausgewählt (siehe Tab. 7-6).

Tab. 7-6 Übersicht der Positionen der Bioindikatoren im erweiterten Testmodell.

Nr. ^a	Position	Oberfläche	Halterungen ^b	BIEE ^c
1	Sterilfilter 1	✓	-	-
2	Hilfstank	-	✓	-
3	Druckverteiler	-	✓	-
4	Vakuumverteiler	-	✓	-
5	Shuttle	✓	-	-
6	Schläuche	-	-	✓
7	Belüftungssammler	-	✓	-
8	Abluftsammler	-	✓	-
9	Sterilfilter 2	✓	-	-
10	Systemausgang	✓	-	-

^a = siehe Abb. 7-6; ^b = siehe Kap. 0; ^c = siehe Kap. 7.7.3; ✓ = überwacht; - = nicht überwacht

Abb. 7-16 zeigt die überwachten Positionen im R&I – Schema. Die Nummerierung bezieht sich auf die Angaben der Tab. 7-6.

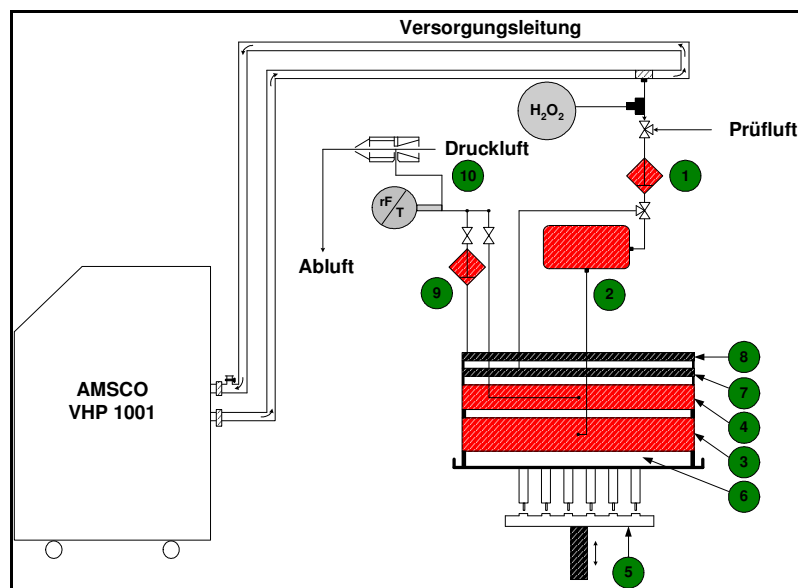


Abb. 7-16 Positionen der Bioindikatoren im erweiterten Testmodell. Die Zuordnung der Ziffern entspricht den Angaben in Tab. 7-6.

7.7.2.3 Die Positionierung der Bioindikatoren im Sterilisationsmodul der DDC – Anlage

Für die Überwachung des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage mit Bioindikatoren werden die folgende Positionen definiert (siehe Tab. 7-7).

Tab. 7-7 Übersicht der Positionen der Bioindikatoren im Sterilisationsmodul der DDC – Anlage.

Nr. ^a	Position	Oberfläche	BIEE ^b
1	Sterilfilter	✓	-
2	Shuttles	✓	-
3	Schläuche	-	✓
4	Systemausgänge	✓ </td <td>-</td>	-

^a = siehe Abb. 7-17; ^b = siehe Kap. 7.7.3; ✓ = überwacht; - = nicht überwacht

Abb. 7-17 zeigt die überwachten Positionen im R&I – Schema. Die Nummerierung bezieht sich auf die Angaben der Tab. 7-7.

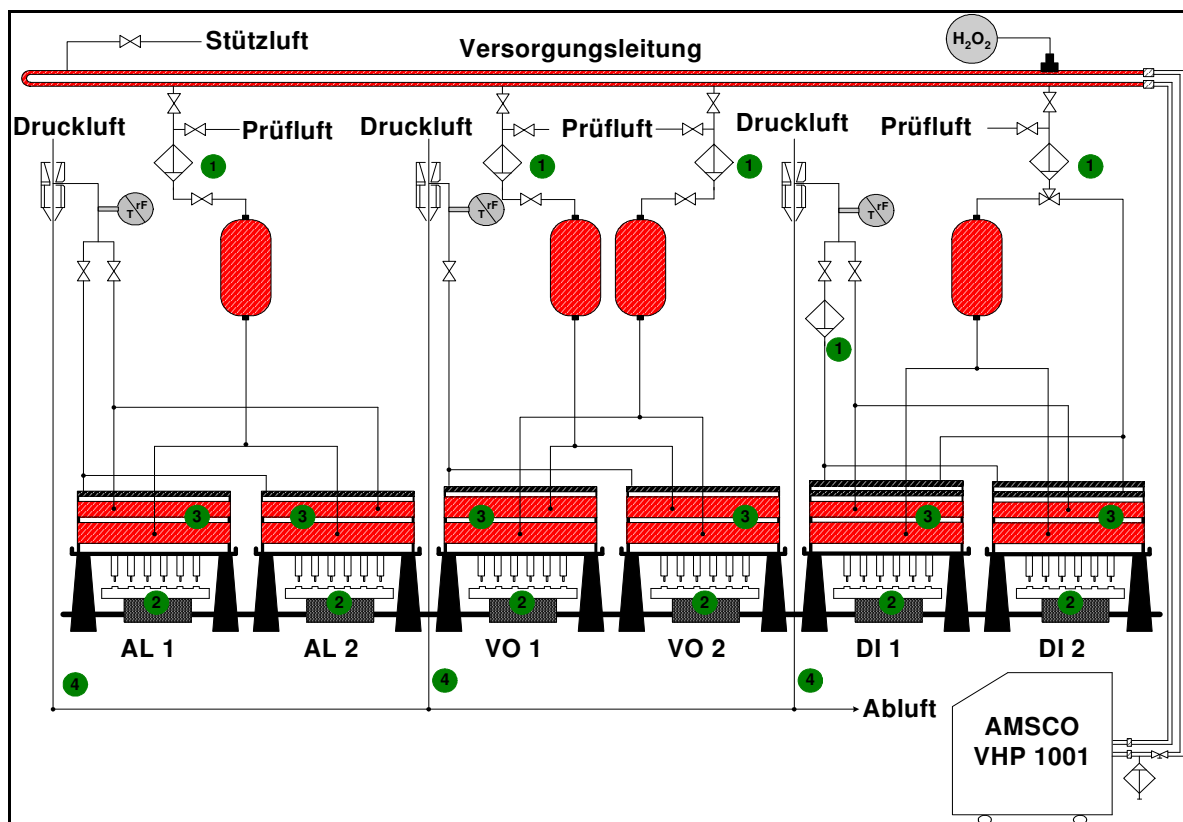


Abb. 7-17 Positionen der Bioindikatoren am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage. Die Zuordnung der Ziffern entspricht den Angaben in Tab. 7-7.

7.7.3 Die Entwicklung der Bioindikator exponierende Einheiten (BIEE)

Aufgrund der engen Schlauchdurchmesser (4 bzw. 6 mm) ist eine direkte Positionierung von Bioindikatoren in Inneren der Schläuche nur unzureichend möglich (siehe Kap. 9.2.5). Um dennoch kommerziell verfügbare Bioindikatoren einsetzen zu können werden BI exponierende Einheiten aus verschiedenen Materialien mit unterschiedlichen Aufnahmekapazitäten eingesetzt. Die Entwicklung der BI exponierenden Einheiten basiert auf der Idee, den Durchmesser der Schläuche für einen kurzen Abschnitt zu erweitern, um so Bioindikatoren platzieren zu können. Durch die Einbindung der BIEE kommt es zu keiner Veränderung der Strömungsverhältnisse im Leitungssystem. Temperatur und Feuchte innerhalb der BIEE entsprechen den in den Schläuchen gemessenen Werten (siehe Abb. 9-14 und Abb. 9-15).

7.7.3.1 BI exponierende Einheiten vom Typ 1 und deren Verwendung

Der Typ 1 wird aus Plexiglas gefertigt und verfügt über eine Metallklammer zur Fixierung des Bioindikators. Aufgrund der Anordnung der Metallklammer kann der Bioindikator im Zentrum der Röhre und somit direkt im Gasstrom platziert werden. Der Bioindikator kann zusammen mit seiner Schutzhülle eingebracht werden, jedoch muss diese zugeschnitten und neu versiegelt werden. Dieser Typ wird für die D - Wert - Bestimmung am Schlauchmodell eingesetzt.

7.7.3.2 BI exponierende Einheiten vom Typ 2 und deren Verwendung

Der Typ 2 besteht ebenfalls aus Plexiglas und wurde zur Aufnahme mehrerer Bioindikatoren konzipiert. Die Bioindikatoren werden ohne Schutzhülle eingebracht und mittels einer doppelseitigen Klebefolie auf der Röhreninnenseite befestigt. Der Typ 2 wird für alle D - Wert - Bestimmungen am erweiterten Testmodell sowie am Sterilisationsmodul der DDC - Anlage eingesetzt.

7.7.3.3 BI exponierende Einheiten vom Typ 3 und deren Verwendung

Um die BI Exponierenden Einheiten dauerhaft in das Leitungssystem der Prüfköpfe integrieren zu können wurde der Typ 3 auf Metallbasis konstruiert. Die Fixierung der Metallplättchen erfolgt über eine sich konzentrisch verjüngende Röhre in die der Bioindikator eingeschoben wird. Auf diese Weise befindet sich der Bioindikator ebenfalls unmittelbar im Gasstrom. Durch die schmalen Abmessungen des Typs 3 wird eine zeitgleiche Überwachung aller Schlauchverbindungen innerhalb eines Prüfkopfes möglich.

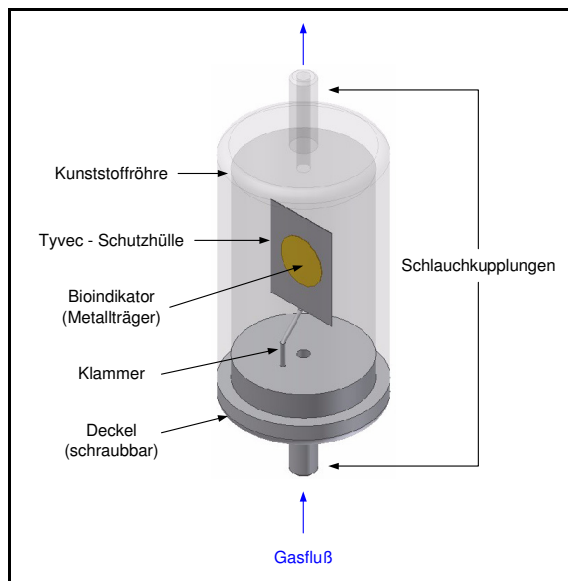


Abb. 7-18 Bioindikator exponierende Einheit vom Typ 1.

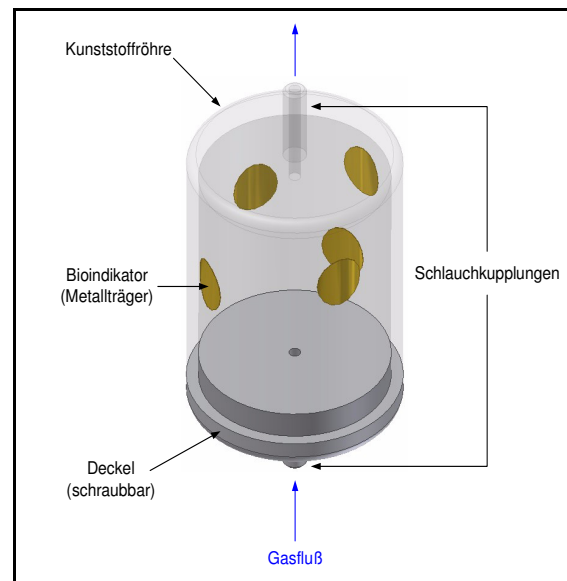


Abb. 7-19 Bioindikator exponierende Einheit vom Typ 2.

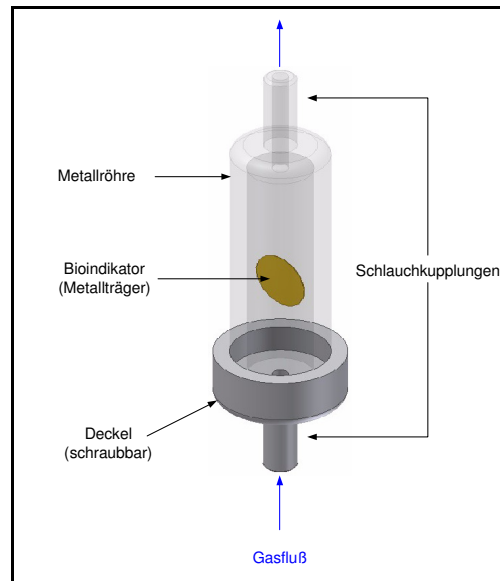


Abb. 7-20 Bioindikator exponierende Einheit vom Typ 3.

7.7.4 Halterungssysteme für Bioindikatoren zur Anwendung in Verteilertanks und im Entwicklungsisolator

Zur Überwachung der Verteiler und Hilfstanks wurden besondere Halterungen konzipiert, die es ermöglichen Bioindikatoren im Tank – Zentrum (siehe Abb. 7-21) oder an den Kanten der Verteiler (siehe Abb. 7-22) zu positionieren.

Die Halterungen werden entweder direkt auf einen Anschluss aufgeschraubt oder mittels eines T – Stücks adaptiert. Die Fixierung der Bioindikatoren erfolgt mit einer Metallklammer.

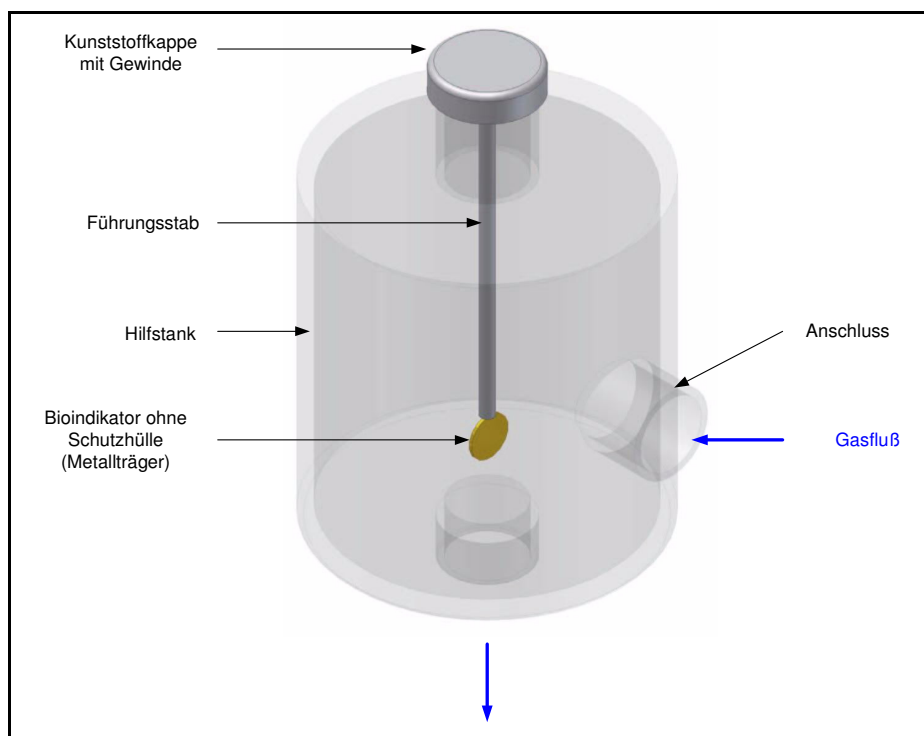


Abb. 7-21 BI – Halterung für die Überwachung der Hilfstanks.

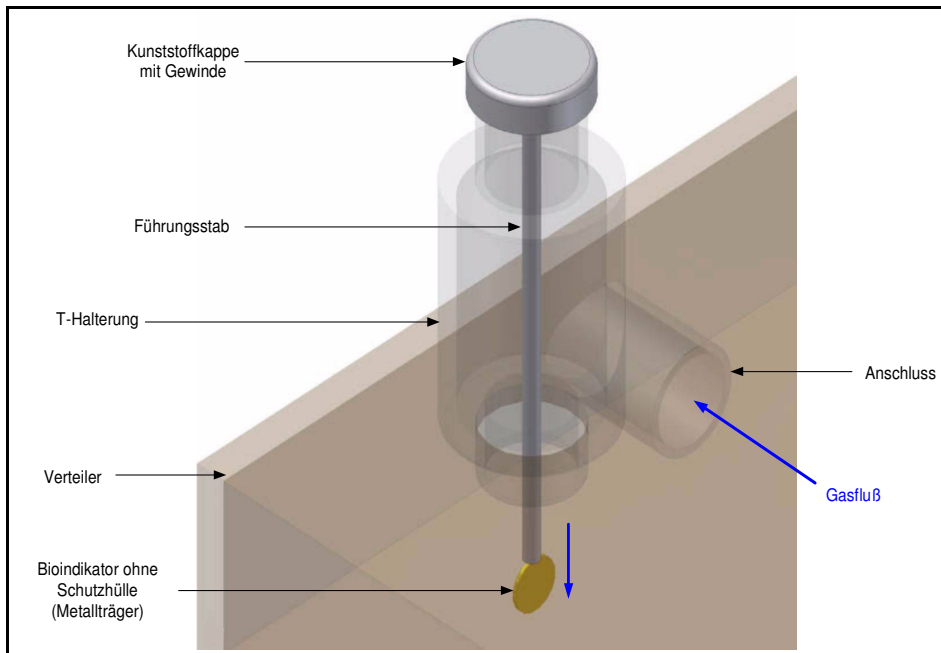


Abb. 7-22 BI – Halterung für die Überwachung der Verteiler. Um die Bioindikatoren im Entwicklungsisolator zentral positionieren zu können, werden diese auf Metalldraht aufgefädelt und in eine passende Halterung eingehängt (siehe Abb. 7-23).

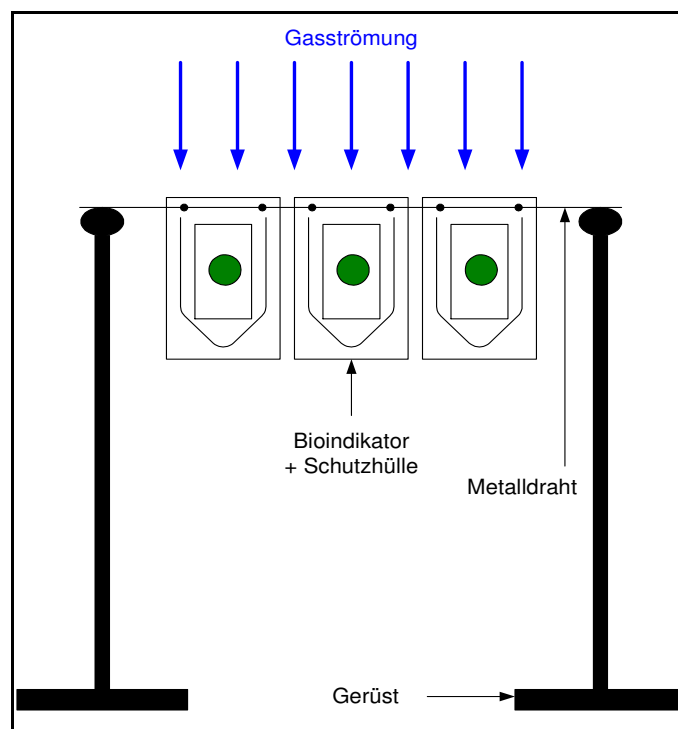


Abb. 7-23 Positionierung der Bioindikatoren im Testisolator.

7.7.5 Durchführung der Direktbeimpfung

Anhand der Direktbeimpfungsversuche wird zunächst grundsätzlich die keimtötende Wirkung des gasförmigen Wasserstoffperoxids auf den Schlauchoberflächen gezeigt. Anschließend wird ein Vergleich zwischen den kommerziellen Bioindikatoren und den beimpften Materialien durchgeführt, um mögliche Unterschiede im Resistenzverhalten der beiden mikrobiologischen Systeme aufzuzeigen. Zu diesem Zweck werden aus den Schläuchen rechteckige Stücke (ca. 15 x 7 mm) herausgeschnitten.

Diese werden dann unter aseptischen Bedingungen mit 90 % igem Ethanol gereinigt und anschließend getrocknet. Danach wird mit einer Eppendorfpipette jeweils 10 µl einer ethanolischen Sporensuspension ($1,0 \times 10^6$ KBE / 10 µl) punktförmig auf den Schlauchstücken verteilt. Nach ca. 30 min werden die beimpften Träger in Tyvek® - Schutzhüllen eingeschweißt. Drei der beimpften Träger werden für die Wiederfindung bereitgestellt (siehe Kap. 7.7.6).

7.7.6 Bestimmung der Wiederfindungsrate

Sowohl bei den von der Fa. Apex bezogenen Bioindikatoren, als auch bei den direktbeimpften Trägern wird jeweils an drei Mustern eine Überprüfung der Ausgangskeimzahl durchgeführt. Je ein Bioindikator wird zunächst in ein Reagenzglas mit 10 ml sterilem destilliertem Wasser eingebracht und mit einem Schraubdeckel verschlossen. Danach wird diese erste Verdünnungsstufe 30 Minuten zum Benetzen stehen gelassen und anschließend 30 Minuten lang im Ultraschallbad behandelt. Um eventuell vorhandene vegetative Formen von *Bacillus stearothermophilus* abzutöten wird das Reagenzglas im nächsten Schritt 15 Minuten lang bei 95 - 100 °C im Ölbad erwärmt. Das Erreichen der Temperatur wird durch Vergleichsmessungen an einem, mit destilliertem Wasser gefüllten Reagenzglas überprüft. Im Anschluss daran wird die Probe im Eiswasserbad rasch abgekühlt und drei weitere Verdünnungsstufen im Verhältnis 1:10 mit jeweils 9 ml sterilem destilliertem Wasser hergestellt. Von der vierten Verdünnungsstufe, mit einer voraussichtlichen Keimzahl von 30 - 300 KBE/Platte, wird dann 1 ml Lösung entnommen und zusammen mit 30 - 35 ml ca. 45 °C warmen Caseinpepton - Sojamehlpepton - Gußagar gleichmäßig in einer Petrischale verteilt (Plattengussmethode). Diese wird nach dem Erstarren des Agars 48 Stunden lang bei 55 - 60 °C im Trockenschrank inkubiert [124].

Durch Auszählung der gewachsenen Kolonien ist dann eine Berechnung der Sporenzahl pro Träger möglich (siehe Abb. 7-24).

$$(30) \quad \text{Sporenzahl / Träger} = \frac{\sum \text{gezählte KBE / Platte}}{\text{Verdünnungsfaktor} \cdot \text{Anzahl Proben}}$$

Form. 7-18 Berechnung der Sporenzahl pro Träger.

Anhand der mittleren prozentualen Wiederfindungsrate wird abschließend beurteilt, ob die Bioindikatoren bzw. beimpften Träger für die Versuche eingesetzt werden können.

$$(31) \quad \text{Wiederfindungsrate [\%]} = \frac{\text{berechnete Sporenzahl}}{\text{angegebene Sporenzahl}} \cdot 100$$

Form. 7-19 Berechnung der prozentualen Wiederfindungsrate.

Indikatoren mit einer Wiederfindungsrate von weniger als 50 % oder mehr als 300 % des angegebenen Wertes werden nicht verwendet.

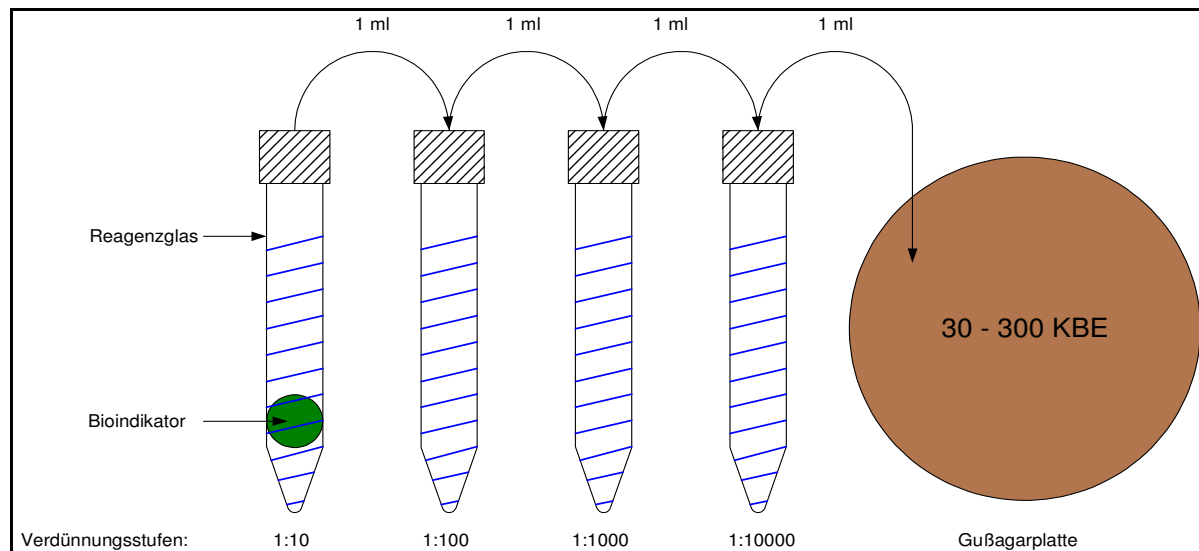


Abb. 7-24 Verdünnungsreihe zur Bestimmung der Wiederfindungsrate.

7.7.7 Durchführung des Wachstumstests

Zur Beurteilung des Sterilisationserfolges werden die Bioindikatoren im Anschluss an die Sterilisation einem Test auf Wachstum unterzogen [125]. Hierzu werden die Bioindikatoren aseptisch in flüssiges Caso - Nährmedium (siehe Kap. 5.9.2) überführt und 14 Tage lang bei 55 - 60 °C im Trockenschrank bebrütet. Die Nährmedien werden einmal täglich auf Trübung, als Zeichen von Sporenwachstum, kontrolliert. Um auszuschließen zu können, dass das Nährmedium im Vorfeld verkeimt ist bzw. unbehandelte Bioindikatoren nicht zu einer Trübung des Nährmediums führen, wird bei jedem Wachstumstest eine Negativ - bzw. eine Positivkontrolle beigelegt.

7.8 REM – Aufnahmen von mehrfach sterilisierten Dichtungsmaterialien

Für die REM – Aufnahmen wird der direkte Vergleich zwischen einer unbehandelten und einer durch Sterilisation und Produktion gestressten Dichtung durchgeführt. Die gestressten Dichtungen befanden sich 6 Monate in der DDC – Anlage. Je nach Größe der Dichtung werden ca. 4 mm große Proben aus der Dichtung herausgeschnitten oder aber die vollständige Dichtung verwendet. Diese werden auf einen Objektträger aufgeklebt und mit Hilfe der Kathodenzerstäubung (sputter coating) mit Gold beschichtet.

Betrachtet werden die in Tab. 7-8 aufgeführten Dichtungen:

Tab. 7-8 Übersicht der in der DDC – Anlage eingesetzten Dichtungsmaterialien.

Bezeichnung	Position	Material
Behälter – Dichtung	Prüfform/Behälter	transparentes Silikon
Quadring Dichtung	Prüfform/Shuttle	Buna (schwarz)
Zylinderdichtung	Prüfventil (intern)	Buna (schwarz)
Ventilsitzdichtung	Prüfventil/Prüfblock	Buna (schwarz)

Bei dem Material Buna® handelt es sich um einen Synthetikgummi, der durch Polymerisation von 1,3 Butadien mit fein verteiltem Natrium - Metall als Katalysator hergestellt wird [126].

7.9 Prüfung auf Dichtigkeit des Prüfkreises

Um die einwandfreie Funktion der drei Einheiten Ablösen, Volumenkontrolle und Dichtigkeitsprüfung gewährleisten zu können, müssen die 72 Einzelprüfkreise zum Zeitpunkt der Behälteraufbereitung zuverlässig gegen die Atmosphäre abgedichtet werden. Zusätzlich muss innerhalb der Prüfkreise eine räumliche Trennung zwischen Außen- und Innenbag der Kunststoffbehälter realisiert werden. Zu diesem Zweck verfügt jeder Prüfkreis über mehrere Dichtungen, die das System während der Bearbeitungsphase geschlossen halten sollen. Um überprüfen zu können, ob die Prüfkreise ordnungsgemäß abdichten, können die einzelnen Verarbeitungsstationen mit einem Dummyshuttle verschlossen und manuelle Differenzdruckmessungen vorgenommen werden (siehe Abb. 7-25). Dazu werden die 24 Prüfkreise zunächst evakuiert und die erste Druckmessung durchgeführt. Die zweite Druckmessung erfolgt analog den späteren Produktionsbedingungen nach einer Haltezeit von 1,1 s. Die Dauer der Haltezeit wurde vom Hersteller validiert. Im Anschluss wird das gesamte System belüftet. Verzeichnet ein Prüfkreis innerhalb der Haltezeit einen deutlichen Druckanstieg (Differenzdruck > 70 mbar) so liegt eine Undichtigkeit im Messkreis vor. Diese Methode wird genutzt, um im Verlauf einer Sterilisation entstandene Leckagen aufzeigen zu können. Die manuellen Druckmessungen werden vor und nach der Sterilisation durchgeführt.

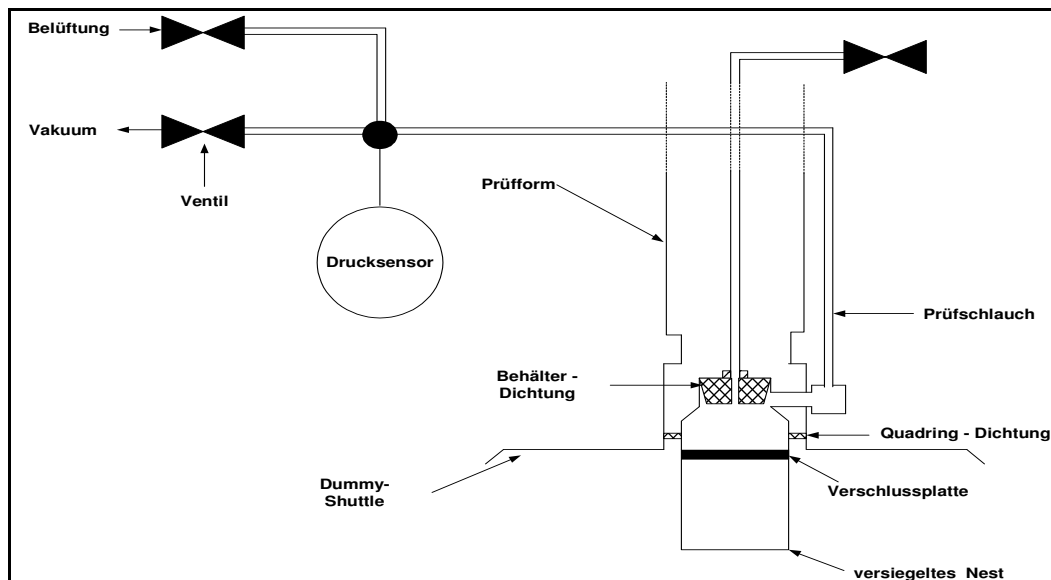


Abb. 7-25 Versuchsanordnung zur Dichtigkeitsprüfung des Messkreises.

8 Ethylenoxid – Sterilisation

8.1 Positionierung der Temperatur- und Feuchte – Datenlogger in den Sterilisationskammern

Um die Temperatur- und Feuchteprofile repräsentativ über den gesamten Sterilisationsprozess (Vorkonditionierung, Sterilisation, Nachkonditionierung) hinweg aufzeichnen zu können, werden die Feuchte – Datenlogger gleichmäßig innerhalb der verschiedenen Kammersysteme verteilt. Abb. 8-1 zeigt die Verteilung der Datenlogger innerhalb der Sterilisationskammer K 1 (24 Datenlogger).

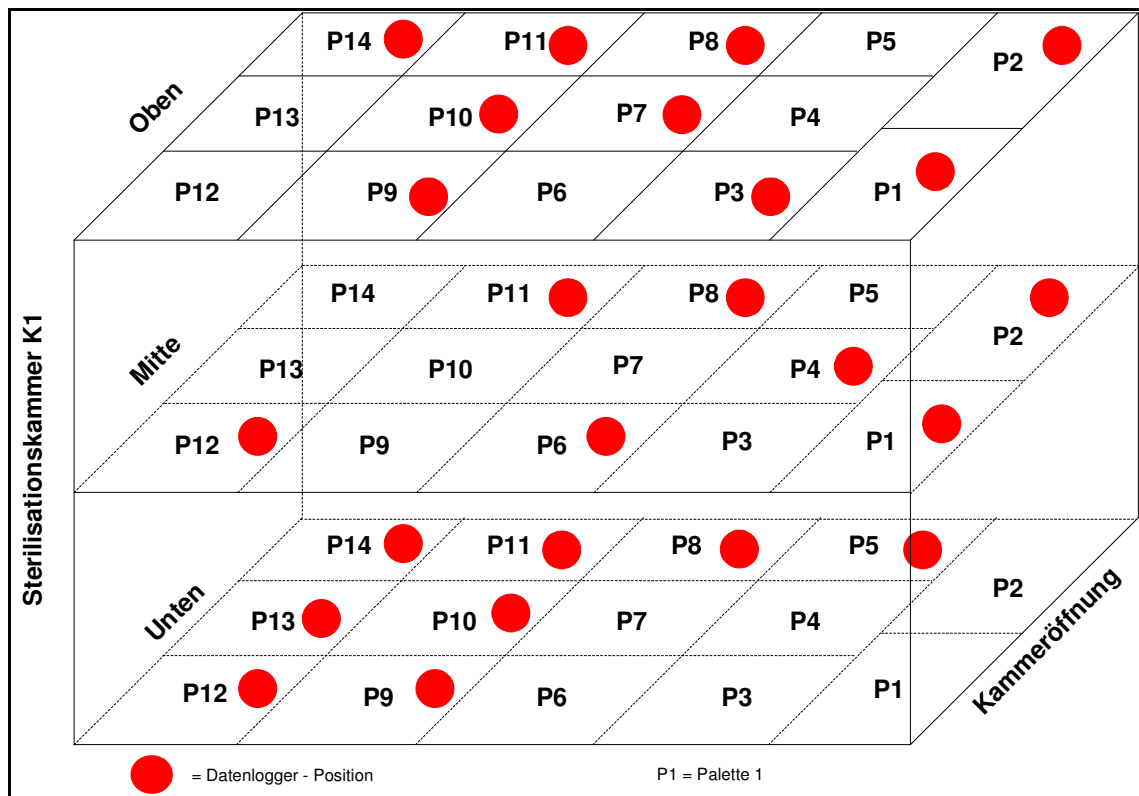


Abb. 8-1 Positionen der Datenlogger in der Sterilisationskammer K1.

8.2 Mikrobiologische Leistungsbeurteilung der Ethylenoxidsterilisation

Um die Wirksamkeit der Ethylenoxidsterilisation bei Anwendung am Kunststoffverschluss bzw. Kunststoffbehälter nachweisen zu können, werden die Sterilisationszyklen mit Bioindikatoren überwacht. Diese werden im Anschluss an die Sterilisation von der Gesellschaft für Produkthygiene und Sterilitätssicherung mbH (Aachen) ausgewertet. Dabei wird neben einem Test auf Wachstum (siehe Kap. 7.7.7) gegebenenfalls auch eine Bestimmung der überlebenden Keime durchgeführt. Die Evaluierung der Sterilisationszyklen erfolgt nach der Halbzyklus - Methode (siehe Kap. 8.2.1). Ausgangspunkt ist bei beiden Bauteilen ein zweistündiger Standard - Halbzyklus der Fa. Rose GmbH (Trier). Die Anzahl und Position der pro Lauf eingesetzten Bioindikatoren variiert in Abhängigkeit zur Kapazität der gewählten Sterilisationskammer (siehe Kap. 6.2).

8.2.1 Die Halbzyklus - Methode

Bei dieser Methode wird zunächst die Mindestzeit evaluiert, bei der es keine überlebenden Keime mehr gibt. Die Bestimmung erfolgt unter Konstanthaltung aller anderen Prozessparameter mit Ausnahme der Zeit. Anschließend wird die ermittelte Mindestzeit mit drei voneinander unabhängigen Sterilisationsläufen validiert. Dabei darf keiner der verwendeten Bioindikatoren Wachstum zeigen. Temperatur, relative Feuchte und Gaskonzentration werden während den Validierungsläufen auf der bzw. unterhalb der unteren spezifizierten Toleranzgrenze gehalten (worst case - Bedingungen). Die dann für die Sterilisationsroutine festgelegte Einwirkzeit sollte mindestens doppelt so lang sein wie die Mindestzeit [24]. Die in der Sterilisationsroutine erreichte Keimreduktionsrate leitet sich von der Ausgangskeimzahl der in der Validierung eingesetzten Bioindikatoren ab. Werden Bioindikatoren mit einer Ausgangskeimzahl von 10^6 KBE beaufschlagt, so resultiert aus der Verdopplung der Einwirkzeit rechnerisch eine Keimreduktionsrate von 12 log Stufen.

8.2.2 Verpackung der Kunststoffbauteile

Für die Sterilisationsversuche werden sowohl der Kunststoffbehälter als auch der Kunststoffverschluss in ein Doppelsterilbeutelsystem verpackt. Dieses besteht aus einem Primär- und einem Sekundärbeutel (siehe Abb. 8-2). Beide Beutel des Herstellers Fa. VPstericlin besitzen eine gas- bzw. dampfdurchlässige Papierseite und eine transparente Folienseite. Die Beutel werden so ineinander gefügt, dass stets die Papierseiten aufeinander liegen. Der Sekundärbeutel dient dem Handling der Ware außerhalb des Reinraumes und erhöht den Schutz vor einer Rekontamination nach Sterilisation. Durch die integrierten Farbindikatoren ist eine Unterscheidung zwischen sterilisierter und nicht sterilisierter Ware möglich. Beim Kunststoffverschluss befinden sich immer 4000 Stück in einem Doppelbeutelsystem. Aufgrund des größeren Volumens muss die Zahl beim Kunststoffbehälter auf 1000 Stück pro Doppelbeutel reduziert werden. Im Fall der Ethylenoxidsterilisation wird die Ware direkt auf der Palette begast. Abb. 8-3 und Abb. 8-4 zeigen das jeweilige Packschema. Bei den Kunststoffverschlässen befinden sich sechs Doppelbeutel in einem Karton und 9 Kartons auf einer Palette. Beim Kunststoffbehälter wird ein großer Palettainer eingesetzt, der 30 Doppelbeutel aufnehmen kann. Diese werden durch Einlegeböden voneinander getrennt.

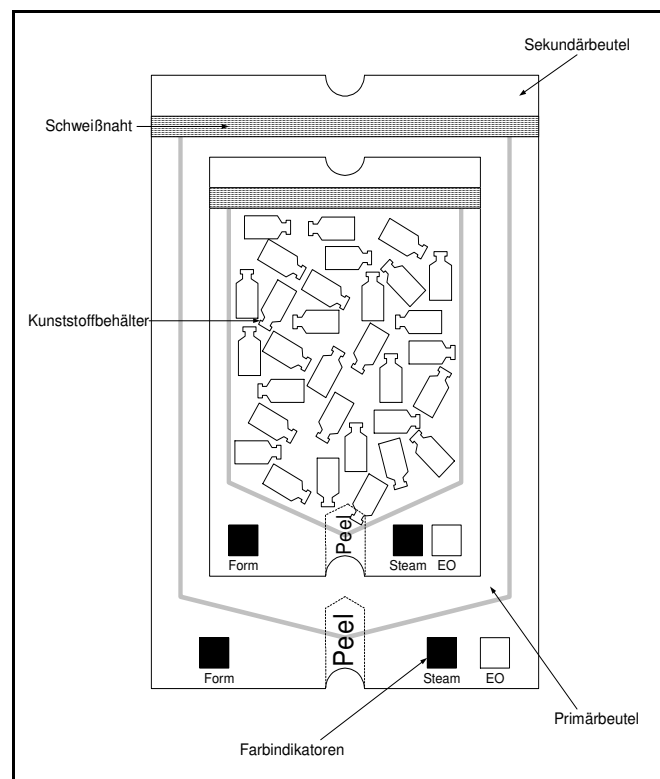


Abb. 8-2 Schematische Darstellung des Doppelbeutelsystems.

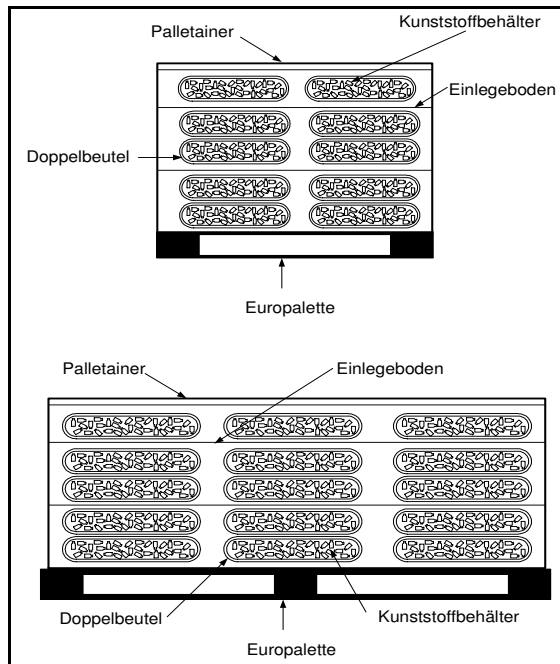


Abb. 8-3 Packschema der Kunststoffbehälter – Paletten während der Sterilisation in einem Gassterilisator.

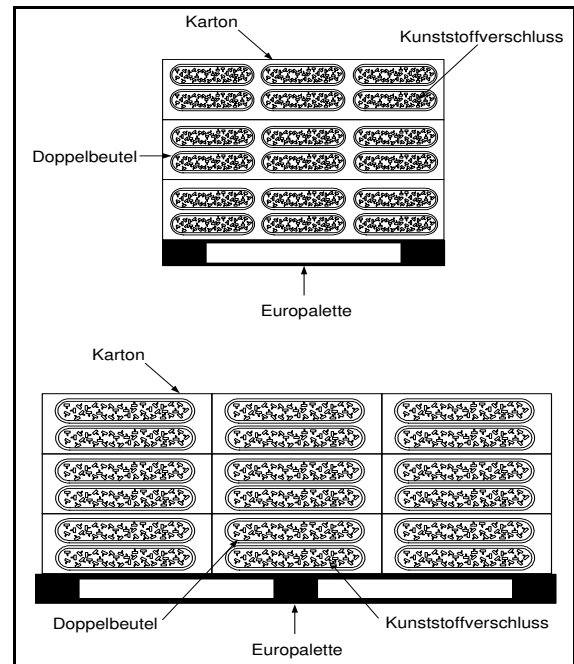


Abb. 8-4 Packschema der Kunststoffverschluss – Paletten während der Sterilisation in einem Gassterilisator.

8.2.3 Positionierung der Bioindikatoren während der Sterilisationsläufe

Bei der Positionierung der Bioindikatoren wird analog den Datenloggern (siehe Kap. 8.1) eine gleichmäßige Verteilung innerhalb der Sterilisationskammern angestrebt. Abb. 8-5 zeigt die für die Sterilisationskammer 1 gewählten Bioindikator – Positionen (Schüttgut und provozierender Prüfkörper).

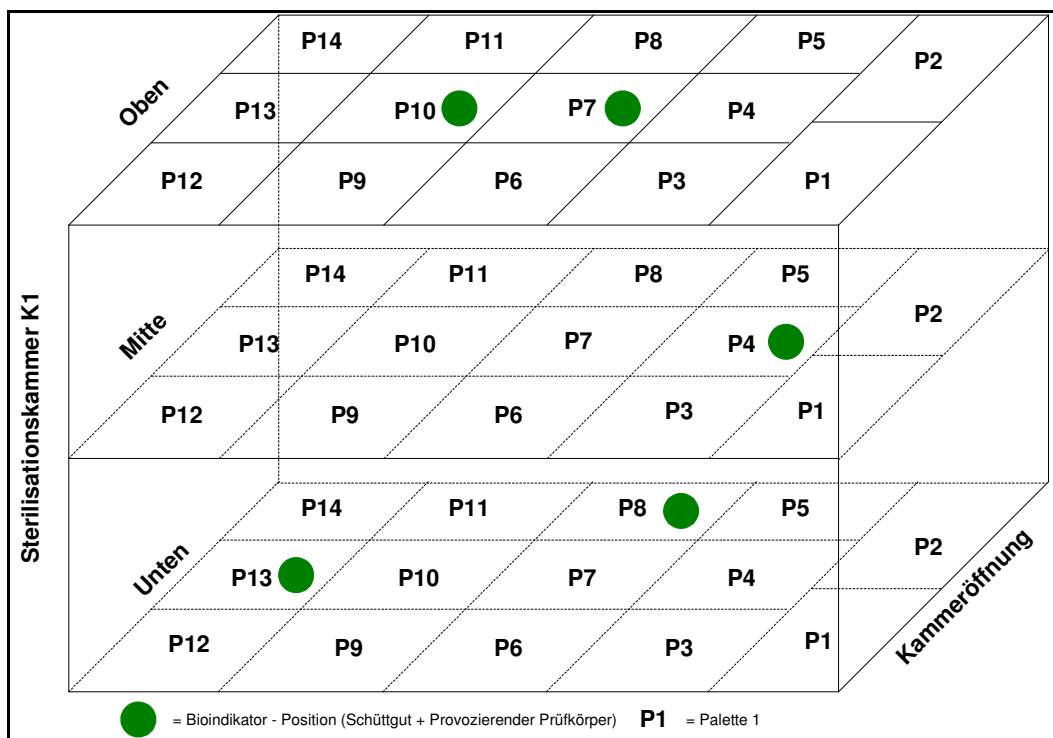


Abb. 8-5 Bioindikator – Positionen in der Sterilisationskammer K1.

Dabei werden die Bioindikatoren entweder direkt dem Schüttwerk beigefügt (siehe Abb. 8-6), in die Zwischenräume der Bauteile hineinpräpariert (siehe Abb. 8-7) oder aber in Verbindung mit einem provozierenden Prüfkörper (siehe Kap.8.2.3.1) platziert. Das Einlegen der Bioindikatoren in die Zwischenräume erfolgt unter einer LF – Einheit mit sterilisiertem Hilfsmaterial. Der Außenbag des Kunststoffbehälters wird im Bereich der Naht aufgebrochen und der Bioindikatorfaden mit einer Pinzette eingeschoben. Dabei darf der Innenbag nicht verletzt werden. Nach dem Einschieben wird der Innenbag aus Richtung der Behälteröffnung wieder vorsichtig an den Außenbag angedrückt. Beim Kunststoffverschluss wird die Dichtung entfernt und nach Platzierung des Bioindikatorstreifens wieder eingelegt. Die Zwischenräume werden als worst case – Bereiche definiert, da das Ethylenoxid zunächst durch die angrenzenden Schichten penetrieren muss.

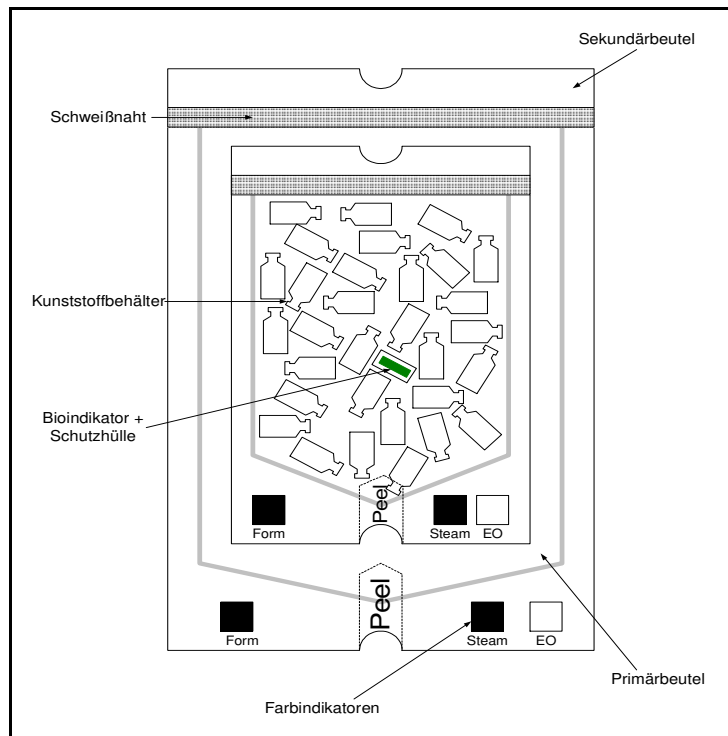


Abb. 8-6 Platzierung der Bioindikatoren im Schüttwerk.

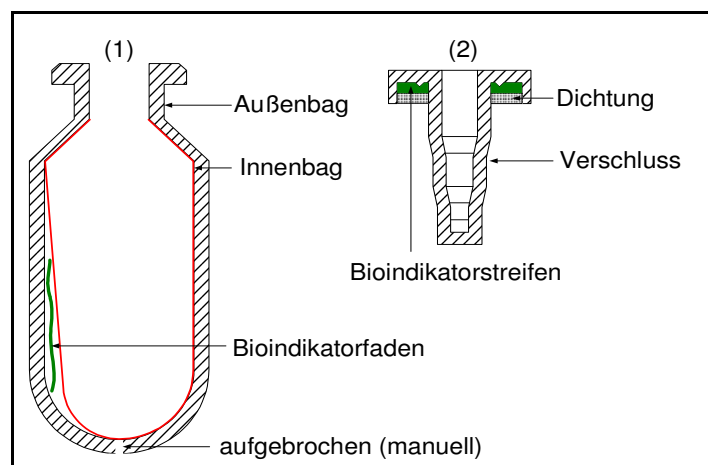


Abb. 8-7 Positionierung der Bioindikatoren in den Zwischenräumen von Kunststoffbehälter (1) und Kunststoffverschluss (2).

Da die Behörden für die Ethylenoxid – Sterilisation eine parametrische Freigabe ausschließen ist jeder Sterilisationslauf im Sinne einer Inprozesskontrolle mit Bioindikatoren zu überwachen [17]. Der Nachweis einer erfolgreichen Sterilisation als Grundlage für die spätere Produktfreigabe ergibt sich folglich aus der Einhaltung der validierten Prozessparameter, sowie der Sterilität aller beigefügten Bioindikatoren. In Abhängigkeit vom nutzbaren Sterilisierkammervolumen definiert der Gesetzgeber eine Mindestmenge an Bioindikatoren, die gleichmäßig in der Sterilisatorbeladung zu verteilen ist [24]:

- Mindestens 20 bei nutzbaren Sterilisierkammervolumen von bis zu 5 m³.
- Die Zahl der biologischen Indikatoren sollte um 2 für jeden zusätzlichen m³, bei nutzbaren Sterilisierkammervolumen zwischen 5 und 10 m³, erhöht werden.
- Die Zahl der biologischen Indikatoren sollte wieder um 2 für jede zusätzliche 2 m³, bei nutzbaren Sterilisierkammervolumen oberhalb 10 m³, erhöht werden.

Für die mikrobiologische Leistungsbeurteilung haben diese Mindestvorgaben zur Konsequenz, das zusätzlich zu den im unmittelbaren Produktkontext stehenden Bioindikatoren (siehe Abb. 8-5) weitere Bioindikatoren innerhalb der Sterilisierkammer zu platzieren sind. Tab. 8-1 gibt die, sich für die eingesetzten Sterilisierkammern ableitenden Mindestmengen an Bioindikatoren wieder.

Tab. 8-1 Normative Mindestmenge an Bioindikatoren für die verwendeten Sterilisierkammern.

Sterilisationskammer	Nutzbare Kammervolumen	Bioindikatoren [St.]
K1	28 m ³ (= 14 Europaletten)	48
K2	36 m ³ (= 18 Europaletten)	56
S05	8 m ³ (= 8 Europaletten)	26

8.2.3.1 Entwicklung eines provozierender Prüfkörpers

Da kommerzielle Bioindikatoren in den worst case - Bereichen nicht positioniert werden können, ohne dass der Abstand zwischen den aufeinander liegenden Flächen künstlich vergrößert wird (siehe Kap. 8.2.3), werden so genannte provozierende Prüfkörper eingesetzt (siehe Abb. 8-8). Darunter versteht die Europäische Norm 550 einen Gegenstand, der den ungünstigsten Fall der Bedingungen simuliert, wie sie für das Sterilisiermittel in den zu sterilisierenden Gütern gegeben sind [24]. Gewählt wird für beide Bauteile eine 20 ml Schraubglasflasche in der ein kommerzieller Bioindikatorstreifen platziert werden kann und die über eine runde Membran nach Außen abgedichtet wird. Für die Membranen wird ein, an den entsprechenden Zwischenraum (siehe Kap. 8.2.3) angrenzendes, Material aus dem jeweiligen Originalbauteil ausgewählt. Aus diesem werden Ronden mit einem Durchmesser von 17 mm ausgestanzt. Da Glas für Ethylenoxid eine unüberwindbare Barriere darstellt, kann eine Abtötung des Bioindikators nur dann erfolgen, wenn ausreichend Gas durch die Membran diffundiert (siehe Abb. 8-8). Analog den Packschemata werden die provozierenden Prüfkörper in ein Doppelsterilbeutelssystem eingeschweißt.

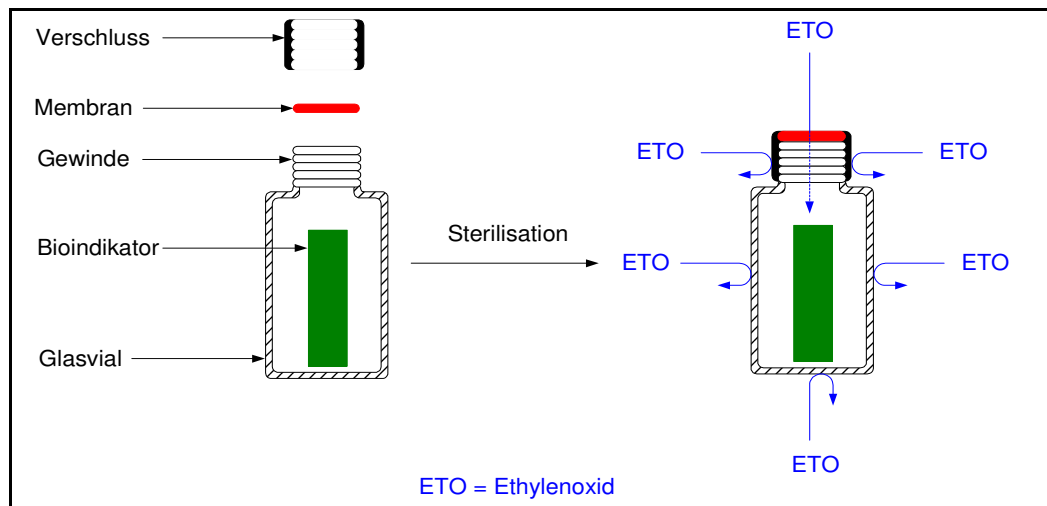


Abb. 8-8 Schematische Darstellung des verwendeten provozierenden Prüfkörpers.

8.2.4 Durchführung des Wachstumstests

Zur Beurteilung des Sterilisationserfolges werden die Bioindikatoren im Anschluss an die Sterilisation einem Test auf Wachstum unterzogen [127].

Hierzu werden die Bioindikatoren aseptisch in flüssiges Caso - Nährmedium überführt und 7 Tage lang bei 30 – 35 °C im Trockenschrank bebrütet. Die Nährmedien werden einmal täglich auf Trübung, als Zeichen von Sporenwachstum, kontrolliert. Um ausschließen zu können, dass das Nährmedium im Vorfeld verkeimt ist bzw. unbehandelte Bioindikatoren nicht zu einer Trübung des Nährmediums führen, wird bei jedem Wachstumstest eine Negativ - bzw. eine Positivkontrolle beigelegt.

8.3 Prüfung auf Veränderungen der Abmessungen

Um feststellen zu können, ob es durch den Sterilisationsprozess zu Veränderungen an den Abmessungen der Kunststoffbauteilen kommt, werden sowohl unbehandelte als auch sterilisierte Muster stichprobenartig vermessen und gegeneinander verglichen. Da es sich bei der Vermessung um eine zerstörerische Prüfung handelt, ist die Bewertung einer einzelnen Stichprobe sowohl vor als auch nach Sterilisation nicht möglich. Die in Tab. 8-2 aufgeführten Merkmale werden erfasst (siehe Abb. 8-9).

Tab. 8-2 Übersicht der untersuchten Merkmale am Kunststoffbehälter und am Kunststoffverschluss.

Bauteil	Merkmal
Kunststoffbehälter	<ul style="list-style-type: none"> • Kragenhöhe • Schichtdicke Innenbehälter • Länge • Durchmesser
Kunststoffverschluss	<ul style="list-style-type: none"> • Gesamthöhe • Innendurchmesser unterhalb Deckelplatte • Außendurchmesser Kanal unterhalb Deckelplatte • Innendurchmesser Kanal am Ausgang • Dicke Silikondichtung

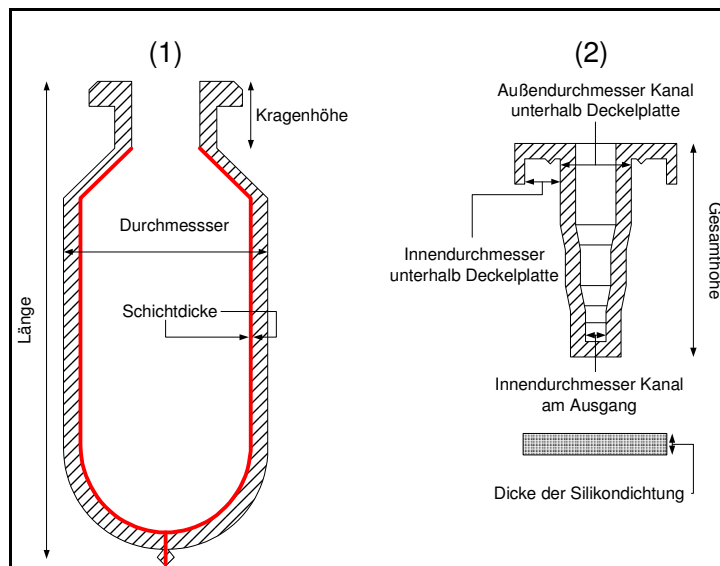


Abb. 8-9 Positionen der untersuchten Merkmale am Kunststoffbehälter (1), Kunststoffverschluss und Silikondichtung (2).

8.4 Untersuchung des Kollabierverhaltens

Ein wichtiges Kriterium für die Qualität des Kunststoffbehälters ist das Kollabierverhalten des Innenbehälters. Dieses wird durch den beim Kollabieren des Innenbehälters entstehenden Unterdruck, der so genannte Kollabierdruck, charakterisiert. Dabei wird zwischen der Trocken- und der Nasskollabierung unterschieden. Um eine Aussage darüber zu erhalten, ob die Ethylenoxidsterilisation Einfluss auf das Kollabierverhalten der Kunststoffbehälter nimmt, werden die Kollabierdrücke unbehandelter und sterilisierter Behälter miteinander verglichen.

8.4.1 Die Bestimmung der Trockenkollabierung

Bei der Trockenkollabierung wird der aufgebrochene und auf dem Kopf stehende Kunststoffbehälter gegen Atmosphäre abgedichtet und luftdicht mit einer Kolbenpumpe verbunden (siehe Abb. 8-10). Diese beansprucht den Kunststoffbehälter mit drei aufeinander folgenden Druckzyklen. Jeder Druckzyklus beginnt mit einer Überdruckphase, die sicherstellt, dass der Innenbehälter sich in einer definierten Ausgangslage befindet (Innenbehälter liegt eng am Außenbehälter an = maximales Volumen). Anschließend wird der Innenbehälter durch eine Unterdruckphase zum Kollabieren gebracht.

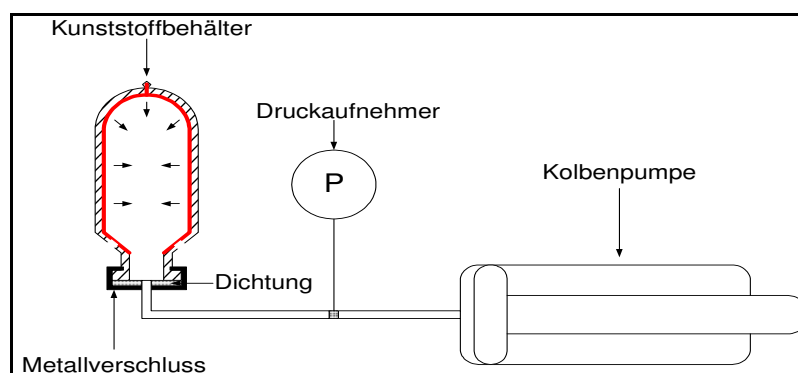


Abb. 8-10 Prinzipieller Versuchsaufbau zur Bestimmung der Trockenkollabierung.

8.4.2 Die Bestimmung der Nasskollabierung

Bei der Nasskollabierung wird der aufgebrochene Behälter zunächst mit destilliertem Wasser gefüllt und anschließend verschlossen. Danach wird der Behälter waagrecht positioniert und über eine Kanüle und einen Schlauch mit einem Druckaufnehmer und einer Spritze verbunden. Mit Hilfe der Spritze werden in einem definierten Intervall immer $15 \mu\text{l}$ Lösung (= Entnahmevolumen pro Hub) aus dem Behälter entnommen (siehe Abb. 8-11).

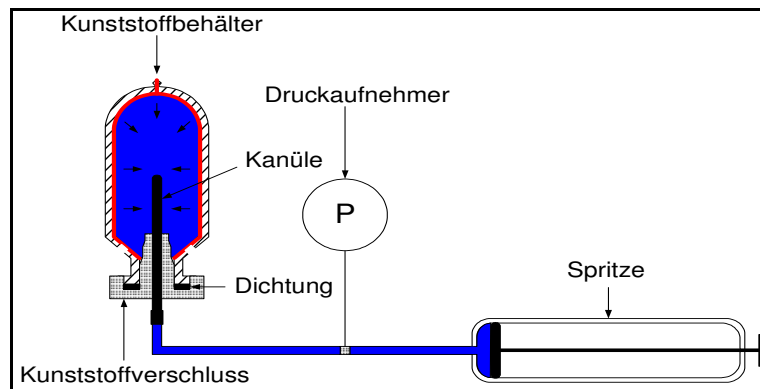


Abb. 8-11 Prinzipieller Versuchsaufbau zur Bestimmung der Nasskollabierung.

8.5 Durchführung der Kräftemessungen

Um feststellen zu können, ob es bedingt durch die Sterilisation der Kunststoffbauteile, zu einer Veränderung der Aufschnapp- bzw. Durchstechkräfte und der axialen Behältersteifigkeit kommt, werden sterilisierte mit unbehandelten Behältern am Erichsen LRX 2K5 (siehe Kap. 6.9) verglichen.

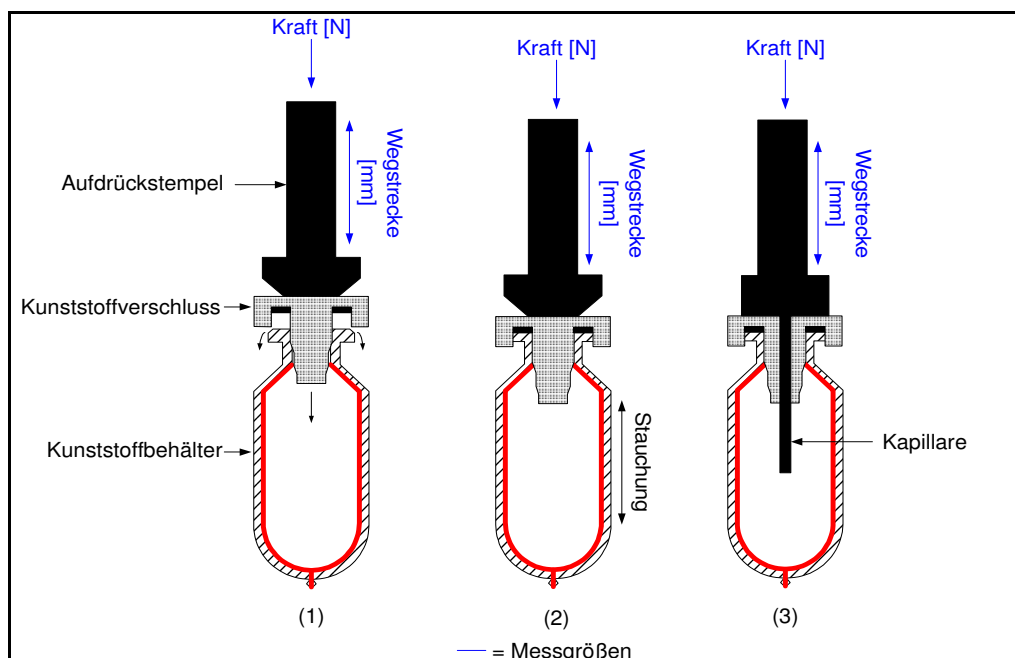


Abb. 8-12 Darstellung des Ablaufs der verschiedenen Kräftemessungen: (1) Schließkraft (2) Axiale Steifigkeit (3) Durchstechkraft.

8.5.1 Ermittlung der Aufschnappkräfte (Schließkräfte)

Gemessen wird die Kraft, die erforderlich ist, den Kunststoffverschluss auf den Kunststoffbehälter aufzuschnappen zu lassen (siehe Abb. 8-12). Dabei wird beim Vergleich der Kunststoffverschlüsse sowohl gegen Original – Kunststoffbehälter, als auch gegen einen Metalldummy geprüft. Bei Verwendung eines Metalldummys wird vor jeder Messungen 0,02 ml Span 85 als Gleitmittel auf die Dichtfläche und den äußeren Rand des Dummys aufgetragen. Tab. 8-3 gibt die eingestellten Messparameter wieder

Tab. 8-3 Messparameter zur Bestimmung der Aufschnappkräfte.

Parameter	Einstellung
Vorlast	2 N
Wegstrecke mit Behälter	3,2 mm
Wegstrecke mit Dummy	2,5 mm
Verfahrensgeschwindigkeit	100 mm/min

8.5.2 Ermittlung der axialen Steifigkeit

Die Aufzeichnung der axialen Steifigkeit (siehe Abb. 8-12) erfolgt bei den Behältermustern in einem Messgang mit der Erfassung der Schließkräfte. Zu diesem Zweck wird die Wegstrecke bei gleich bleibender Vorlast und Verfahrensgeschwindigkeit auf 5,5 mm erhöht.

8.5.3 Ermittlung der Durchstechkräfte

Als zusätzlicher Prüfparameter wird bei den Verschlussmustern die Durchstechkraft bestimmt (Abb. 8-12). Hierbei handelt es sich um die Kraft die aufgewendet werden muss, um eine Kapillare durch den Verschlusskanal zu führen und an dessen Ende ein Kunststoffhäutchen zu durchstoßen. Die verwendete Kapillare wird nach jeder dritten Messung ausgetauscht. Tab. 8-4 gibt die eingestellten Messparameter wieder.

Tab. 8-4 Messparameter zur Bestimmung der Durchstechkräfte.

Parameter	Einstellungen
Vorlast	0,5 N
Wegstrecke Durchstoßen	7,0 mm
Wegstrecke Herausziehen	20 mm
Verfahrensgeschwindigkeit	100 mm/min

8.6 REM – Aufnahmen von sterilisierten Kunststoffverschlüssen

Zum Aufzeigen möglicher struktureller Veränderungen auf der Oberfläche des Kunststoffverschlusses und der Silikondichtung in Folge der Sterilisationsprozesse werden unbehandelte und sterilisierte Bauteile anhand von REM – Aufnahmen einander gegenübergestellt. Die Aufbereitung der Proben erfolgt analog zu den Dichtungen der DDC – Anlage (siehe Kap. 7.8).

8.7 Dichtigkeitsprüfung im Lagertest (Masseverlust)

Um feststellen zu können, ob durch die Einwirkung des Ethylenoxids die Integrität des Innenbags bzw. die Funktion der Silikondichtung beeinträchtigt wird, erfolgt eine Bestimmung des Masseverlustes im Lagertest [128]. Zu diesem Zweck werden fünfhundert unbehandelte und fünfhundert sterilisierte Behälter manuell mit Inhalationslösung A (siehe Kap. 6.10) befüllt und verschlossen. Die befüllten Behälter werden dann für 24 h im Trockenschrank bei 40 °C eingelagert und anschließend gewogen (Konditionierung). Danach werden die Behälter wieder für 96 h im Trockenschrank eingelagert und im Anschluss einer erneuten Gewichtskontrolle unterzogen. Die ermittelten Masseverluste der beiden Behälterqualitäten werden miteinander verglichen. Behälter mit einem Massenverlust > 6 mg/Tag werden als Feinleck eingestuft. Liegt der Massenverlust > 30 mg/Tag handelt es sich um ein Grobleck.

8.8 Untersuchung der Extractables (Extrahierbare Bestandteile)

Die Analyse der extrahierbaren Bestandteile dient dem Aufzeigen von chemischen Veränderungen innerhalb der Zusammensetzung der verwendeten Kunststoffmaterialien. Die Untersuchung der Packmittel erfolgt unmittelbar nach Sterilisation bzw. nach Abschluss des Desorptionsprozesses. Zum Vergleich werden unbehandelte Bauteile analysiert. Für die chromatographischen Extraktionsuntersuchungen werden sowohl die Kunststoffbehälter als auch die Kunststoffverschlüsse in ihre Einzelbestandteile getrennt. Als Extraktionsmittel werden sowohl Ethanol absolut (130 ml) als auch n - Hexan (150 ml) eingesetzt (siehe Tab. 8-6). Extrahiert wird über einen Zeitraum von 24 Stunden. Tab. 8-5 zeigt die dabei eingesetzten Bauteilmengen.

Tab. 8-5 Einwaagen der Packmittel für die erschöpfenden Extraktionen.

Packmittel	Einzelkomponente	Extraktionsmittel	Mengen [g]
Kunststoffbehälter	Außenbehälter	Ethanol	10 – 12,5
	Innenbehälter	Ethanol	3 – 3,5
Kunststoffverschluss	Verschluss	Hexan	6,5 – 8
	Dichtung	Hexan	4 – 5

Im Anschluss an die Extraktion werden die Proben entweder mittels HPLC- oder GC-Methode analysiert. Tab. 8-6 gibt eine Übersicht über die Extractables, auf die geprüft wird. Abb. 8-13 zeigt die zugehörigen Strukturformeln.

Tab. 8-6 Übersicht der eingesetzten Referenzsubstanzen.

Packmittel	Einzelkomponenten	Extractables
Kunststoffbehälter	Außenbehälter	Irganox 1010
	Innenbehälter	Irganox 1010 Alkohol
Kunststoffverschluss	Verschluss	Irganox 1010 Irganox 1076
	Dichtung	Polydimethylsiloxane (PDMS)

Die Additive aus der Irganox – Familie sind Antioxidantien. Als Radikalfänger schützen sie den Kunststoff während der Herstellung, Formgebung, sowie dem späteren Gebrauch vor schädlichen Einflüssen (Alterungsprozess) von Sauerstoff und Wärme [129,130].

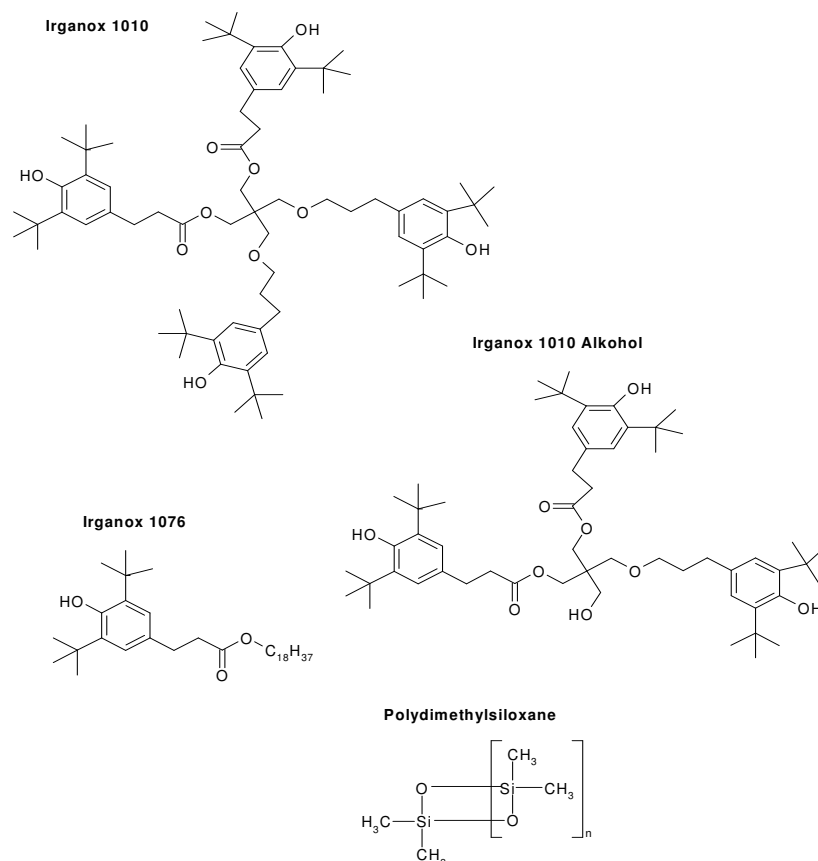


Abb. 8-13 Strukturformeln der Referenzextractables aus dem Kunststoffbehälter und dem Kunststoffverschluss.

8.8.1.1 Analyse der extrahierbaren Bestandteile des Kunststoffbehälters mittels HPLC

Die Extractables werden mittels HPLC aus den Extrakten analysiert [131]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

Probelösung

Die Totalextrakt suspension wird aufgeschüttelt und anschließend filtriert. Das Filtrat wird direkt vermessen.

Pufferlösung

2,8 ml Triethylamin werden mit 2000 ml entionisiertem Wasser versetzt. Mit konzentrierter Phosphorsäure wird der pH – Wert auf 3,0 eingestellt.

Stammlösung A

15 mg Irganox 1010 – Referenzsubstanz werden in 100 ml Acetonitril gelöst.

Standardlösung

5 ml *Stammlösung A* werden mit Acetonitril auf 10 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 50 µl injiziert und mittels eines Gradienten, der sich aus einer mobilen Phase 1 (Acetonitril) und einer mobilen Phase 2 (*Pufferlösung*) im Verhältnis 30/70 zusammensetzt, an einer TSK Gel Super ODS Säule (2 µm; 100 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 40 °C und einer Flussrate von 1 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 220 nm. Die Retentionszeiten von Irganox 1010 Alkohol und Irganox 1010 liegen etwa bei 13,5 bzw. 15,0 min (siehe Abb. 8-14).

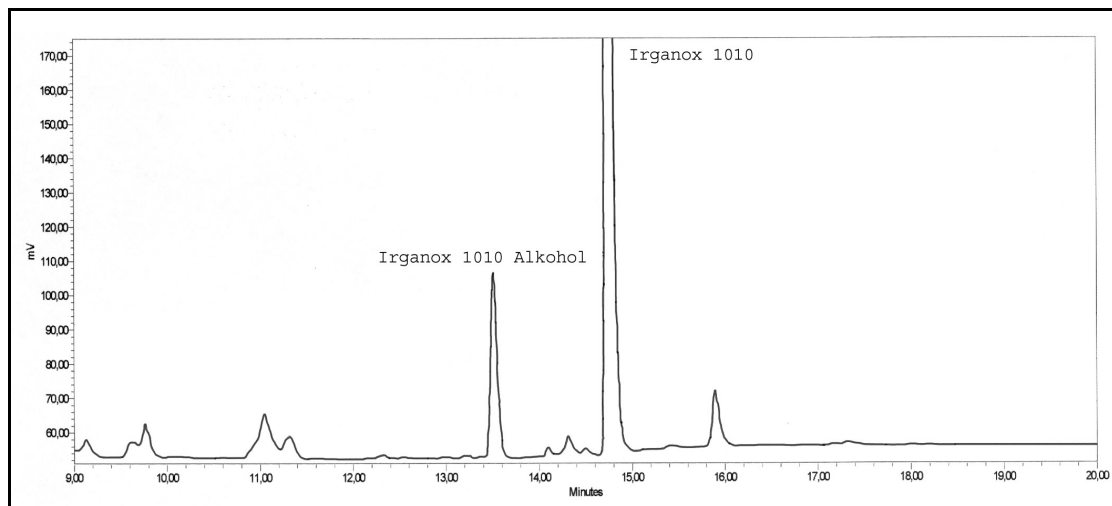


Abb. 8-14 HPLC – Chromatogramm der Extraktionslösung zur quantitativen Bestimmung der extrahierbaren Bestandteile des Kunststoffbehälters.

8.8.1.2 Analyse der extrahierbaren Bestandteile des Kunststoffverschlusses mittels HPLC

Die Extractables werden mittels HPLC aus den Extrakten analysiert [132]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

Probelösung

Die Totalextrakt suspension wird aufgeschüttelt und anschließend filtriert. 2 ml Filtrat werden bei Raumtemperatur unter Stickstoff eingengt. Der Rückstand wird mit 2 ml Acetonitril aufgenommen. Die Lösung wird dekantiert und danach direkt vermessen.

Pufferlösung

2,8 ml Triethylamin werden mit 2000 ml entionisiertem Wasser versetzt. Mit konzentrierter Phosphorsäure wird der pH – Wert auf 3,0 eingestellt.

Stammlösung A

15 mg Irganox 1010 – Referenzsubstanz werden in 100 ml Acetonitril gelöst.

Stammlösung B

10 mg Irganox 1076 – Referenzsubstanz werden in 250 ml Acetonitril gelöst. 5 ml dieser Lösung werden mit Acetonitril zu 10 ml verdünnt.

Standardlösung

5 ml *Stammlösung A* und 2 ml *Stammlösung B* werden mit Acetonitril auf 10 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 50 µl injiziert und mittels eines Gradienten, der sich aus einer mobilen Phase 1 (Acetonitril) und einer mobilen Phase 2 (*Pufferlösung*) im Verhältnis 30/70 zusammensetzt, an einer TSK Gel Super ODS Säule (2 µm; 100 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 40 °C und einer Flussrate von 1 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 220 nm. Die Retentionszeiten von Irganox 1010 Alkohol, Irganox 1010 und Irganox 1076 liegen etwa bei 13,7 min, 15 min bzw. 19 min (siehe Abb. 8-15).

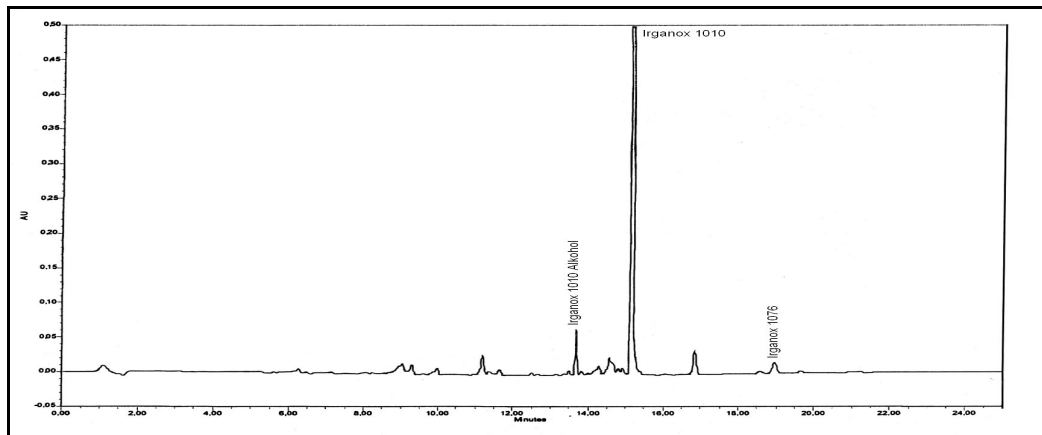


Abb. 8-15 HPLC – Chromatogramm der Extraktionslösung zur quantitativen Bestimmung der extrahierbaren Bestandteile des Kunststoffverschlusses.

8.8.2 Analyse der extrahierbaren Bestandteile der Silikondichtung mittels GC

Zur Bestimmung der Extractables in der Dichtung wird eine GC – Methode eingesetzt [133]. Die Auswertung erfolgt mittels internem Standard [134].

Interne Standardlösung

40 mg Decamethylcyclopentasiloxan (DMCPS) werden in 5 ml Hexan gelöst.

Probelösung mit internem Standard

1 ml Totalextrakt wird mit 40 µl interner Standardlösung.

Chromatographische Bedingungen

Für die GC – Bestimmung wird 1 µl Probelösung direkt injiziert (Injektor – Temperatur 250 °C) und mit Helium als Trägergas (10 psi Vordruck / Split 1:20) an einer Quarzkapillar – Säule Optima delta 6 (0,25 µm; 30m x 0,32 mm), bei einer Ofentemperatur von 40 °C bis 340 °C (Heizrte bis 160 °C = 10 °C/min; Heizrate bis 340 °C = 20 °C/min; Endisotherme = 15 min) temperaturprogrammiert getrennt. Die Detektion erfolgt mittels eines Flammenionisationsdetektors bei einer Temperatur von 380 °C. Die Retentionszeit von DCMPS liegt bei etwa 8 min. Die Retentionszeiten der Polydimethylsiloxane liegen etwa zwischen 18 – 29 Minuten (siehe Abb. 8-16).

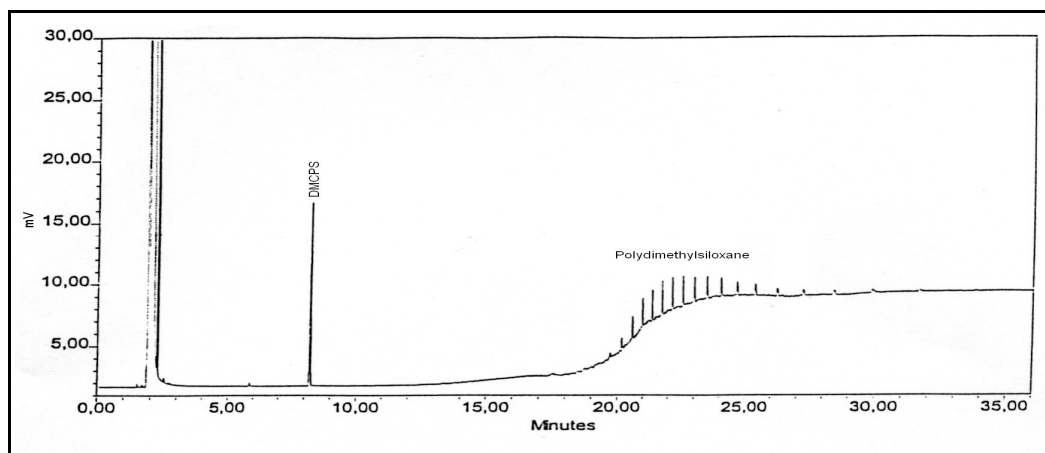


Abb. 8-16 GC – Chromatogramm der Extraktionslösung zur quantitativen Bestimmung der extrahierbaren Bestandteile der Silikondichtung.

8.9 Durchführung von Kompatibilitätsprüfungen zwischen Kunststoffbauteilen und Inhalationslösungen

8.9.1 Definition des Versuchsdesigns

Ein entscheidender Schritt in der Entwicklung eines neuen Arzneimittels ist die Auswahl eines geeigneten Primärpackmittels. Dabei spielt die Verträglichkeit zwischen den eingesetzten Materialien und der Arzneistoffformulierung eine wichtige Rolle. Um eventuelle Wechselwirkungen zwischen dem Primärpackmittel und der Zubereitung aufzeigen und bewerten zu können, werden Kompatibilitätsstudien durchgeführt.

Diese Studien dienen grundsätzlich [135]:

- dem Erkennen der aus den Materialien in die Zubereitungen migrierenden Bestandteile (Leachables).
- der Erfassung von Reaktionen der Wirkstoffe oder Ihrer Zersetzungsprodukte mit dem Primärpackmittel.
- der Charakterisierung möglicher Adsorptions- oder Adsorptionsvorgänge von Wirk- oder Hilfsstoffen im Kontakt mit dem Primärpackmittel.

Kompatibilitätsstudien werden im Hinblick auf Kontaktzeit zwischen Packmittel und Zubereitung, Lagerbedingungen und Mengenverhältnis von Packmittel zur Zubereitung als Stressprüfung ausgelegt. Um beurteilen zu können, ob durch die Sterilisation der RespiMat® - Packmittelkomponenten Inkompatibilitäten zu den verschiedenen Inhalationslösungen entstehen, werden entsprechende Kompatibilitätsstudien durchgeführt. Abb. 8-17 zeigt das zugehörige Versuchsdesign.

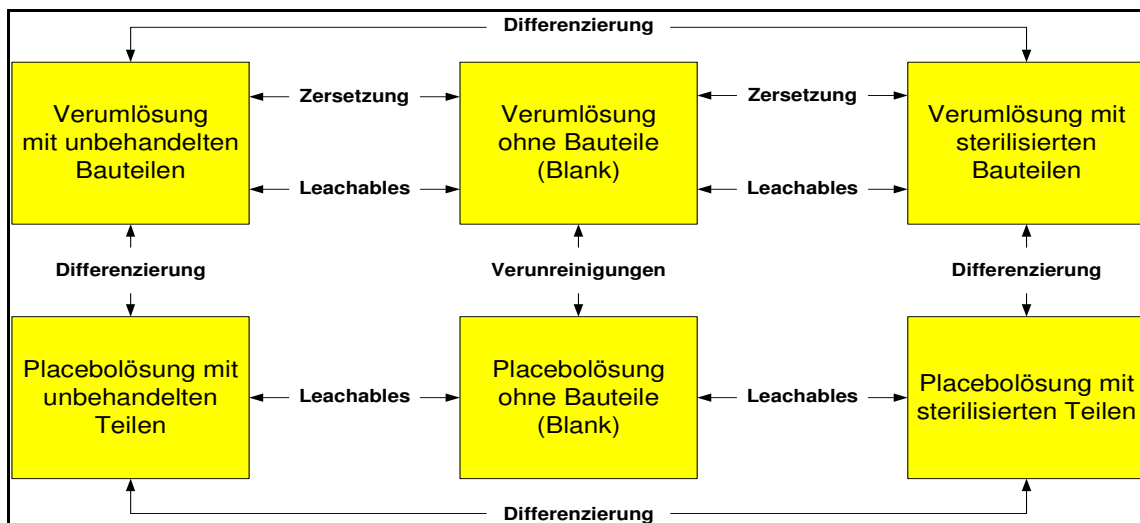


Abb. 8-17 Grafische Darstellung des Versuchsdesigns der Kompatibilitätsstudie [136].

Die Proben werden nach folgenden Prüfpunkten bewertet:

- Farbe der Lösung
- Klarheit der Lösung
- pH - Wert
- Gehalt an Wirk - und Hilfsstoffen
- Wirkstoffzersetzung
- Leachables

8.9.2 Gewählte Sterilisationsverfahren und deren Parameter

Die Kunststoffbehälter und -verschlüsse werden zunächst sterilisiert. Tab. 8-7 fasst die eingesetzten Sterilisationsverfahren und die gewählten Parameter zusammen.

Tab. 8-7 Angewendete Sterilisationsverfahren und der Parameter.

Bauteil	Sterilisationsverfahren	Sterilisationsparameter
Kunststoffbehälter	Ethylenoxidsterilisation	2 x 8h Einwirkzeit ETO-Konzentration 500 mg/l
Kunststoffverschluss	Ethylenoxidsterilisation	2 x 4h Einwirkzeit ETO-Konzentration 460 mg/l
	Plasmasterilisation	2 x 6 Injektionen a 1,8 ml H ₂ O ₂ (58%)
	Strahlensterilisation	1 x 26,8 kGy

Bei allen Verfahren, mit Ausnahme der Strahlensterilisation, wird immer ein Doppelzyklus gefahren. Auf diese Weise wird eine maximale Belastung der Bauteile erreicht.

8.9.3 Herstellung der Inhalationslösungen

Bei allen vier Lösungen wird zunächst die vollständige Menge an gereinigtem Wasser vorgelegt. Danach werden die Wirk- und Hilfsstoffe einzeln unter ständigem Rühren der Lösung eingewogen. Zuletzt wird der pH - Wert mit 1 N HCl eingestellt (siehe Tab. 8-8).

Tab. 8-8 pH - Werte der Inhalationslösungen.

Inhalationslösung	pH - Wert
Inhalationslösung A	3,3
Inhalationslösung B	3,4
Inhalationslösung C	2,9
Placebo - Lösung	2,9

Um ein mögliches Auftreten von Trübungen während der Einlagerung besser zuordnen zu können, werden die Lösungen vorab einer Klärungsfiltration (0,2 µm Porenweite) unterzogen.

8.9.4 Definition der Lagerbedingungen und Lagerzeiten

Alle Proben werden für im Klimaraum bei 40 °C und 75 % relativer Feuchte eingelagert (Stresslagerung). Für die Einlagerung werden die Kunststoffbauteile zunächst zerschnitten und in Glasvials überführt. Anschließend werden die Vials mit der jeweiligen Inhalationslösung befüllt und mit einer Bördelkappe luftdicht verschlossen. Die Mengenverhältnisse werden so gewählt, dass immer eine möglichst große Oberfläche der Bauteile mit den Lösungen in Kontakt kommt (siehe Tab. 8-9).

Auf eine Trennung der Bauteile in Dichtung und Verschluss bzw. in Außen- und Innenbag wird verzichtet.

Tab. 8-9 Mengenverhältnisse zwischen den Bauteilen und den Inhalationslösungen.

Bauteil	Anzahl pro Vial	Zustand des Bauteils	Lösungsvolumen	Ist-Verhältnis (bezogen auf die Oberfläche)	Vialgröße
Kunststoffbehälter	4 Stück	geschnitten (4 Teile)	40 ml	1 : 1	50 ml
Kunststoffverschluss mit Einlage	4 Stück	geschnitten (3 Teile)	10 ml	~ 8 : 1	20 ml

Bevor die ethylenoxid- und plasmasterilisierten Bauteile eingelagert werden, muss der Desorptionsprozess (siehe Kap. 8.10) vollständig abgeschlossen sein. Die Untersuchung der Inhalationslösungen erfolgt nach einer Lagerzeit von einem, drei und sechs Monaten. Der Startwert (A – Wert) wird an der Placebo – Lösung unmittelbar nach ihrer Herstellung ermittelt. Die Placebo – Lösung dient als Referenz für diejenigen Proben, die während der Einlagerung mit den Kunststoffbauteilen in Kontakt stehen.

8.9.5 Bestimmung der Farbe der Lösung

Die Farbe der Lösungen wird als Stufe der Farbskala Braun der Europäischen Pharmakopöe ermittelt [137]. Die automatische Bestimmung der Farbzahl erfolgt als Einzelmessung unter der Verwendung eines Farbmessgerätes. Vor jeder Messreihe erfolgt ein Blindwertabgleich.

8.9.6 Bestimmung der Klarheit der Lösung

Die Klarheit der Lösungen wird gegen Referenzsuspensionen unter Einsatz eines Trübungsphotometers bestimmt. Dazu werden zunächst die Referenzsuspensionen 0/1, 0/2, 0/3, 0/4, I und II vermessen. Anschließend wird der Wert der Probelösung ermittelt und der am nächsten liegenden Referenzsuspension zugeordnet. Die Referenzsuspensionen werden wie folgt hergestellt [138, 139]:

Hydrazinsulfat – Lösung

1 g Hydrazinsulfat wird in entionisiertem Wasser zu 100,0 ml gelöst. Die Lösung wird 4 bis 6 Stunden lang stehen gelassen.

Methenamin – Lösung

2,5 g Methenamin werden in 25,0 ml entionisiertem Wasser gelöst.

Opaleszenz – Stammsuspension

25,0 ml der *Hydrazinsulfat – Lösung* werden mit der *Methenamin – Lösung* gemischt und 24 Stunden lang stehen gelassen. Die Suspension wird vor ihrer Verwendung geschüttelt.

Opaleszenz – Referenzsuspension

15,0 ml *Opaleszenz – Stammsuspension* werden mit entionisiertem Wasser zu 1000,0 ml verdünnt. Die Suspension wird immer frisch hergestellt und maximal 24 Stunden lang eingesetzt.

Referenzsuspensionen

Die *Referenzsuspensionen* werden gemäß der Tab. 8-10 hergestellt. Zunächst wird das entsprechende Volumen der *Opaleszenz – Referenzsuspension* vorgelegt und anschließend mit entionisiertem Wasser aufgefüllt. Die Herstellung erfolgt unmittelbar vor ihrer Verwendung.

Tab. 8-10 Mengenverhältnisse bei der Herstellung der Referenzsuspensionen.

Referenzsuspension	0/1	0/2	0/3	0/4	I	II
Opaleszenz – Referenzsuspension	1,0 ml	2,0 ml	3,0 ml	4,0 ml	5,0 ml	10,0 ml
Entionisiertes Wasser	99,0 ml	98,0 ml	97,0 ml	96,0 ml	95,0 ml	90,0 ml

8.9.7 Bestimmung des pH-Wertes der Lösung

Die pH – Wert – Bestimmung erfolgt potentiometrisch bei einer Temperatur zwischen 20 und 25 °C.

8.9.8 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes und der Zersetzungsprodukte der Inhalationslösung A

8.9.8.1 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes mittels HPLC

Der Ipratropiumbromid - und Fenoterol – Gehalt in den Probelösungen wird mittels HPLC bestimmt [140]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

Probelösung

5 ml Lösung werden mit 0,01 M Salzsäure zu 50 ml verdünnt. 7 ml dieser Lösung werden anschließend mit 0,01 M Salzsäure zu 50 ml verdünnt

Pufferlösung

2,0 g Di-ammoniumhydrogenphosphat werden in 1000 ml entionisiertem Wasser gelöst und mit konzentrierter Phosphorsäure auf einen pH – Wert von 2,0 eingestellt.

Standardlösung

50 mg Fenoterol- und 21 mg Ipratropiumbromid- Referenzsubstanz werden mit 0,01 M Salzsäure zu 100 ml gelöst. 6 ml dieser Lösung werden mit 0,01 M Salzsäure zu 50,00 ml verdünnt

Chromatographische Bedingungen

Es werden 20 µl injiziert und mit einer isokratischen mobilen Phase bestehend aus 920 ml *Pufferlösung* und 80 ml Acetonitril (ACN) an einer TSK Gel Super ODS Säule (2 µm; 100 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 40°C und einer Flussrate von 2,0 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 280 nm (bis 4 min) und einer Wellenlänge von 210 nm (ab 4 min). Die Retentionszeiten von Fenoterol und Ipratropiumbromid liegen bei etwa 2,5 bzw. 9,8 min (siehe Abb. 8-18).

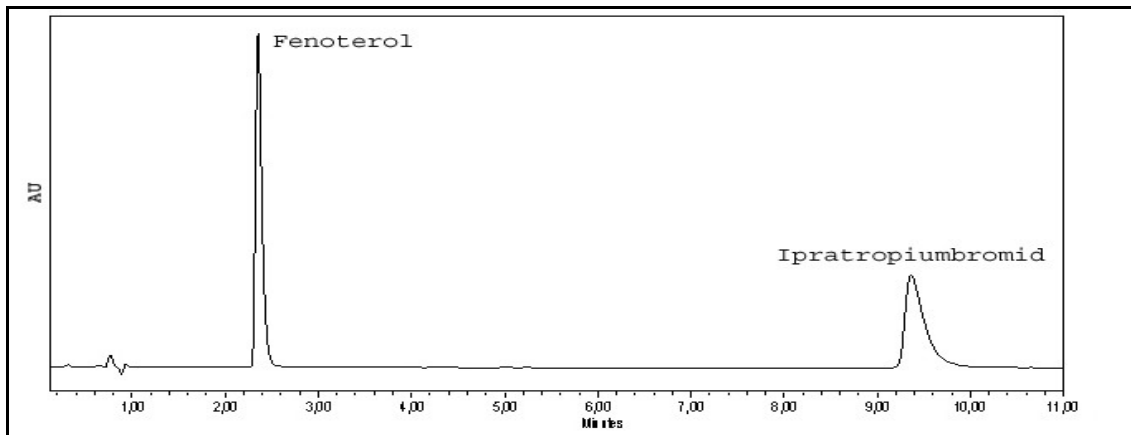


Abb. 8-18 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung des Wirkstoffgehaltes an Ipratropiumbromid und Fenoterol in der Inhalationslösung A. Ipratropiumbromid – Konzentration der Probelösung = 1,82 mg/ml. Fenoterol – Konzentration der Probelösung = 4,5 mg/ml.

8.9.8.2 Quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte mittels HPLC

Die quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte (ZSP) von Ipratropiumbromid und Fenoterol erfolgt mittels HPLC [140]. Ausgewertet wird nach der Methode des externen Standards.

Probelösung

6 ml Lösung werden mit mobiler Phase zu 25 ml verdünnt. 7 ml dieser Lösung werden mit mobiler Phase zu 25 ml verdünnt.

Pufferlösung

2,2 g Heptansulfonsäure – Natriumsalz Monohydrat und 3,0 g Di – Ammoniumhydrogenphosphat werden in 1000 ml Wasser gelöst und mit konzentrierter Phosphorsäure auf einen pH – Wert von 2,4 eingestellt.

Stammlösung A

6 mg der Fenoterol – ZSP 1 – Referenzsubstanz werden in 100 ml 0,01 M Salsäure gelöst.

Stammlösung B

4,8 mg der Ipratropiumbromid – ZSP 1 – Referenzsubstanz werden in 200 ml 0,01 M Salsäure gelöst.

Standardlösung

Zu 60 mg Fenoterol- und 24 mg Ipratropiumbromid- Referenzsubstanz werden in einem 200 ml Messkolben je 5 ml der *Stammlösungen A* und *B* zupipettiert und mit mobiler Phase bis zur Marke aufgefüllt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 20 µl injiziert und mit einer isokratischen mobilen Phase bestehend aus *Pufferlösung* und Acetonitril (840 ml / 160 ml) an einer Inertsil ODS Säule (3,5 µm; 250 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 35 °C und einer Flussrate von 2,0 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 210 nm.

Die Retentionszeiten von Fenoterol – ZSP 1 und Ipratropiumbromid – ZSP 1 liegen bei 3,3 bzw. 5,6 min. Die Retentionszeit für Benzalkoniumchlorid liegt bei 6,7 min. Die Retentionszeiten von Fenoterol und Ipratropiumbromid liegen bei etwa 10,8 bzw. 34,1 min (siehe Abb. 8-19).

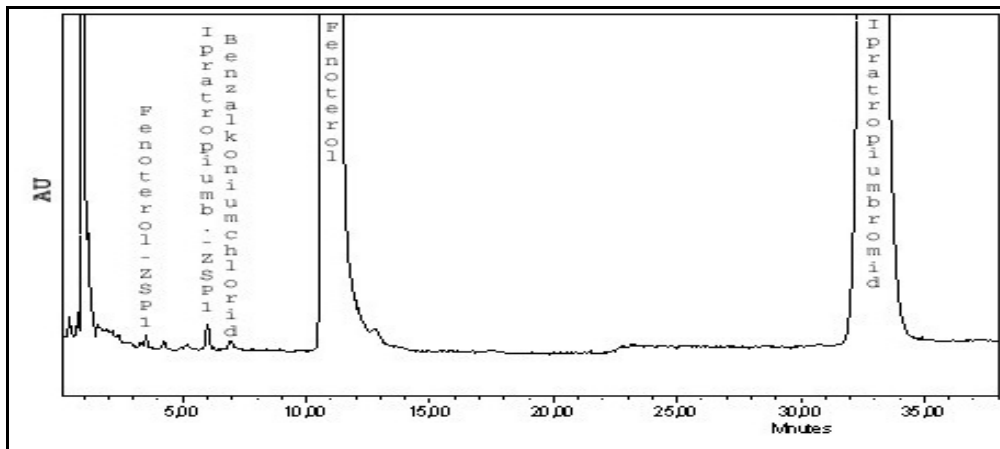


Abb. 8-19 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung der Zersetzungsprodukte der in der Inhalationslösung A enthaltenen Wirkstoffe Ipratropiumbromid und Fenoterol.

8.9.9 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes und der Zersetzungsprodukte der Inhalationslösung B

8.9.9.1 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes mittels HPLC

Der Ipratropiumbromid - und Salbutamol – Gehalt in den Probelösungen wird mittels HPLC bestimmt [138]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

Matrixlösung

5000 mg Natriumedetat und 100 mg Benzalkoniumchlorid werden in 950 ml Wasser gelöst. Mit 0,1 mol/l Salzsäure wird der pH – Wert auf 3,4 eingestellt und mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Probelösung

11 ml Lösung werden mit *Matrixlösung* auf 50 ml verdünnt.

Pufferlösung A

1,0 ml Trifluoressigsäure wird mit entionisiertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Anschließend wird der pH - Wert mit 40% - iger Natronlauge (NaOH) auf 2,5 eingestellt.

Pufferlösung B

1,0 ml Trifluoressigsäure wird mit Acetonitril auf 1000 ml aufgefüllt

Standardlösung

19,3 mg Ipratropiumbromid- und 116,3 mg Salbutamol- Referenzsubstanz werden in 25 ml *Matrixlösung* gelöst. 5 ml dieser Lösung werden mit *Matrixlösung* zu 200 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 25 µl injiziert und mittels eines Gradienten, der sich aus einer mobilen Phase 1 (950 ml *Pufferlösung A* / 50 ml *Pufferlösung B*) und einer mobilen Phase 2 (400 ml *Pufferlösung A* / 600 ml *Pufferlösung B*) zusammensetzt, an einer Waters Symmetry C8 Säule (5,0 µm; 250 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 37 °C und einer Flussrate von 1 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch mittels eines Zweikanaldetektors bei Wellenlängen von 220 und 278 nm.

Die Retentionszeiten von Salbutamol und Ipratropiumbromid liegen etwa bei 14,9 und 44,7 min (siehe Abb. 8-20).

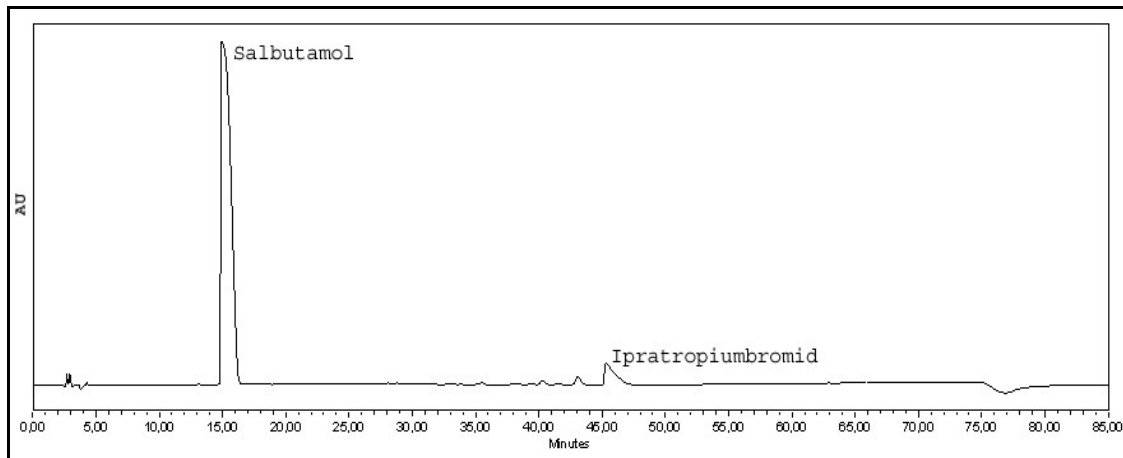


Abb. 8-20 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung des Wirkstoffgehaltes an Ipratropiumbromid und Salbutamol in der Inhalationslösung B. Ipratropiumbromid – Konzentration der Probelösung= 3,55 mg/ml. Salbutamol – Konzentration der Probelösung= 17,6 mg/ml.

8.9.9.2 Quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte mittels HPLC Zersetzung

Die quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte erfolgt gemäß der im Kap. 8.9.9 beschriebenen HPLC – Methode. Es ergibt sich folgende Änderung in der Zusammensetzung der *Standardlösung*.

Stammlösung A

12,1 mg der Salbutamol – ZSP 1 – Referenzsubstanz werden in 5 ml *Matrixlösung* gelöst.

Stammlösung B

9,7 mg der Salbutamol – ZSP 2 – Referenzsubstanz werden in 5 ml *Matrixlösung* gelöst.

Stammlösung C

9,7 mg der Salbutamol – ZSP 3 – Referenzsubstanz werden in 25 ml *Matrixlösung* gelöst.

Stammlösung D

11,6 mg der Ipratropiumbromid – ZSP 1 – Referenzsubstanz werden in 10 ml *Matrixlösung* gelöst.

Standardlösung

19,3 mg Ipratropiumbromid- und 116,3 mg Salbutamol- Referenzsubstanz werden zusammen mit 250 µl der *Stammlösung A*, 1 ml der *Stammlösung B*, 250 µl der *Stammlösung C* und 100 µl der *Stammlösung D* mit *Matrixlösung* zu 25 ml verdünnt. 5 ml dieser Lösung werden mit *Matrixlösung* zu 200 ml verdünnt. Die Retentionszeiten von Salbutamol – ZSP 2, - ZSP 3 und - ZSP 1 liegen bei etwa 32,6 min, 40,1 min und 42,6 min. Die Retentionszeiten von Ipratropiumbromid – ZSP 2 und – ZSP 1 liegen bei 33,6 bzw. 69,2 min (siehe Abb. 8-21).

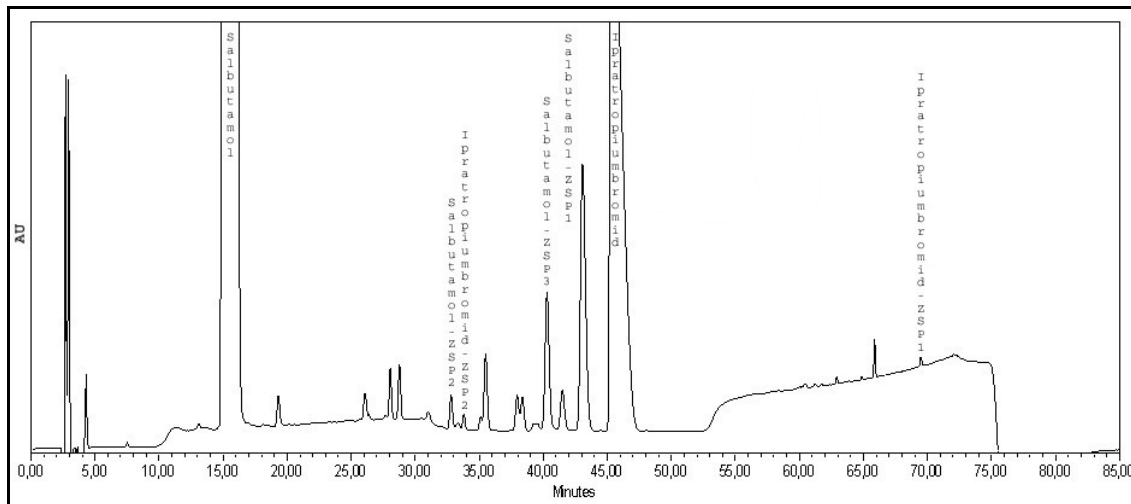


Abb. 8-21 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung der Zersetzungsprodukte der in der Inhalationslösung A enthaltenen Wirkstoffe Ipratropiumbromid und Salbutamol.

8.9.10 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes und der Zersetzungsprodukte der Inhalationslösung C

8.9.10.1 Quantitative Bestimmung des Wirkstoffgehaltes mittels HPLC

Mittels HPLC wird der Gehalt an Tiotropium in den Probelösungen bestimmt [141]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

EDTA / HCL – Lösung

25 mg EDTA – Dinatriumsalz werden in einem Messkolben mit ca. 950 ml Wasser gelöst. 10 ml 1 mol/l Salzsäure zugesetzt und auf 1000 ml Wasser aufgefüllt.

Probelösung

3 ml Lösung werden mit EDTA / HCL – Lösung zu 25 ml verdünnt.

Pufferlösung

1,79 g Heptansulfonsäure – Natriumsalz – Monohydrat werden in 1000,0 ml Wasser gelöst. Mit Phosphorsäure wird der pH – Wert auf 3,2 eingestellt.

Standardlösung

25 mg Tiotropium – Referenzsubstanz werden in 50 ml EDTA / HCL – Lösung gelöst. 10 ml dieser Lösung werden mit EDTA / HCL – Lösung zu 100 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 10 µl injiziert und mit einer mobilen Phase aus *Pufferlösung* und Acetonitril (700 ml / 300 ml) an einer LiChrospher 60 RP Säule (5 µm; 125 x 4,0 mm), bei einer Säulentemperatur von 25°C und einer Flussrate von 2,0 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 240 nm. Die Retentionszeit von Tiotropium liegt bei etwa 3,3 min (siehe Abb. 8-22).

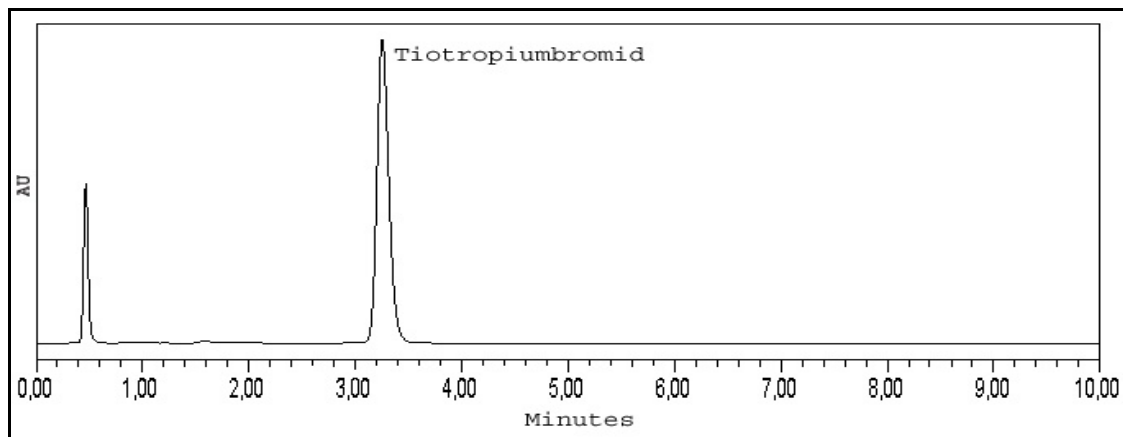


Abb. 8-22 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung des Wirkstoffgehaltes an Tiotropium in der Inhalationslösung C. Tiotropium - Konzentration der Probelösung = 0,46 mg/ml.

8.9.10.2 Quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte mittels HPLC

Die quantitative Bestimmung der Zersetzungsprodukte von Tiotropium erfolgt mittels HPLC [141]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

EDTA / HCL – Lösung

25 mg EDTA – Dinatriumsalz werden in einem Messkolben mit ca. 950 ml Wasser gelöst. 10 ml 1 mol/l Salzsäure zugesetzt und auf 1000 ml Wasser aufgefüllt.

EDTA / HCL / ACN – Lösung

EDTA / HCL – Lösung wird mit Acetonitril im Verhältnis 1:1 gemischt.

Probelösung

3 ml Lösung werden mit EDTA / HCL / ACN – Lösung zu 25 ml verdünnt.

Pufferlösung

5,44 g Kaliumhydrogenphosphat + 3,40 g Tetrabutylammoniumhydrogensulfat werden in 2000,0 ml entionisiertem Wasser gelöst. Mit Phosphorsäure wird ein pH – Wert von 2,7 eingestellt.

Stammlösung A

27,29 mg Tiotropium - ZSP 1- Referenzsubstanz werden in 100 ml 0,01 mol/l Salzsäure gelöst.

Stammlösung B

25 mg Tiotropium - ZSP 2- Referenzsubstanz werden in 100 ml 0,01 mol/l methanolischer Salzsäure gelöst.

Standardlösung

2 ml Stammlösung A und 2 ml Stammlösung B werden zusammen pipettiert und mit EDTA / HCL – Lösung zu 100 ml verdünnt. 5 ml dieser Lösung werden mit EDTA / HCL – Lösung zu 50 ml verdünnt. 5 ml dieser zweiten Lösung werden mit EDTA / HCL – Lösung zu 100 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 50 µl injiziert und mit einer mobilen Phase aus 600 ml Pufferlösung und 400 ml Acetonitril an einer LiChrospher 60 RP Säule (5 µm; 125 x 4,0 mm), bei einer Säulentemperatur von 25°C und einer Flussrate von 2,0 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 240 nm (bis 10,5 min) und einer Wellenlänge von 320 nm (ab 10,5 min).

Die Retentionszeiten von ZSP 1 und ZSP 2 liegen bei etwa 4,5 bzw. 14,2 min (siehe Abb. 8-23).

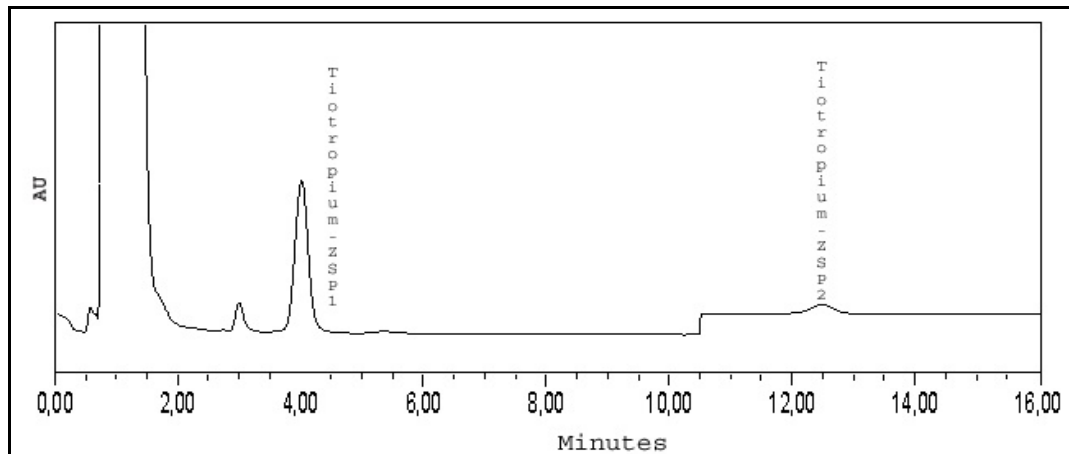


Abb. 8-23 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung der Zersetzungsprodukten des in der Inhalationslösung C enthaltenen Wirkstoffes Tiotropiumbromid.

8.9.11 Quantitative Bestimmung des Benzalkoniumchlorid – Gehaltes in den Inhalationslösungen

Der Benzalkoniumchlorid – Gehalt in den Probelösungen wird mittels HPLC bestimmt [141]. Die Auswertung erfolgt nach der Methode des externen Standards.

Probelösung

5,00 ml Lösung werden mit mobiler Phase zu 50,00 ml verdünnt.

Pufferlösung pH 2,5

1 ml Triethylamin werden mit 1000,0 ml entionisiertem Wasser versetzt. Mit Phosphorsäure wird der pH – Wert auf 2,5 eingestellt.

Vergleichslösung

20,00 mg Benzalkoniumchlorid – Referenzlösung (bezogen auf die wasserfreie Substanz) werden mit wässriger Lösung (pH – Wert 3,4) zu 200,00 ml gelöst. 5,00 ml dieser Lösung werden mit mobiler Phase zu 50,00 ml verdünnt

Chromatographische Bedingungen

Es werden 50 µl injiziert und mit einer mobilen Phase bestehend aus Pufferlösung pH 2,5 und Acetonitril (500 ml / 80 ml) an einer LiChrospher 100 CN Säule (5 µm; 125 x 4,0 mm), bei einer Säulentemperatur von 25°C und einer Flussrate von 2,0 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV – photometrisch bei einer Wellenlänge von 215 nm. Die Retentionszeiten der C₁₂H₂₅ – Komponente und der C₁₄H₂₉ – Komponente liegen bei etwa 3,6 bzw. 4,4 min (siehe Abb. 8-24).

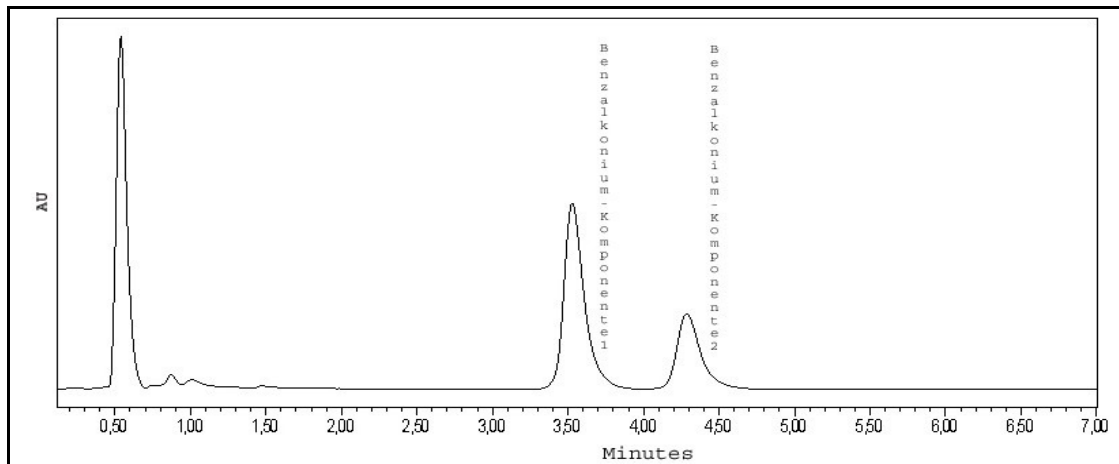


Abb. 8-24 HPLC – Chromatogramm der Probelösung zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes an Benzalkoniumchlorid in der Placebolösung. Benzalkoniumchlorid – Konzentration der Probelösung = 0,1 mg/ml.

8.9.12 Titrimetrische Bestimmung des Natriumedetat – Gehaltes

Die Gehaltsbestimmung von Natriumedetat erfolgt titrimetrisch [140].

Indikatorlösung

50 mg Dithizon werden in 100 ml Methanol gelöst

Maßlösung

0,002 M Zinksulfat

Vergleichlösung

50,00 mg Natriumedetat werden mit Wasser zu 100,0 ml gelöst.

Durchführung der Bestimmung (Titration)

5,00 ml der Probelösung werden mit 50,00 ml Methanol und 0,2 ml Indikatorlösung versetzt. Die Titration mit Zinksulfatlösung erfolgt mit dem Farbumschlag von dunkelviolett nach lila.

8.9.13 Prüfung auf Leachables (Migrierende Bestandteile)

Um zu untersuchen, ob Bestandteilen der Kunststoffbauteilen während der Sterseinlagerung in die Inhalationslösungen migrieren, wird die Placebolösung auf bekannte Leachables analysiert. Tab. 8-11 gibt eine Übersicht über die potentiellen Leachables nach denen gesucht wird.

Tab. 8-11 Übersicht der potentiellen Leachables.

Packmittel	Inhalationslösung	Leachables
Kunststoffbehälter	Placebolösung	DMCPS
		Leachables 1 - 3
Kunststoffverschluss mit Einlage		Irganox 1010
		Irganox 1076
		Polydimethylsiloxane

8.9.13.1 Quantitative Bestimmung der migrierenden Bestandteile des Kunststoffbehälters mittels GC

Die Leachables werden mittels Gaschromatographie bestimmt [141]. Die Auswertung erfolgt mittels internem Standard.

Interne Standardlösung

37,5 mg Hexadecan werden in Methyl-tert.butylether (MTBE) zu 100 ml gelöst.

Extraktionslösung

1 ml *interne Standardlösung* werden in MTBE zu 50 ml verdünnt.

Probelösung

5 ml Lösung, 1 ml 10%ige Natriumchlorid (NaCl) – Lösung und 1 ml 1 mol/l HCl werden in einen Scheidetrichter pipettiert. Anschließend wird die wässrige Lösung mit 2 ml *Extraktionslösung* extrahiert.

Stammlösung

45 mg DMCPs – Referenzsubstanz, 45 mg Leachable 1 – Referenzsubstanz, 45 mg Leachable 2 – Referenzsubstanz, 45 mg Leachable 3 – Referenzsubstanz und 45 mg Irganox 1076 werden in einen 100 ml Messkolben eingewogen. Anschließend wird der Messkolben mit MTBE bis zur Eichmarke aufgefüllt.

Chromatographische Bedingungen

Für die GC – Bestimmung wird 1 µl Probelösung direkt injiziert (Injektor – Temperatur 280 °C) und mit Helium als Trägergas (7 psi Vordruck / Splitless) an einer Quarzkapillar – Säule Ultra 1 (0,17 µm; 25 m x 0,32 mm), bei einer Ofentemperatur von 40 °C bis 330 °C (Heizrate = 10 °C/min; Endisotherme = 10 min) temperaturprogrammiert getrennt. Die Detektion erfolgt mittels eines Flammenionisationsdetektors bei einer Temperatur von 330 °C. Die Retentionszeiten von DMCPs und Hexadecan liegen bei etwa 8,1 und 13,7 min. Die Retentionszeiten von Leachable 1, Leachable 2 und Leachable 3 liegen bei etwa 14,7 min, 17,7 min und 19,7 min. Die Retentionszeit von Irganox 1076 liegt bei etwa 29,2 min (siehe Abb. 8-25).

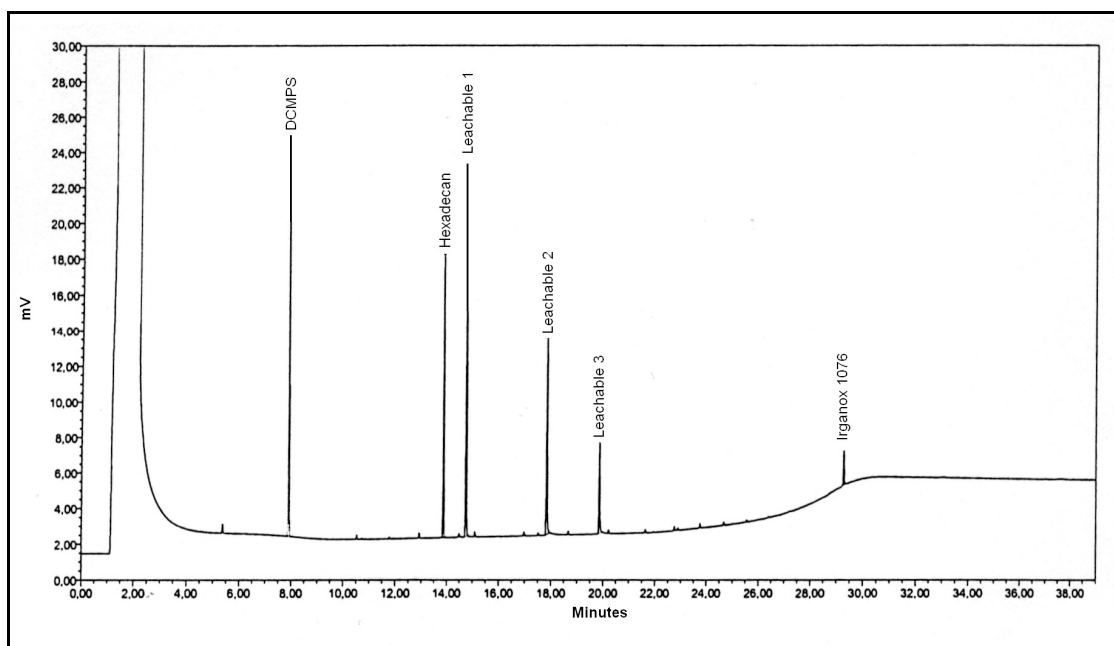


Abb. 8-25 GC – Chromatogramm der Kalibrierlösung zur quantitativen Bestimmung der Leachables.

8.9.13.2 Quantitative Bestimmung der migrierenden Bestandteile des Kunststoffverschlusses mittels HPLC

Bestimmt werden die Leachables mit einer HPLC - Methode [142]. Die Auswertung erfolgt mittels externem Standard.

Probelösung

Die Lösung wird direkt vermessen.

Pufferlösung

2,8 ml Triethylamin werden mit 2000 ml entionisiertem Wasser versetzt. Mit konzentrierter Phosphorsäure wird der pH - Wert auf 3,0 eingestellt.

Stammlösung A

10 mg Irganox 1010 - Referenzsubstanz werden in 250 ml Acetonitril gelöst.

Stammlösung B

10 mg Irganox 1076 - Referenzsubstanz werden in 250 ml Acetonitril gelöst.

Standardlösung

2 ml *Stammlösung A* und 1 ml *Stammlösung B* werden mit Acetonitril auf 200 ml verdünnt.

Chromatographische Bedingungen

Es werden 50 µl injiziert und mittels eines Gradienten, der sich aus einer mobilen Phase 1 (Acetonitril) und einer mobilen Phase 2 (*Pufferlösung*) zusammensetzt, an einer TSK Gel Super ODS Säule (2 µm; 100 x 4,6 mm), bei einer Säulentemperatur von 40 °C und einer Flussrate von 1 ml / min getrennt. Die Detektion erfolgt UV - photometrisch bei einer Wellenlänge von 220 nm. Die Retentionszeit von Irganox 1010 und Irganox 1076 liegen etwa bei 15 min bzw. 19 min (siehe Abb. 8-15).

8.9.13.3 Quantitative Bestimmung der migrierenden Bestandteile der Silikondichtung mittels GC

Die Leachables werden mittels Gaschromatographie bestimmt [142]. Die Auswertung erfolgt mittels internem Standard.

Interne Standardlösung

40 mg DMCPDS wird in Methyl-tert.butylether (MTBE) zu 100 ml gelöst.

Probelösung

5 ml Lösung, 1ml 10%ige Natriumchlorid (NaCl) - Lösung und 1 ml 1 mol/l HCl werden in einen Scheidetrichter pipettiert. Anschließend wird die wässrige Lösung dreimal mit MTBE (5 ml/ 2ml / 2ml) extrahiert. Die MTBE - Extraktionslösung wird mit Stickstoff eingengt. Danach werden 40 µl der *internen Standardlösung* zupipettiert.

Chromatographische Bedingungen

Für die GC - Bestimmung wird 1 µl Probelösung direkt injiziert (Injektor - Temperatur 280 °C) und mit Helium als Trägergas (7 psi Vordruck / Split 1:20) an einer Quarzkapillar - Säule Ultra 1 (0,17 µm; 25 m x 0,32 mm), bei einer Ofentemperatur von 40 °C bis 330 °C (Heizrate = 10 °C/min; Endisotherme = 10 min) temperaturprogrammiert getrennt. Die Detektion erfolgt mittels eines Flammenionisationsdetektors bei einer Temperatur von 380 °C. Die Retentionszeit von Decamethylcyclopentasiloxan liegt bei etwa 8 min. Die Retentionszeiten der Polydimethylsiloxane liegen etwa zwischen 18 - 29 Minuten (siehe Abb. 8-16).

8.10 Ermittlung der Desorptionskinetik

Ein Originalgebilde Kunststoffbehälter bzw. Kunststoffverschlüsse wird zweimal hintereinander mit Ethylenoxid beaufschlagt und anschließend zum Ausgasen unter Quarantäne eingelagert. Einmal wöchentlich wird eine Probe auf mögliche Rückstände an Ethylenoxid (ETO), Ethylenchlorhydrin (ETC) und Ethylenglykol (ETG) untersucht (siehe Kap. 8.10.1). Gezogen werden die Muster immer aus der Mitte des Gebindes (siehe Abb. 8-26). Der Transport der Probe erfolgt in einer Kühlbox.

Die Erfassung der Desorptionskinetik erfolgt nach einem Doppelzyklus, um sicherzustellen, dass das Begasungsunternehmen in der Produktionsroutine die Möglichkeit hat bei einem Sterilisationsabbruch das Bauteil in einem zweiten Sterilisationsgang erneut zu behandeln, ohne dass die Gefahr einer Überschreitung der zulässigen Restgaskonzentration in Folge der Doppelsterilisation besteht.

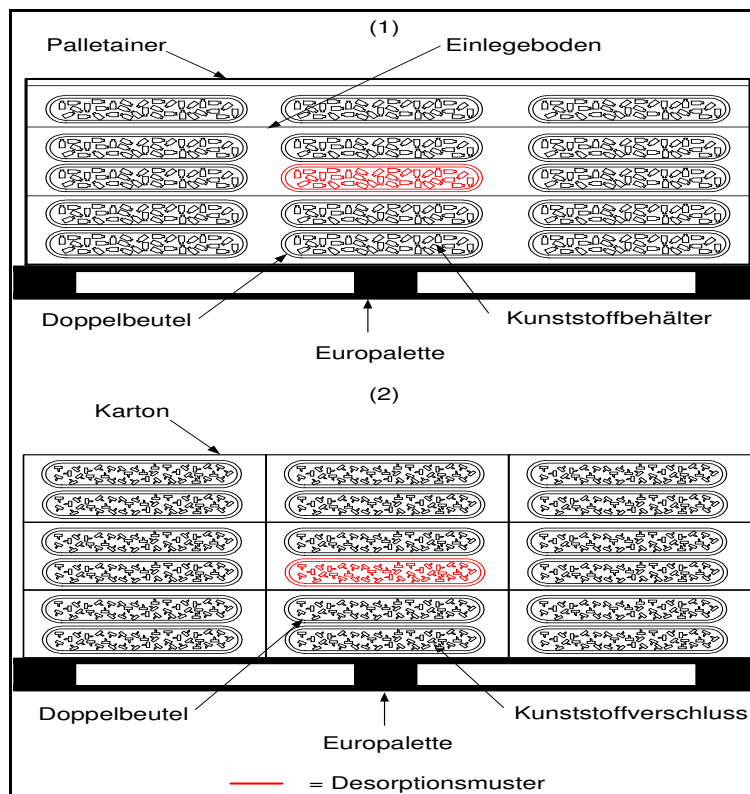


Abb. 8-26 Position der Desorptionsmuster innerhalb der Packschemata für Kunststoffbehälter (1) und Kunststoffverschlüsse (2).

8.10.1 Durchführung der Rückstandsanalytik

Die Bestimmung des Ethylenoxids und die seiner möglichen Reaktionsprodukte Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol (siehe Abb. 8-27) wird im Anschluss an die erschöpfende wässrige Extraktion der Kunststoffbauteile mittels Gaschromatographie und Flammenionisationsdetektion (FID) vorgenommen.

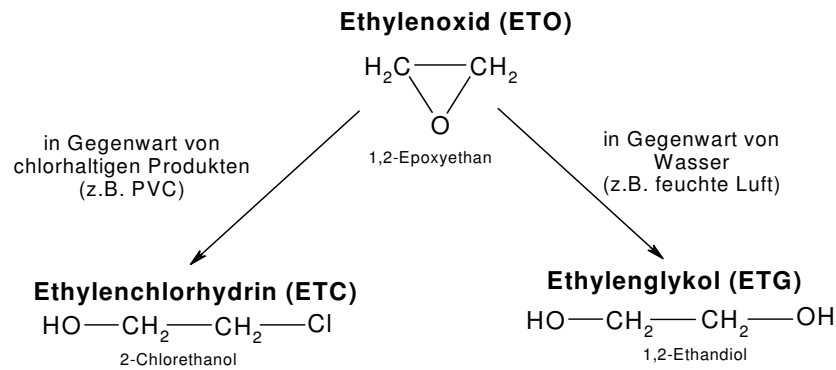


Abb. 8-27 Übersicht der Sterilisationsrückstände Ethylenoxid, Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol.

Entsprechend den Anforderungen der EN ISO 10993-7.3 [143] werden die wässrigen Extraktionen dann als erschöpfend angesehen, wenn die Analyse einer weiteren Extraktion höchstens 10 % des Gehaltes der ersten Extraktion aufweist. Während bei der quantitativen Bestimmung von Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol das Migrat direkt injiziert wird, kommt bei der Erfassung des Ethylenoxids die Headspace – Technik zum Einsatz. Bei dieser Methode wird die Probe eine bestimmte Zeit lang in einer dicht verschlossenen Headspace – Flasche (siehe Abb. 8-28) bei erhöhter Temperatur thermostatisiert. Auf diese Weise wird ein Teil der leichtflüchtigen Bestandteile verdampft und es entsteht ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen der flüssigen und der Dampfphase. Die Probe wird mittels einer temperierten gasdichten Spritze aus dem Dampfraum entnommen. Die Quantifizierung erfolgt jeweils gegen Kalibrierkurven, die durch Reinstandards ermittelt werden.

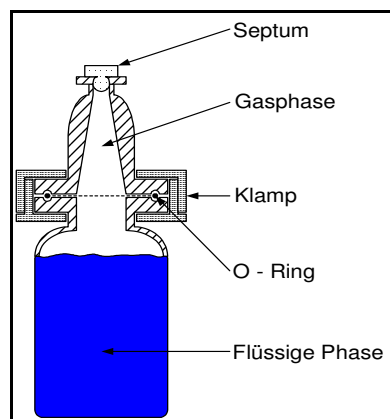


Abb. 8-28 Schematische Darstellung einer bei der quantitativen Bestimmung von Ethylenoxid eingesetzten Headspace – Flasche [143].

8.10.1.1 Aufbereitung der ethylenoxidsterilisierten Proben

Je 3 Kunststoffbehälter (ca. 6 g) bzw. 20 Kunststoffverschlüsse (ca. 12 g) werden grob zerkleinert, in ein Glasvial eingewogen und mit 20 ml destilliertem Wasser überschichtet. Danach wird das Glasvial mit einem Stopfen aus teflonbeschichtetem Butylgummi und einer Bördelkappe aus Aluminium verschlossen und vierundzwanzig Stunden bei 40 °C temperiert. Nach Ablauf der achtzehnstündigen Extraktion wird die Probe im Kühlschrank abgekühlt und anschließend das Migrat in GC – Samplerfläschchen überführt. Für die Direktinjektion von Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol werden Glasvials (1 ml) verwendet. Für die Bestimmung von Ethylenoxid werden 2 ml Migrat in 10 ml Headspace – Flaschen eingewogen. Das restliche Migrat wird als Rückstellmuster in separaten Flaschen eingelagert. Danach werden die Kunststoffbehälter einer zweiten und dritten Extraktion unterzogen. Bei gleicher Temperatur wird die Extraktionszeit auf jeweils zwei Stunden reduziert.

8.10.1.2 Quantitativen Bestimmung der Rückstände an Ethylenoxid, Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol mittels GC

Ethylenoxid [144]

Nach einer 25 minütigen Thermostatisierung der Headspace – Flasche bei 80°C wird für die GC – Bestimmung 1 ml Probe aus dem Gasraum mit einer temperierten Spritze entnommen und direkt injiziert (Injektor – Temperatur von 200 °C) und mit Helium als Trägergas (1,5 bar Vordruck / Split 1:50) an einer Kapillar – Säule DB – 1 (1,0 µm; 60m x 0,32 mm) bei einer Ofentemperatur von 45 °C isotherm getrennt. Die Detektion erfolgt mittels eines Flammenionisationsdetektors bei einer Temperatur von 280 °C. Die Retentionszeit von Ethylenoxid liegt bei etwa 3,3 Minuten (siehe Abb. 8-29).

Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol [144]

Für die GC – Bestimmung wird 2 µl Migrat (siehe Kap. 8.10.1) direkt injiziert (Injektor – Temperatur von 250 °C) und mit Helium als Trägergas (14 psi Vordruck / Split 1:50) an einer Kapillar – Säule DB – FFAP (0,5 µm; 30m x 0,53 mm) bei einer Ofentemperatur von 60 °C bis 210 °C (Heizrate = 8 °C / min; Endisotherme = 5 min) temperaturprogrammiert getrennt. Die Detektion erfolgt mittels eines Flammenionisationsdetektors bei einer Temperatur von 280 °C. Die Retentionszeiten von Ethylenglykol und Ethylenchlorhydrin liegen bei etwa 5,3 bzw. 8,9 Minuten (siehe Abb. 8-30).

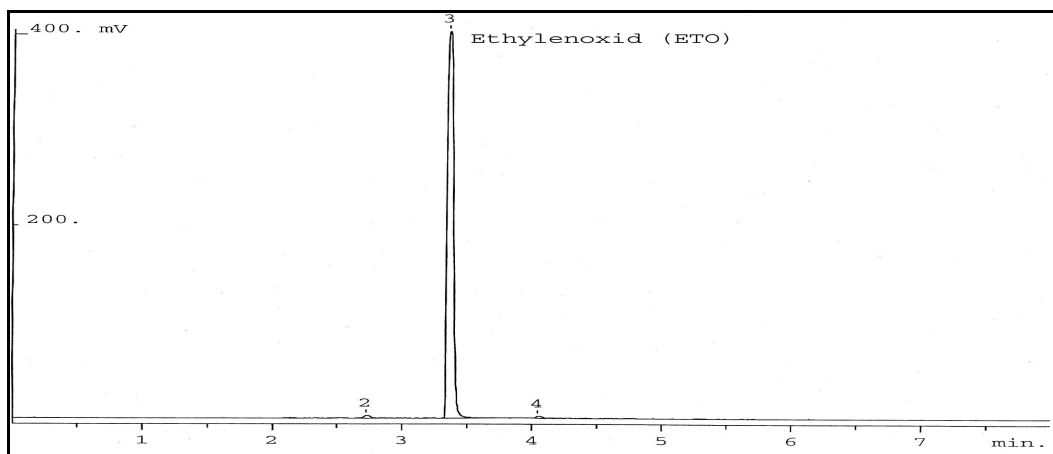


Abb. 8-29 GC – Chromatogramm des wässrigen Migrats zur quantitativen Bestimmung des Ethylenoxidgehaltes. Die Ethylenoxidkonzentration des Migrats liegt bei µg/ml.

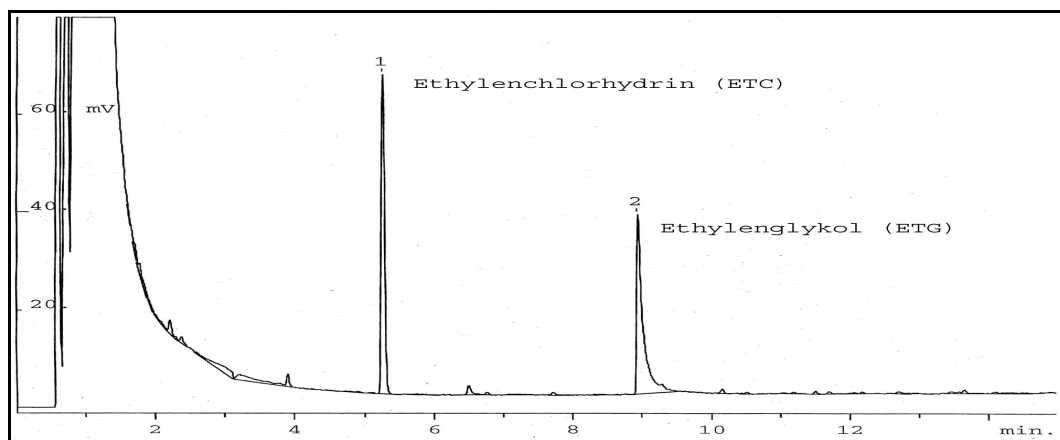


Abb. 8-30 GC – Chromatogramm des wässrigen Migrats zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes an Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol. Die Ethylenchloridkonzentration des Migrats liegt bei 9 µg/ml. Die Ethylenglykolkonzentration des Migrats liegt bei 13 µg/ml.

Ergebnisse und Diskussion

9 Wasserstoffperoxid – Sterilisation (VPHP)

9.1 Auswahl und Qualifizierung geeigneter Bioindikatoren

Die amerikanische Pharmakopöe lässt verschiedene Testkeime zum mikrobiologischen Monitoring der VPHP – Technologie zu (siehe Kap. 4). Von diesen zur Auswahl stehenden Keimen hat sich in Untersuchungen *Bacillus stearothermophilus* als besonders resistent gegenüber H_2O_2 in der Gasphase erwiesen (siehe Tab. 9-1) [57]. Entsprechend werden für die nachfolgenden Versuche kommerzielle Bioindikatoren auf Basis dieses Testkeims eingesetzt (siehe Kap. 5.9).

Tab. 9-1 Überlebensrate verschiedener Mikroorganismen in Abhängigkeit zur Dauer der Einwirkung von gasförmigen H_2O_2 auf verschiedene Mikroorganismen [57].

Testkeim	Einwirkzeit			
	0 [min]	1 [min]	1,5 [min]	2,0 [min]
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	$1,4 \times 10^{6a}$	$4,3 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^1$
<i>Bacillus subtilis</i>	$1,7 \times 10^6$	0	0	0
<i>Clostridium sporogenes</i>	$4,6 \times 10^6$	0	0	0

^a Anzahl überlebender Keime (KBE)

9.1.1 Bestimmung der Wiederfindungsrate verschiedener BI - Chargen

Nach der Identitätsprüfung wird zunächst an den einzelnen BI - Chargen eine Keimzahlbestimmung (siehe Kap. 7.7.6) durchgeführt. Dabei zeigen alle untersuchten Chargen eine Wiederfindungsrate größer als 50 % und können somit für die weiteren Versuche verwendet werden (siehe Tab. 9-2).

Tab. 9-2 Ergebnisse der Keimzahlbestimmung bei verschiedenen Bioindikatorchargen.

BI - Charge	Keimzahl gemäß Zertifikat [KBE]	Ermittelte Keimzahl [KBE]	Wiederfindungsrate [%]
H0610	$3,4 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	62
H1071	$2,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	54
H2350	$3,5 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	60
H3530	$2,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	77

9.1.2 Untersuchung des Resistenzverhaltens im Entwicklungsisolator

Zur Untersuchung des Resistenzverhaltens der Bioindikatoren wird unter Anwendung des LSKP – Verfahrens eine D – Wert – Abschätzung durchgeführt (siehe Kap. 7.7.1.1). Die Beaufschlagung der Bioindikatoren mit Wasserstoffperoxid erfolgt im Entwicklungsisolator. Dieser gewährleistet validierte Referenzzyklen mit hoher Reproduzierbarkeit, so dass der Isolator als „*Biological Indicator Evaluator Resistometer*“ (BIER) für VPHP eingestuft werden kann [145]. Abb. 9-1 zeigt den Verlauf des verwendeten Referenzzyklus graphisch.

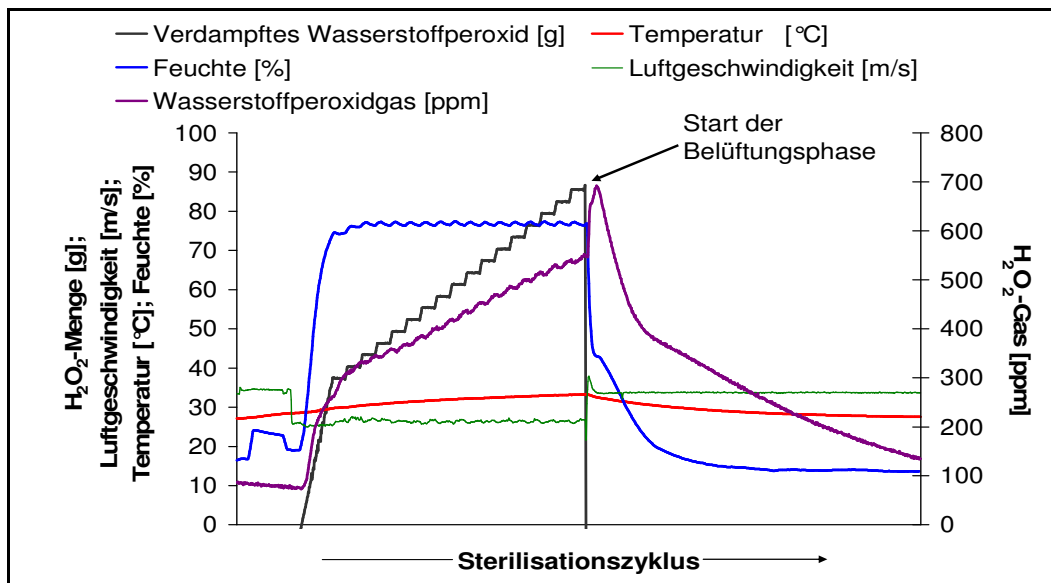


Abb. 9-1 H_2O_2 – Referenzzyklus im Entwicklungsisolator.

9.1.2.1 Resistenzverhalten kommerzieller Bioindikatoren

Die Reactive Pattern Tab. 13-1 und Tab. 13-2 geben die Ergebnisse der Wachstumskontrolle sowie den berechneten D – Wert für zwei der verwendeten BI – Chargen wieder. Bei beiden BI – Chargen sind die drei Teilabschnitte Überlebenszeit, Fraktionales Feld und Abtötungszeit klar erkennbar (siehe Schraffierungen). Es zeigt sich ein dem Überlebensmodell entsprechendes Verhalten. Die geringe Ausprägung des Fraktionales Feldes ist auf die reduzierte Gruppengröße zurückzuführen [34]. Aufgrund der Modellkonformität kann anhand der LSKP – Formel ein D – Wert abgeschätzt und von der Eignung der Bioindikatoren für die Zyklusentwicklung ausgegangen werden.

9.1.2.2 Resistenzverhalten direktbeimpfter Träger

Die Fähigkeit *Bacillus stearothermophilus* mit gasförmigem Wasserstoffperoxid auf Stahloberflächen erfolgreich abtöten zu können, kann unmittelbar aus den mit den kommerziellen BI (Stahlplättchen; siehe Kap. 5.9.1.1) erzielten Ergebnissen abgeleitet werden [81]. Ob das Resistenzverhalten der kommerziellen Bioindikatoren gegenüber VPHP auch repräsentativ für das Verhalten kontaminierter Schlauchoberflächen ist, soll ein Vergleich zu direktbeimpften Trägern aus Schlauchmaterial zeigen. Beimpft werden Träger, die aus den original Polyethylen- und Polyurethanschläuchen (PU) der DDC – Anlage herauspräpariert werden (siehe Kap. 7.7.5). Während die direktbeimpften PE – Träger Modellverhalten zeigen und sich ein zu den kommerziellen Bioindikatoren vergleichbarer D-Wert ergibt, weichen die PU – Träger deutlich ab (siehe Tab. 13-3 und Tab. 13-4). Das Überlebensfenster der PU – Träger ist stark ausgeprägt und es besteht der Verdacht, dass auch nach 97 min noch Wachstum auftreten könnte. Um diese Ergebnisse zu verifizieren, werden weitere Versuche an den direktbeimpften Trägern vorgenommen. Aufgrund des bereits bekannten fraktionales Feldes der PE – Träger, kann eine Gegenprobe nach dem LSMCP – Verfahren durchgeführt werden (siehe Kap. 7.7.1.2). Hierzu werden 50 BI nach einer Einwirkzeit von 19 min vollständig aus dem Isolator entnommen und per Wachstumskontrolle ausgewertet (siehe Tab. 13-5). Gemäß Wachstumskontrolle ist das Verhältnis von Bioindikatoren ohne Wachstum (r) zur Gesamtmenge (n) kleiner als 0,9 ($r/n = 0,62$) und eine Berechnung des D-Wertes nach dem LSMCP – Verfahren zulässig. Der nach der LSMCP abgeschätzte D- Wert korreliert sowohl mit dem im ersten Lauf ermittelten D-Wert nach LSKP, als auch mit den D-Werten der kommerziellen Bioindikatoren (siehe Abb. 9-2).

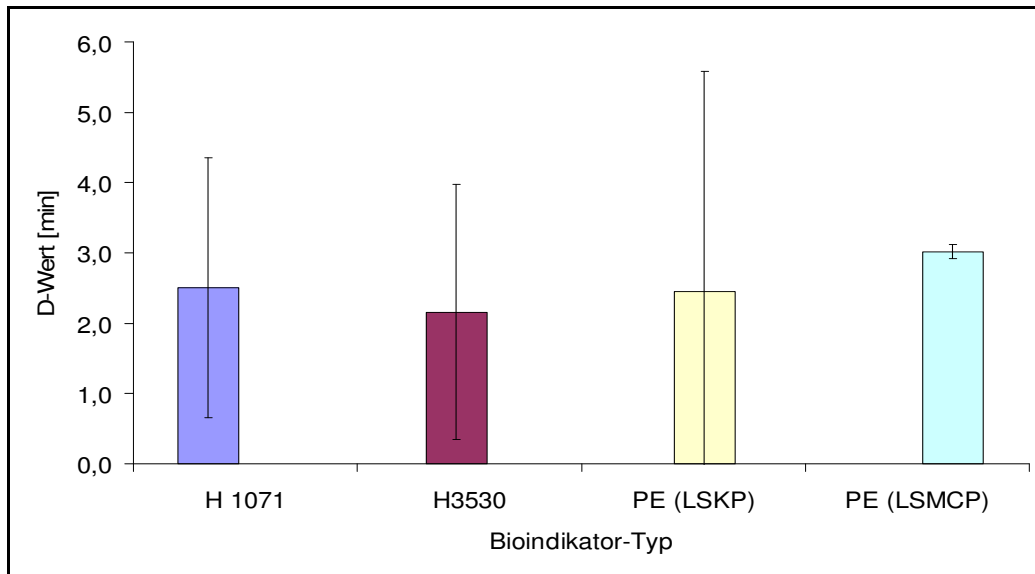


Abb. 9-2 Berechnete D – Werte \pm 95% Konfidenzintervall.

Bei den direkt beimpften PU – Trägern weist auch die zweite Versuchsreihe Auffälligkeiten in der Wachstumskontrolle auf (siehe Tab. 13-6). Obwohl bereits die erste Gruppe (3 min) kein Wachstum zeigt, nimmt bei den nachfolgenden Gruppen die Zahl der nicht abgetöteten Bioindikatoren wieder zu. Erst nach 83 min wird erneut kein Wachstum mehr nachgewiesen. Dieses atypische Verhalten lässt eine sinnvolle D – Wert – Abschätzung auf Basis der LSKP nicht zu. Ein reproduzierbares Resistenzverhalten bzw. ein reproduzierbarer Sterilisationserfolg ist für die PU – Träger nicht nachweisbar.

9.1.3 Diskussion

Die Untersuchungen zeigen, dass die kommerziellen Bioindikatoren für die Evaluierung von Wasserstoffperoxid - Sterilisationsprozessen geeignet sind. Zum einen konnte die für jede Charge vom Hersteller ausgewiesene Ausgangskeimzahl bestätigt werden. Zum anderen weisen die betrachteten BI - Chargen ein reproduzierbares Resistenzverhalten gegenüber Wasserstoffperoxid auf. Sowohl der durchschnittliche D - Wert von 2,34 min, als auch Überlebens- und Abtötungszeit genügen den Empfehlungen der USP für kommerzielle Bioindikatoren (siehe Tab. 9-3). Anhand der direktbeimpften Schläuche konnte die keimtötende Wirkung des H_2O_2 auf PE – Schläuchen eindeutig nachgewiesen werden. Die korrelierenden D – Werte bestätigen, dass die kommerziellen BI ein, für kontaminierte PE – Schläuche repräsentatives, Resistenzverhalten besitzen. Folglich ist die mikrobiologische Leistungsbeurteilung der Modelle und des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage auf Basis der kommerziellen BI zulässig. Im Gegensatz dazu ließen die mit den PU – Trägern gewonnenen Erkenntnisse eine weitere Verwendung von PU – Schläuchen in den Verarbeitungsstationen nicht mehr zu (siehe auch Kap. 9.3.4).

Grundsätzlich ist festzuhalten, dass eine Qualifizierung der Bioindikatoren vor ihrer Verwendung im Rahmen einer Verfahrensentwicklung entscheidend ist [146]. Ist ein reproduzierbares Resistenzverhalten der Bioindikatoren nicht gegeben, kann es zu widersprüchlichen Ergebnissen bei der mikrobiologischen Leistungsbeurteilung kommen.

Tab. 9-3 Repräsentative Eigenschaften von kommerziellen Bioindikator Systemen [83].

Sterilisationsverfahren	Typischer D – Wert [min]	D – Wert – Bereich für die Wahl eines geeigneten Bioindikators [min]	Grenzen für ein geeignetes Resistenzverhalten (basierend auf dem ermittelten D – Wert)	
			Überlebenszeit	Abtötungszeit
Trockene Hitze Bacillus subtilis [160 °C]	1,9	Min. = 1,0 Max. = 3,0	Min. = 4,0 Max. = 14,0	Min. = 10,0 Max. = 32,0
Ethylenoxid Bacillus subtilis [600 mg/l; 54°C; 60% rF]	3,5	Min. = 2,5 Max. = 5,8	Min. = 10,0 Max. = 27,0	Min. = 25,0 Max. = 68,0
Dampf Bacillus stearothermophilus [121°C]	1,9	Min. = 1,5 Max. = 3,0	Min. = 4,5 Max. = 14,0	Min. = 13,5 Max. = 32,0
Wasserstoffperoxid (VPHP) Biological indicator for gaseous hydrogen peroxide (Apex Labs) [Entwicklungsisolator]		2,34	9,7	23,7

9.2 Grundlagenstudie am Schlauchmodell

Am einfachen Schlauchmodell soll die grundsätzliche Anwendbarkeit des VPHP – Verfahrens zur Sterilisation von Schlauchsystemen gezeigt werden. Dabei lies sich anfänglich der auf dem Zirkulationsprinzip basierende Lufthaushalt des Generators nicht über die gesamte Zyklusdauer aufrechterhalten. Durch die kontinuierliche Luftentnahme aus der Ringleitung mittels Vakuumpumpe brach die Luftzirkulation bereits während der Trocknungsphase ab, da das Generatorgebläse den gewählten Luftstrom nicht regulieren konnte. Erst durch Öffnung der Ringleitung im Rücklauf und der daraus resultierenden permanenten Frischluftzufuhr konnten alle Zyklusphasen entsprechend den Vorgaben abgearbeitet werden (siehe Kap. 5.4). Dieses Prinzip der externen Luftzufuhr wurde daraufhin auch am erweiterten Testmodell und dem Sterilisationsmodul der DDC – Anlage umgesetzt (siehe Kap. 5.5 und Kap. 5.6.).

9.2.1 Druckprofil im Schlauchmodell

Während der Sterilisationszyklen kann innerhalb des Schlauchmodells ein Unterdruck nachgewiesen werden. Dieser resultiert aus dem Einsatz einer Vakuumpumpe zur Gasführung. Mit steigender Saugleistung der Venturipumpe erhöht sich der im Schlauchmodell vorherrschende Unterdruck. Als Folge der Einspeisung von Wasserstoffperoxidgas steigt der Druck während der Sterilisationsphase geringfügig an (siehe Abb. 9-3).

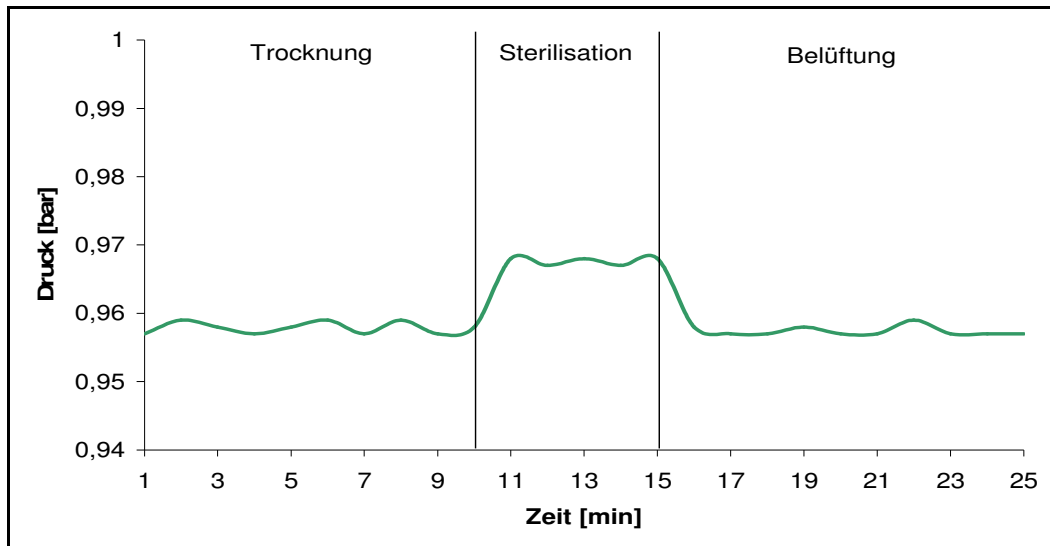


Abb. 9-3 Druckverlauf im Schlauchmodell. Zyklusparameter: T = 10 min; S = 5 min; B = 10 min; Injektionsrate = 1,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

9.2.2 Temperaturprofil im Schlauchmodell

Aufgrund der geringen Abmessung des Schlauchmodells wird eine gleichmäßige Temperaturverteilung innerhalb des Systems beobachtet. Die Temperatur steigt im Verlauf der Sterilisationszyklen unabhängig von der jeweiligen Zyklusphase kontinuierlich an (siehe Abb. 9-4).

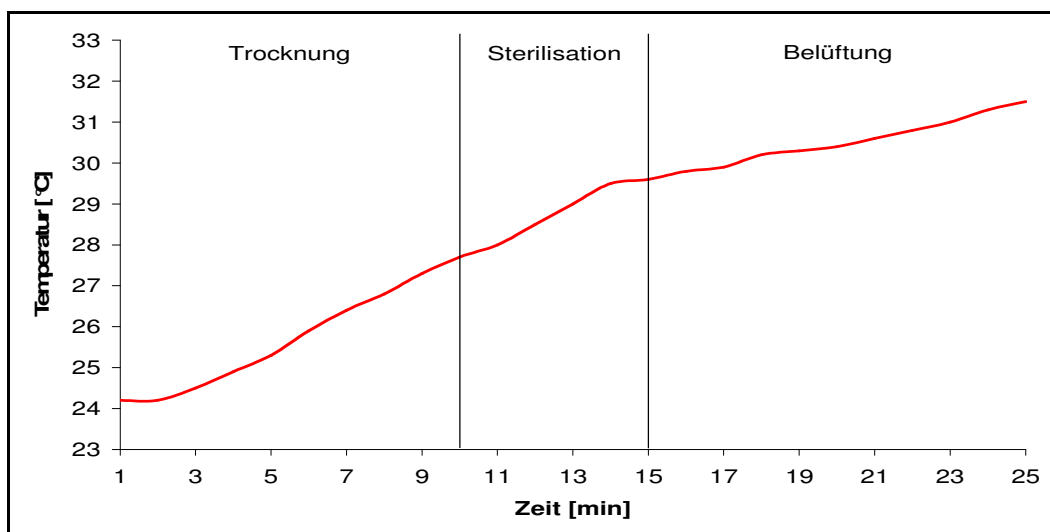


Abb. 9-4 Temperaturverlauf im Schlauchmodell. Zyklusparameter: T = 10 min; S = 5 min; B = 10 min; Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Während der Sterilisationsphase werden Temperaturen zwischen 27 °C im Minimum und 31 °C im Maximum erreicht.

9.2.3 Feuchteprofil im Schlauchmodell

Im Gegensatz zur Temperatur ändert sich die Systemfeuchte analog dem Zyklusverlauf (siehe Abb. 9-5).

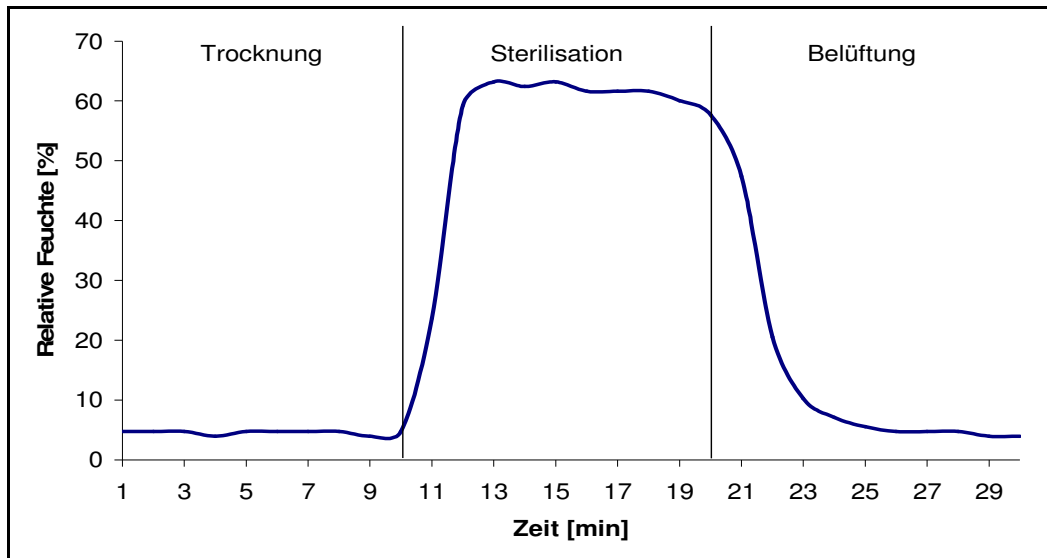


Abb. 9-5 Feuchteverlauf im Schlauchmodell. Zyklusparameter: T = 10 min; S = 10 min; B = 10 min; Injektionsrate = 2,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Zunächst sinkt die Feuchte während der Trocknungsphase unterhalb von 10%, um dann im Zuge der eigentlichen Sterilisation auf Werte oberhalb 50 % anzusteigen. Durch die Belüftung des Systems wird die Feuchte anschließend wieder unter die 10 % Grenze gesenkt. Welche Feuchte sich während der Sterilisationsphase einstellt, ist, bei gleich bleibender Temperatur, erwartungsgemäß abhängig von der verdampften H₂O₂ – Menge. In Korrelation zur Erhöhung der Injektionsrate um 0,5 g/min wird ein linearer Anstieg der Feuchte um 10 % verzeichnet (siehe Abb. 9-6). Bei einer Injektionsrate von 3,5 g/min kommt es nach einer Einwirkdauer von 20 min zu Kondensationserscheinungen innerhalb des Luftleitungssystems.

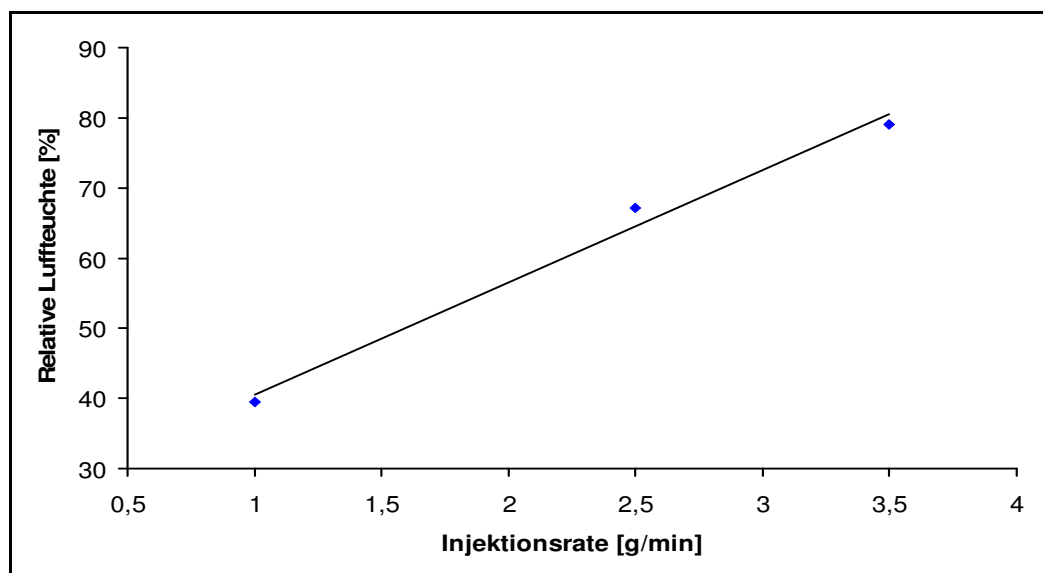


Abb. 9-6 Abhängigkeit zwischen der relativen Feuchte im Schlauchmodell und Injektionsraten von 1 - 3,5 g/min am VHP – Gasgenerator.

9.2.4 Wasserstoffperoxidgasprofil im Schlauchmodell

Im Gegensatz zur Sterilisation größerer Volumen (Isolator / Materialschleuse) erfolgt durch die Kombination aus Leitungssystem und Vakuumpumpe eine gerichtete Verteilung des Wasserstoffperoxidgases innerhalb des Schlauchmodells.

Unter der Voraussetzung, dass kein mechanischer Verschluss vorliegt, werden alle relevanten Leitungswege zwangsdurchströmt. Ein Vorteil gegenüber den klassischen Anwendungen des VPHP – Verfahrens, bei denen sich eine homogene Gasverteilung häufig als problematisch erweist und es in Folge punktuell zu Keimwachstum kommt. Abb. 9-7 zeigt die Abhängigkeit zwischen der pro Minute verdampften Menge an 30 % iger Wasserstoffperoxidlösung und der im System gemessenen Wasserstoffperoxidgaskonzentration [147]. Ab einer Injektionsrate von 3 g/min wird eine Sättigung des Leitungssystems mit Wasserstoffperoxidgas erreicht. Die Gaskonzentration steigt trotz Erhöhung der Injektionsrate nicht mehr an. Es besteht die Gefahr großflächiger Kondensation.

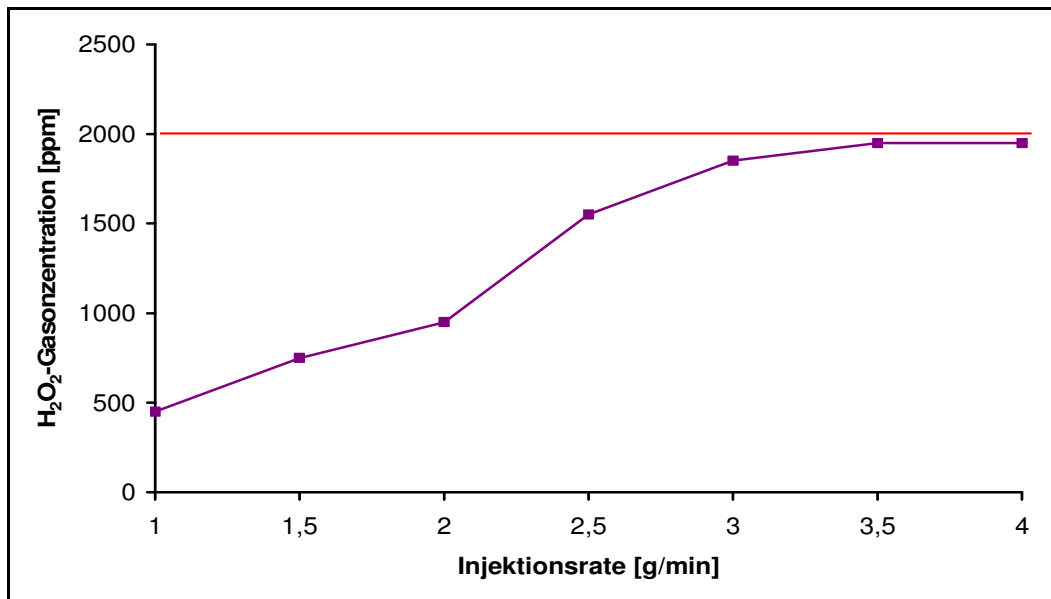


Abb. 9-7 Abhängigkeit zwischen der Injektionsrate am VHP – Generator und der H₂O₂-Gaskonzentration im Schlauchmodell.

9.2.5 Mikrobiologische Leistungsbeurteilung des Schlauchmodells

Auf Basis der Ergebnisse der physikalischen Leistungsbeurteilung wird für die mikrobiologische Leistungsbeurteilung eine Injektionsrate von 3,5 g/min gewählt. Begonnen wird mit einer Sterilisationsdauer von 5 min. Die Bioindikatoren werden aus ihrer Schutzhülle entnommen und durch leichtes Zusammenbiegen des Metallträges in die Schlauchlumina eingeschoben. Die Sporensuspension zeigt dabei nach innen. Tab. 9-4 fasst die Ergebnisse der Sterilisationsläufe mit direkter BI – Positionierung zusammen. Trotz hoher Gaskonzentration und Systemfeuchte lässt sich mit den gewählten Testkeimen kein Sterilisationserfolg im Schlauchmodell nachweisen. Der Grund hierfür liegt in der direkten Positionierung der Bioindikatoren innerhalb der Schläuche. Zum einen kommt es durch die Verformung der Trägerplättchen zu Überlagerungen im Bereich des Monolayers der Sporensuspension und somit zu einer Resistenzerhöhung der Bioindikatoren. Zum anderen werden einzelne Schläuche durch die Bioindikatoren gasdicht verschlossen. In beiden Fällen kann das Wasserstoffperoxid seine keimtötende Wirkung auf der beimpften Oberfläche der Bioindikatoren nicht ausreichend entfalten (siehe Abb. 9-8).

Tab. 9-4 Ergebnisse der Sterilisationsläufe 1 – 3 bei direkter BI – Positionierung innerhalb der Schlauchlumina.

Injektionsrate	BI-Nr.	Sterilisationsdauer [min]		
		5	10	20
3,5 g/min	1.	+	+	+
	2.	+	+	+
	3.	+	+	+
	4.	+	+	+
	5.	+	+	+
	6.	+	+	+
	7.	+	+	+
	8.	+	+	+
	9.	+	-	+
	10.	+	-	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

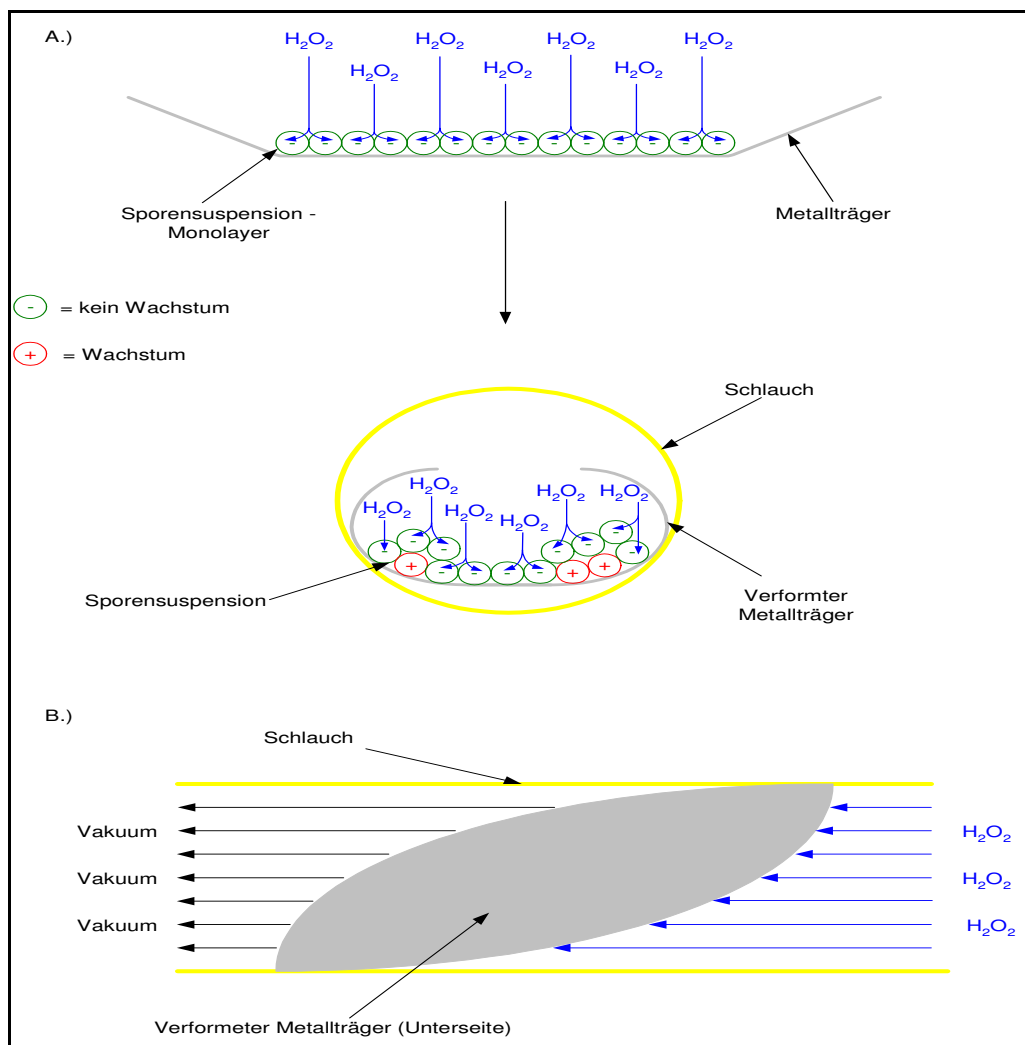


Abb. 9-8 Überlagerung der Sporensuspension (A.) und Schlauchverschluss (B.).

Um die negativen Einflüsse der direkten Positionierung auf das mikrobiologische Monitoring auszuschließen, wurden die im Kap. 7.7.3.1 beschriebenen Bioindikator exponierenden Einheiten vom Typ I entwickelt und in den weiteren Versuchen zur Überwachung der Schläuche eingesetzt. Die BIEE ermöglichen eine Positionierung der Bioindikatoren im unveränderten Zustand und fixieren diese unmittelbar im Gasstrom (siehe Abb. 9-9).



Abb. 9-9 Positionierung der BIEE vom Typ 1 in den Schlauchleitungen des Schlauchmodells.

Unter Verwendung der BIEE konnte nachgewiesen werden, dass mit dem VPHP – Verfahren eine Sterilisation des Schlauchsystems innerhalb kurzer Zeit möglich ist (siehe Tab. 13-7). Bereits bei einer Sterilisationsdauer von 2 min zeigen nur noch 10 % der eingesetzten Bioindikatoren Wachstum. Sterilität des gesamten Systems wird nach 5 min Begasung erreicht. Auf Grundlage des HSKP – Verfahrens errechnet sich ein D – Wert von 0,3 min. Wie das Reactive Pattern zeigt bleibt der Sterilisationseffekt über die betrachteten 30 Minuten Einwirkzeit stabil. Der sich schnell einstellende Sterilisationserfolg ist auf den stark vereinfachten strukturellen Aufbau des Modells zurückzuführen. Der geringe Systemwiderstand ermöglicht eine optimale Umsetzung der vakuumgesteuerten Gasführung. Alle Positionen im Modell werden gleichmäßig durchströmt und zeigen einheitliche Temperatur- und Feuchteprofile. Darüber hinaus wird innerhalb des Leitungssystems schon bei niedrigen Injektionsraten eine hohe Systemfeuchte erreicht, welche die sterilisierende Wirkung des Wasserstoffperoxidgases begünstigt.

9.2.6 Diskussion

Die am Schlauchmodell gewonnen Ergebnisse belegen die grundsätzliche Anwendbarkeit der Kombination aus Gasgenerator und Vakuumführung zur Sterilisation von Schlauchoberflächen. Aufgrund der reduzierten Systemkomplexität kann bereits bei niedriger Injektionsrate eine hohe Sterilisationseffizienz erreicht werden. Als schwierig erwies sich der Nachweis des Sterilisationserfolges innerhalb der Schlauchlumen. Durch die Entwicklung der BIEE wurde jedoch eine Möglichkeit gefunden die keimtötende Wirkung des H_2O_2 zu belegen. Durch die Überwachung der relativen Feuchte kann der Sterilisationsverlauf detailliert abgebildet werden.

9.3 Verfahrensevaluierung am erweiterten Testmodell

Als Vorstufe zum Sterilisationsmodul der DDC – Anlage konzipiert, soll anhand des erweiterten Testmodells der Sterilisationsprozess evaluiert werden. Dabei wird bei der Wahl der Sterilisationsparameter auf den am Schlauchmodell gewonnen Erkenntnissen aufgebaut. Gestartet wurde mit Versuchen das Gas alternativ mittels eines Kompressors durch die Prüfstation zu transportieren (siehe Abb. 5-8). Aufgrund starker Kondensationserscheinungen im Bereich des Eingangsfilters und den zuführenden Leitungen wurde diese Art der Gasführung jedoch nicht weiterverfolgt. Zeitweise fielen bis zu 70 ml Kondensat im zuführenden Leistungssystem an [148]. In Konsequenz wurde bei allen weiteren Versuchen ausschließlich mit dem Prinzip der Vakuumführung gearbeitet.

9.3.1 Druckprofil im erweiterten Testmodell

Gemessen wurde der Druck innerhalb des Leitungssystems sowohl am Systemeingang (nach der Ringleitung) als auch am Systemausgang (vor der Vakuumpumpe). Aufgrund der Nähe zur Vakuumpumpe sinkt der Druck am Systemausgang mit Beginn des Sterilisationszyklus um 200 mbar. Zeitgleich bleibt der Druck am Systemeingang durch die aus der Ringleitung einströmende Luft konstant (siehe Abb. 9-10).

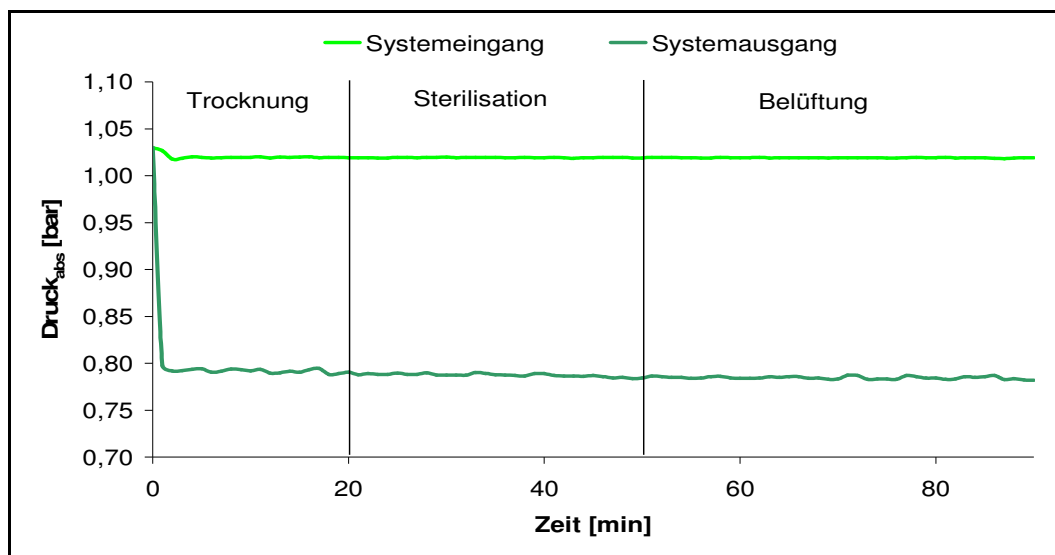


Abb. 9-10 Druckverlauf im erweiterten Testmodell (Pfad 1 + 2). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 30 min; B = 40 min; Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Ließ sich am Schlauchmodul der Eintritt von Wasserstoffperoxid noch in Form eines leichten Druckanstieges nachvollziehen, so zeigt der Druck in Folge der erhöhten Komplexität des Leitungssystems am erweiterten Testmodell keine Phasenabhängigkeit mehr. Das Druckprofil lässt nur eingeschränkt Rückschlüsse auf den Sterilisationsverlauf zu. Lediglich die ordnungsgemäße Funktion der Vakuumpumpe kann aufgezeigt werden.

9.3.2 Temperaturprofil im erweiterten Testmodell

Analog dem Schlauchmodell wird im Verlauf der Sterilisation an den verschiedenen Positionen des erweiterten Testmodells ein kontinuierlicher, phasenunabhängiger Temperaturanstieg beobachtet. Dabei nähern sich die Temperaturen asymptotisch einem Grenzwert (siehe Abb. 9-11).

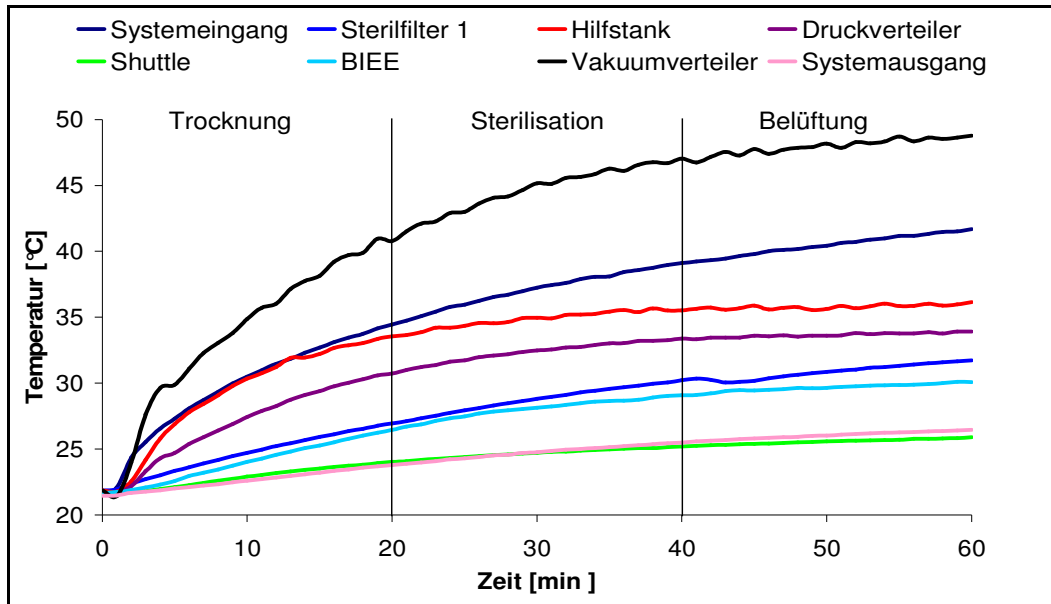


Abb. 9-11 Temperaturentwicklung im erweiterten Testmodell (Pfad 2). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 20 min; B = 20 min; Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Erwartungsgemäß ist der Temperaturanstieg an den aktiv beheizten Verteilern (siehe Abb. 5-7) besonders ausgeprägt (siehe Abb. 9-12 und Abb. 9-13).

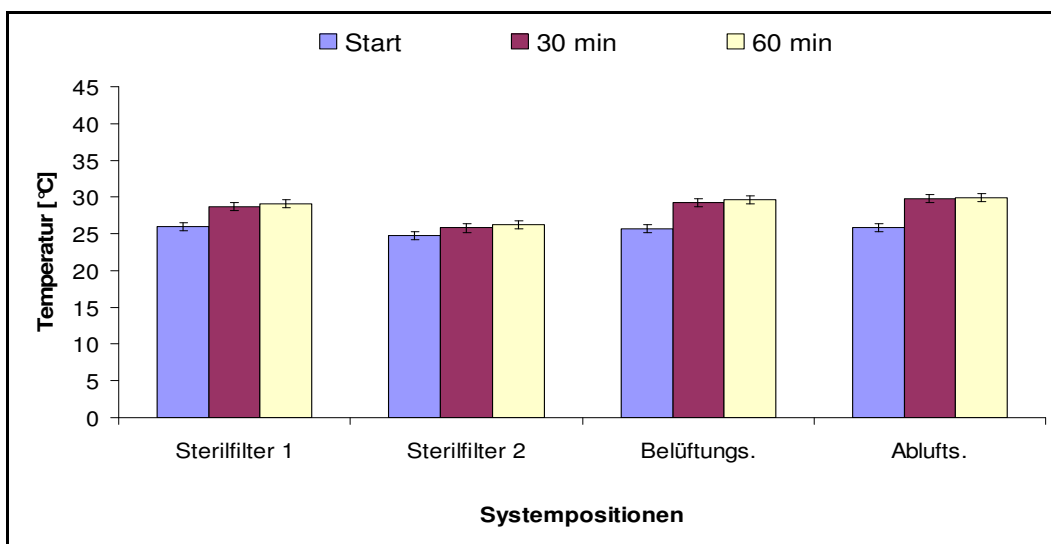


Abb. 9-12 Oberflächentemperaturen am erweiterten Testmodell (Pfad 1); [MW±SD; n=3].

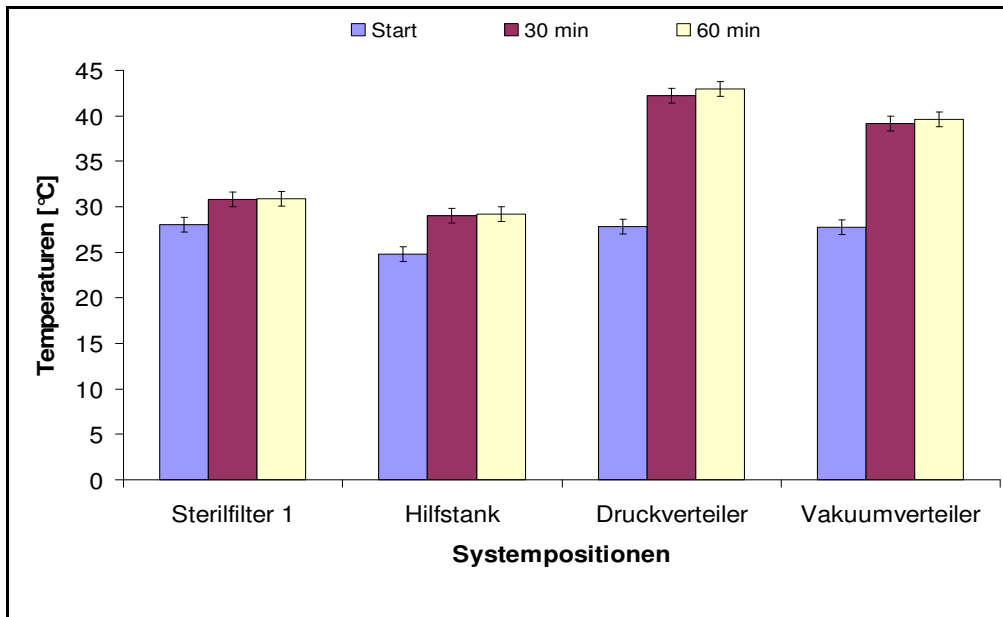


Abb. 9-13 Oberflächentemperaturen am erweiterten Testmodell (Pfad 2); [MW±SD; n=3].

Die gezielte Erwärmung einzelner Elemente hat starke Temperaturschwankungen innerhalb des Modells zur Folge. Diese Schwankungen werden, wie die nachfolgenden Temperaturprofile zeigen, auch im Luftstrom beobachtet (siehe Abb. 9-14 und Abb. 9-15).

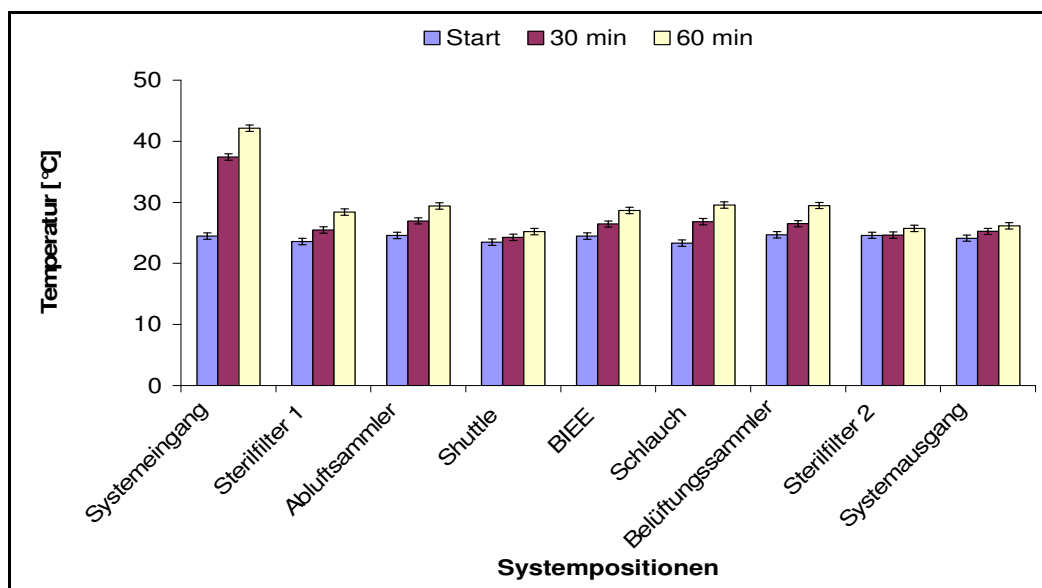


Abb. 9-14 Temperaturprofil des H₂O₂ - Luftstroms innerhalb der erweiterten Testmodells (Pfad 1); [MW±SD; n=3].

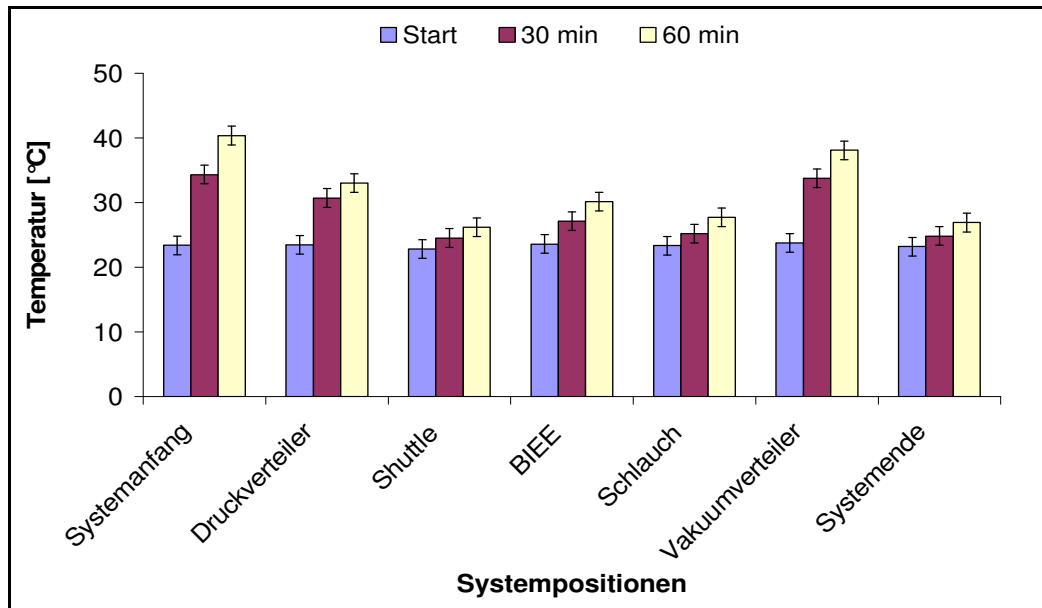


Abb. 9-15 Temperaturprofil des H₂O₂ - Luftstroms innerhalb des erweiterten Testmodells (Pfad 2); [MW±SD n=3].

Das mit 50 – 60 °C in der Ringleitung zirkulierende Wasserstoffperoxidgas besitzt am Systemeingang nur noch eine Temperatur von 35 – 40 °C und wird beim Durchströmen des Leitungssystems mehrfach erwärmt und wieder abgekühlt (Temperaturgradient > 10 °C). Es verlässt die Verarbeitungsstation mit einer Temperatur von ca. 26 °C. Um eine gleichmäßige Temperaturverteilung zu realisieren, werden die Heizmatten bei allen weiteren Versuchen deaktiviert.

9.3.3 Feuchteprofil im erweiterten Testmodell

Mittels Aufzeichnung der relativen Feuchte lassen sich auch die Sterilisationszyklen am erweiterten Testmodell detailliert nachverfolgen (siehe Abb. 9-16).

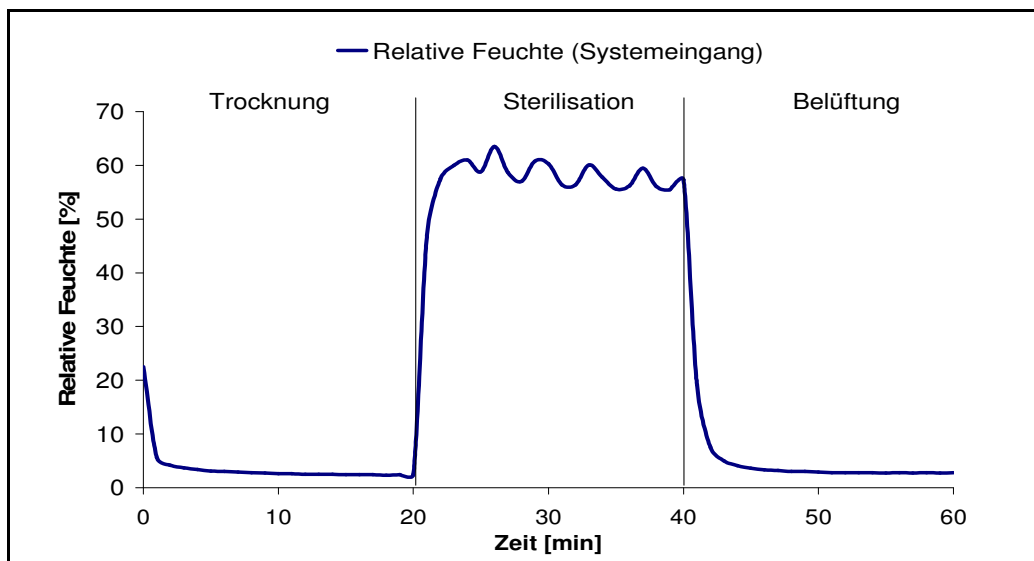


Abb. 9-16 Feuchteverlauf im erweiterten Testmodell (Pfad 1). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 20 min; B = 20 min; Injektionsrate = 2,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Zu erkennen ist ein oszillierender Abschnitt während der eigentlichen Sterilisationsphase.

Dieser ist auf das getaktete Verdampfen (1 x pro Minute) der 30 % igen Wasserstoffperoxidlösung zurückzuführen. Erfolgt die Feuchtemessung am Ausgang des Systems ändert sich der Kurvenverlauf. In Folge des vorgeschalteten Leitungssystems bleiben sowohl das Oszillieren als auch die Ausprägung eines Plateaus aus (siehe Abb. 9-17).

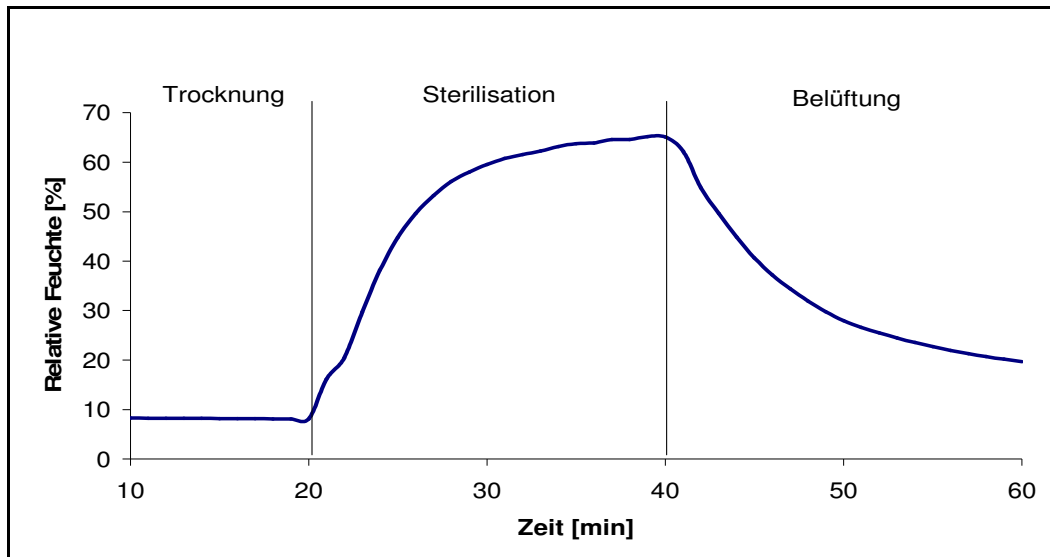


Abb. 9-17 Feuchteverlauf im erweiterten Testmodell (Pfad 1). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 20 min; B = 20 min; Injektionsrate = 2,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

In Abhängigkeit von der gewählten Injektionsrate (2 – 3,5 g/min) werden im Erweiterten Testmodell relative Feuchten zwischen 50 und 70 % erreicht. Vergleichsmessungen mit dem Referenzhygrometer bestätigen die Feuchtwerte aus dem Onlinemonitoring (siehe Abb. 9-18).

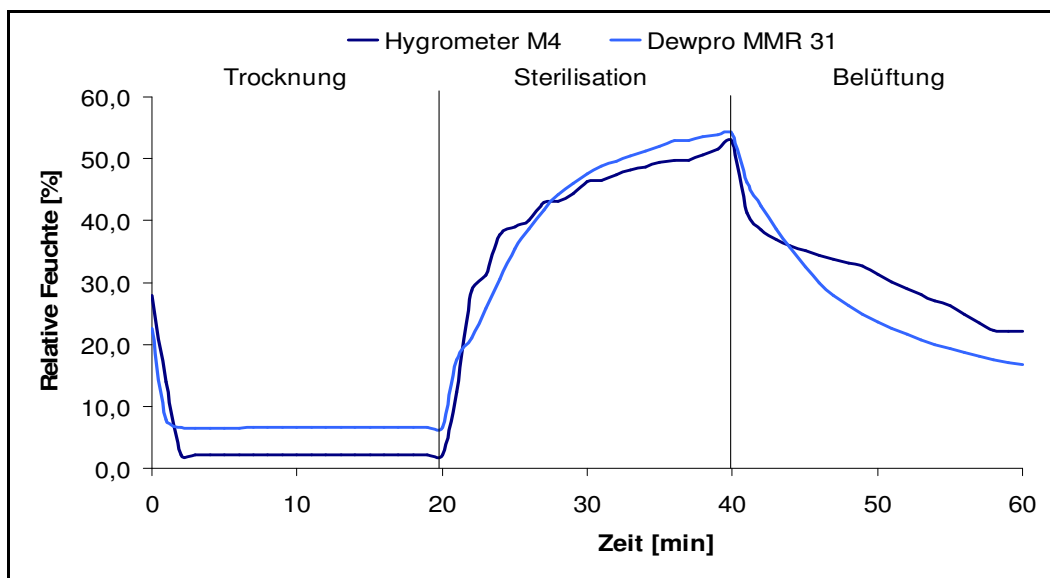


Abb. 9-18 Vergleichsmessung zwischen Hygrometer M4 und Dewpro MMR 31 am erweiterten Testmodell (Pfad 1). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 10 min; B = 20 min; Injektionsrate = 2,0 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Kann bei einer Injektionsrate von 3,5 g/min visuell keine Kondensation festgestellt werden, zeigen sich während der Belüftung Auffälligkeiten im Kurvenlauf der relativen Feuchte. Widererwartend kommt es nach dem Übergang in die Belüftungsphase zu einem erneuten Anstieg der Feuchte, obwohl während dieser Phase ausschließlich trockene Luft in die Leitungen eingebracht wird. Dieses Verhalten zeigt sich verstärkt bei Pfad 2 (siehe Abb. 9-19).

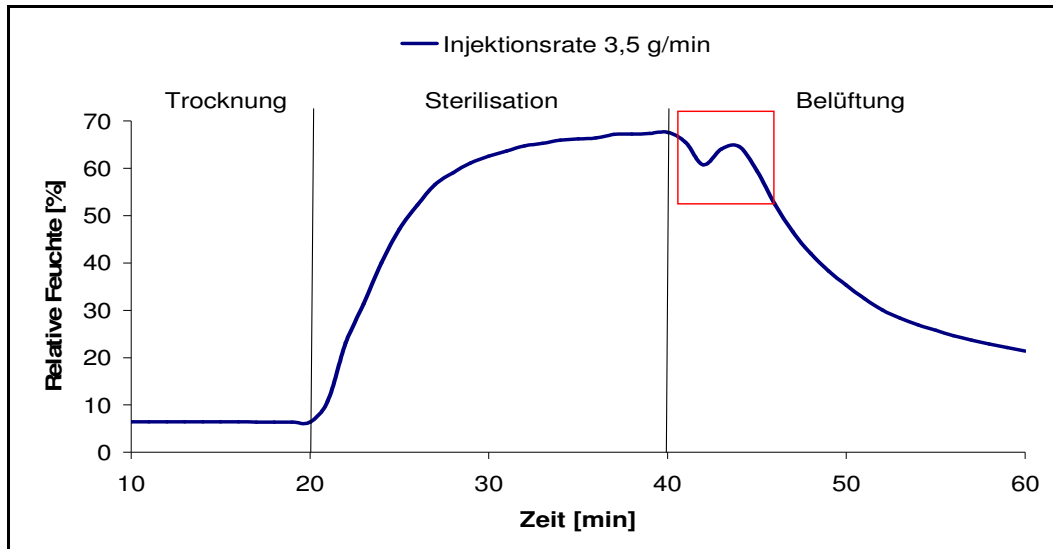


Abb. 9-19 Anstieg der relativen Feuchte während der Belüftungsphase am erweiterten Testmodell (Pfad 2). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 20 min; B = 30 min
Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Zeitgleich kann sowohl am Sterilfilter 1 als auch im Bereich des Shuttles ein Abfall der Temperatur beobachtet werden (siehe Abb. 9-20).

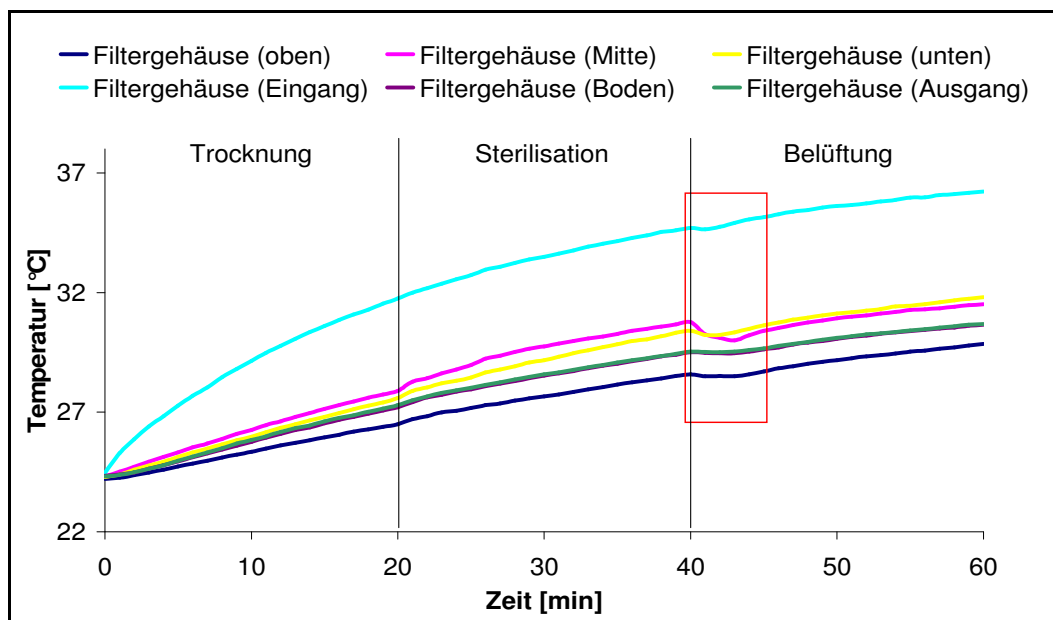


Abb. 9-20 Temperaturabfall während der Belüftungsphase am Sterilfilter 1 am erweiterten Testmodell (Pfad 1). Zyklusparameter T = 20 min; S = 20 min; B = 30 min
Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Dieser Temperaturabfall ist auf einen Wärmeverlust an der Oberfläche in Folge der Verdunstung von Oberflächenkondensat zurückzuführen [149]. Ein Anstieg der Feuchte während der Belüftung weist demzufolge auf punktuelle Kondensation innerhalb des Systems hin. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse musste die Injektionsrate auf 2,0 g/min gesenkt (siehe Abb. 9-21).

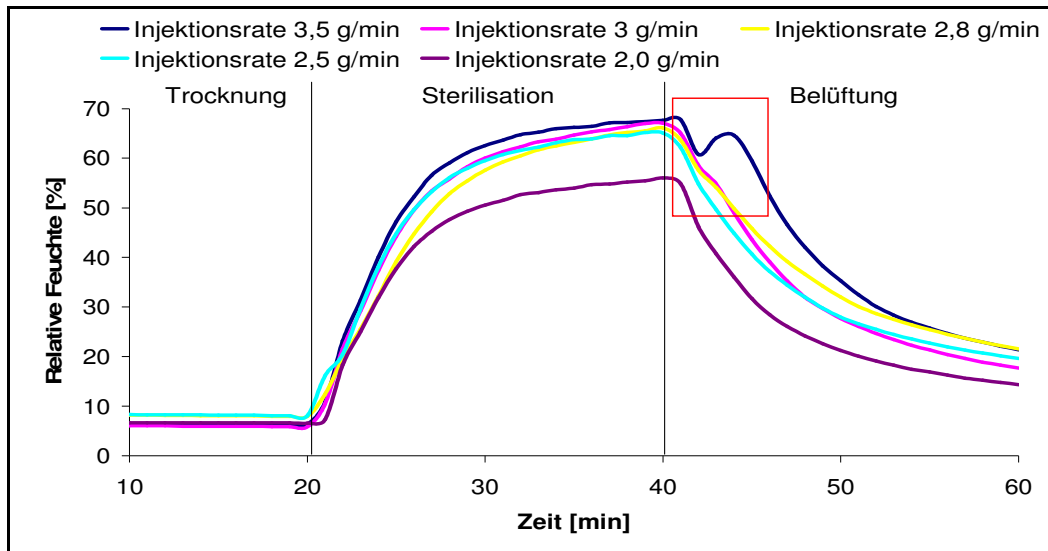


Abb. 9-21 Auftreten von punktueller Oberflächenkondensation in Abhängigkeit von der Injektionsrate an 30%iger wässriger Wasserstoffperoxidlösung.

9.3.4 Wasserstoffperoxidgasprofil im erweiterten Testmodell

Unabhängig davon, ob die Messung mit der Wasserstoffperoxid - Sonde am Systemeingang oder -ausgang erfolgt, wird grundsätzlich während der Einwirkzeit eine H_2O_2 - Plateauphase beobachtet (siehe Abb. 9-22 und Abb. 9-23). Die aufgezeichneten Kurven entsprechen in ihrem Verlauf der Referenzkurve (vergleiche Abb. 3-2). Eine maximale Gaskonzentration von 2100 ppm wird bei einer Injektionsrate von 3,5 g/min erreicht.

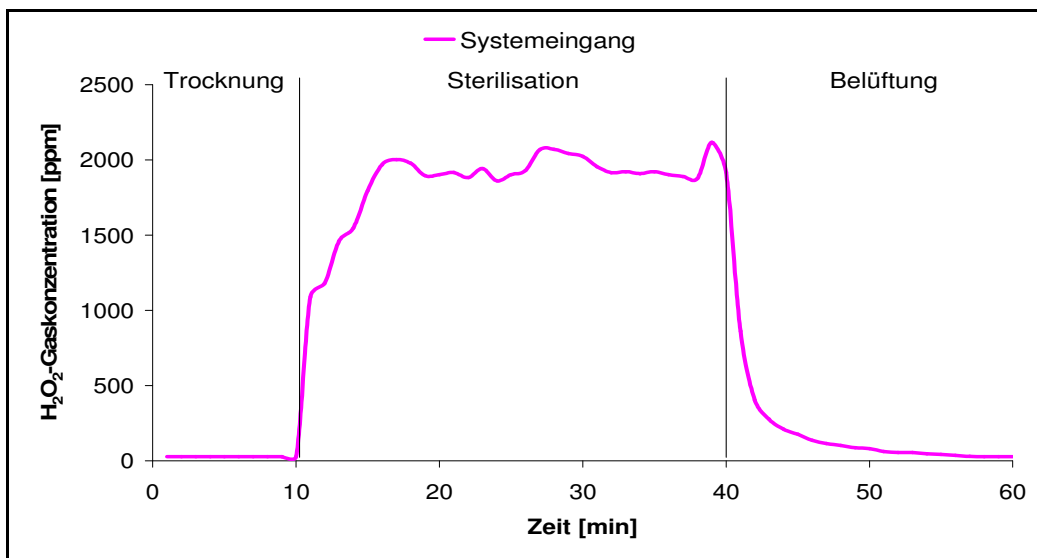


Abb. 9-22 H_2O_2 Konzentration am Systemeingang des erweiterten Testmodells (Pfad 1). Zyklusparameter: T = 20 min; S = 30 min; B = 20 min, Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

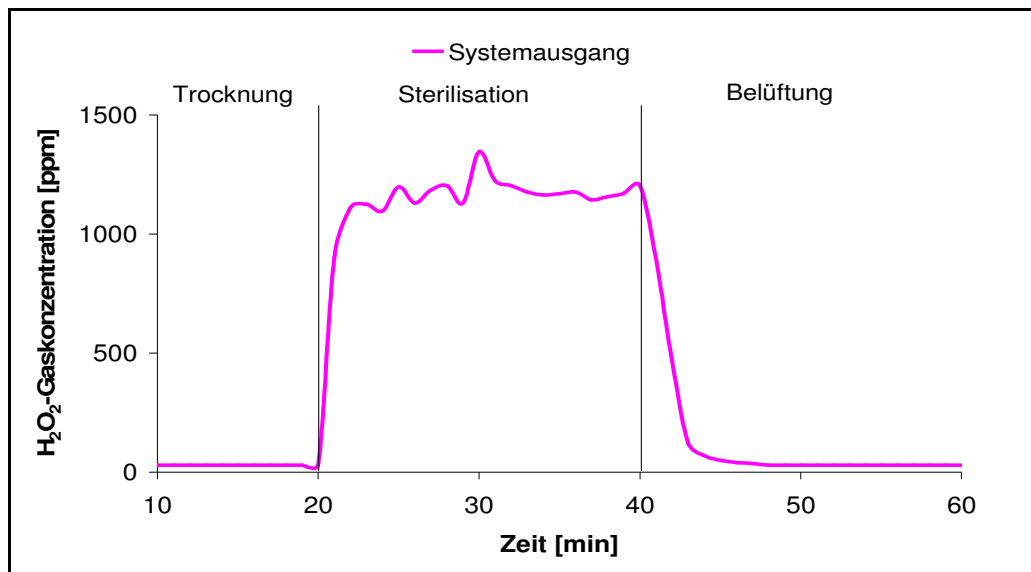


Abb. 9-23 H_2O_2 Konzentration am Systemausgang des erweiterten Testmodells (Pfad 1);
 Zyklusparameter: T = 20 min; S = 20 min; B = 20 min;
 Injektionsrate = 2,0 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

Begründet durch die gerichtete Vakuumbführung wird eine gute und gleichmäßige Verteilung des Wasserstoffperoxidgases innerhalb der Verarbeitungsstation erwartet. Tatsächlich konnte anhand der Chemoindikatoren nachgewiesen werden, dass alle Stellen innerhalb des Testmodells während der Sterilisation mit H_2O_2 - Gas beaufschlagt werden. Der jeweils anliegende Pfad bestimmt die Reihenfolge in der die Chemoindikatoren umschlagen. Als zeitintensiv erweist sich der Gasabbau. Durch den alleinigen Einsatz des Generators, kann keine ausreichende Belüftung erzielt werden. Nach 120 min werden am Systemausgang H_2O_2 - Konzentrationen größer als 3 ppm gemessen. Dabei weisen besonders die Filter ein hohes Adsorptionsverhalten auf. Um die Belüftung zu beschleunigen wird das System im Anschluss an die Sterilisationsphase vom Generator abgekoppelt und die Leitungswege mit 5 bar Druckluft durchgespült. Auf diese Weise verkürzt sich die Dauer der Belüftungsphase auf 110 min/Pfad (siehe Tab. 9-5)

Tab. 9-5 Ergebnis der Evaluierung der Belüftungsdauer am erweiterten Testmodell.
 Zyklusparameter: T= 20 min; S = 30 min; A = 110; Injektionsrate = 3,5 g/min;
 Strömungsrate = 20 m³/h.

Belüftungsdauer [min]	H_2O_2 - Konzentration am Systemausgang [ppm]	
	Pfad 1	Pfad 2
10	> 3	> 3
20	> 3	> 3
30	> 3	> 3
40	> 3	> 3
50	> 3	> 3
60	2-3	3
70	2	3
80	1-2	3
90	1	3
100	0,5-1	1-2
110	0	0,5-1

Neben den Filtereinheiten weisen auch die eingesetzten Schläuche Adsorptionsverhalten auf. Dieses fällt in Abhängigkeit vom jeweiligen Material unterschiedlich stark aus. Während bei Polyethylen nach Sterilisation kein adsorbiertes Wasserstoffperoxid nachgewiesen wird, zeigen sowohl Polyurethan als auch Polyamid deutliches Adsorptionsverhalten. Beide Materialien besitzen darüber hinaus schlechte Desorptionseigenschaften (siehe Abb. 9-24). Nach 100 min Belüftung liegt die Wasserstoffperoxidkonzentration sowohl bei Polyamid als auch Polyurethan noch über 30 ppm. Beide Schlauchmaterialien wurden daraufhin aus den Verarbeitungsstationen der DDC – Anlage entfernt.

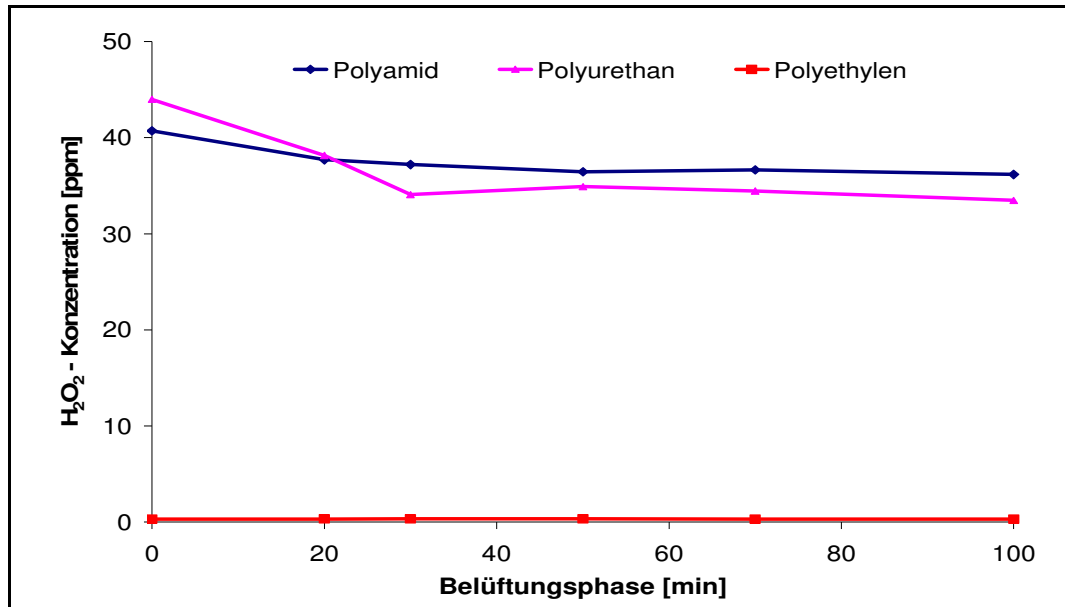


Abb. 9-24 Adsorptions - und Desorptionsverhalten von Polyamid -, Polyethylen- und Polyurethanschläuchen am erweiterten Testmodell (Pfad 1).
 Zyklusparameter T = 20 min; S = 40 min; B = 100 min;
 Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 20 m³/h.

9.3.5 Mikrobiologische Leistungsbeurteilung des erweiterten Testmodells

Die mikrobiologische Leistungsbeurteilung wird auf Basis der mittels Feuchtemessung, evaluierten maximalen Injektionsrate von 2,0 g/min durchgeführt. Für die D – Wert – Bestimmungen wird eine Einwirkzeit von 30 min zugrunde gelegt. Die Positionierung der Bioindikator – Gruppen im Schlauchsystem erfolgt mit BIEE vom Typ 2 (siehe Abb. 9-25).

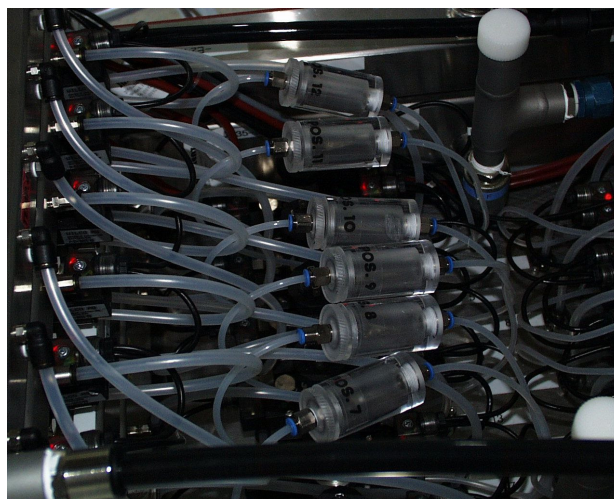


Abb. 9-25 Positionierung der BIEE im Schlauchsystem des erweiterten Testmodells.

Tab. 13-8 bis Tab. 13-8 geben die aus den Sterilisationsläufen resultierenden *Reactive Pattern* sowie die berechneten D – Werte wieder. In Gegenüberstellung zum Entwicklungsisolator weisen die Bioindikatoren im erweiterten Testmodell ein vergleichbares Resistenzverhalten auf (siehe Abb. 9-26).

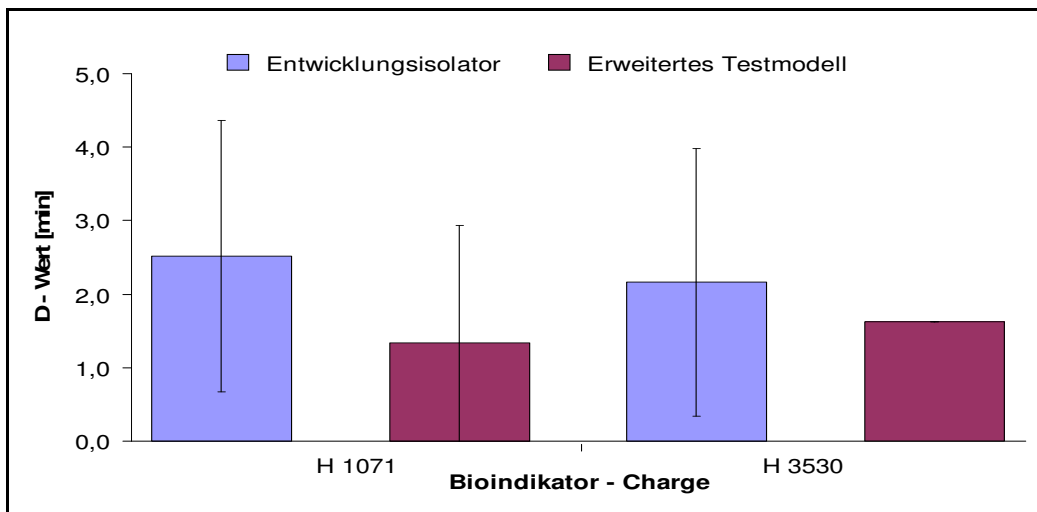


Abb. 9-26 Gegenüberstellung der D – Werte des Entwicklungsisolators und des Erweiterten Testmodells [MW± 95% Konfidenzintervall;n=3].

Dieses ist unabhängig davon, ob die Bioindikatoren mit oder ohne Tyvek® – Hülle dem Wasserstoffperoxid – Gas ausgesetzt werden (siehe Abb. 9-27).

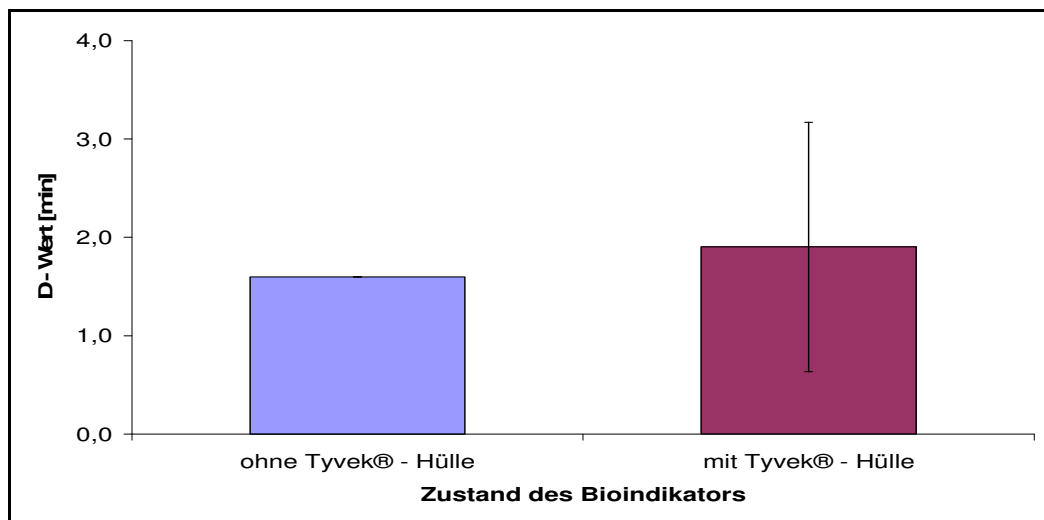


Abb. 9-27 Vergleich des Resistenzverhaltens von Bioindikatoren mit und ohne Tyvek® – Hülle (BI – Charge H0610; Pfad 1); [MW± 95% Konfidenzintervall;n=3].

Der durchschnittliche D – Wert über beide Pfade liegt bei 1,7 min (siehe Abb. 9-28).

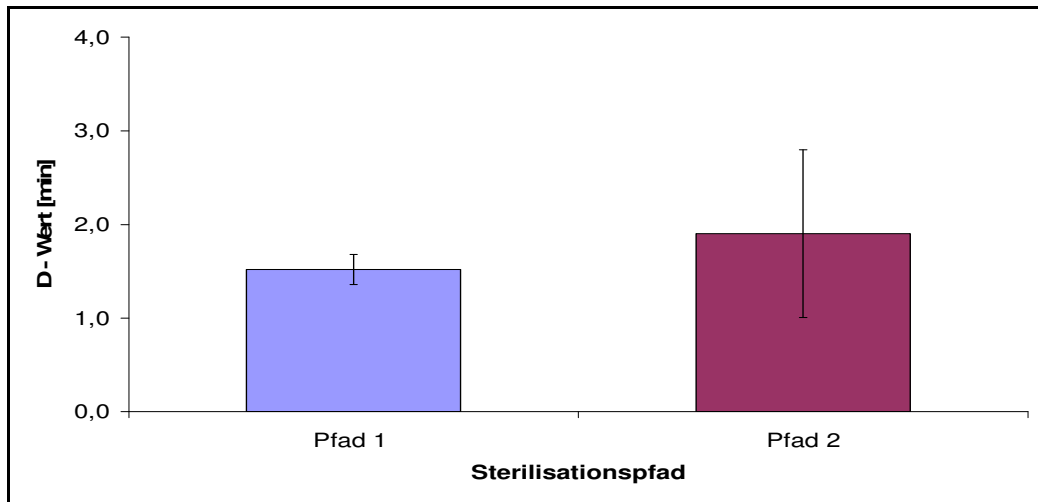


Abb. 9-28 Gegenüberstellung der D- Werte für Pfad 1 und Pfad 2 [MW± 95%; Konfidenzintervall;n=3].

Damit zeigt das erweiterte Testmodell im Vergleich zu den meisten Isolatoren eine geringfügig höhere Effizienz. Diese erreichen D - Werte zwischen 2 und 5 min [150]. Analog dem Schlauchmodell kann der Sterilisationseffekt kontinuierlich aufrechterhalten werden. Nach dem Übergang in die Abtötungszeit (> 17 min) tritt reproduzierbar kein Wachstum von Bioindikatoren mehr auf. Unter der Annahme eines Bioburden von 1×10^6 KBE ergibt sich für das erweiterte Testmodell die in Abb. 9-29 dargestellte Überlebenskurve.

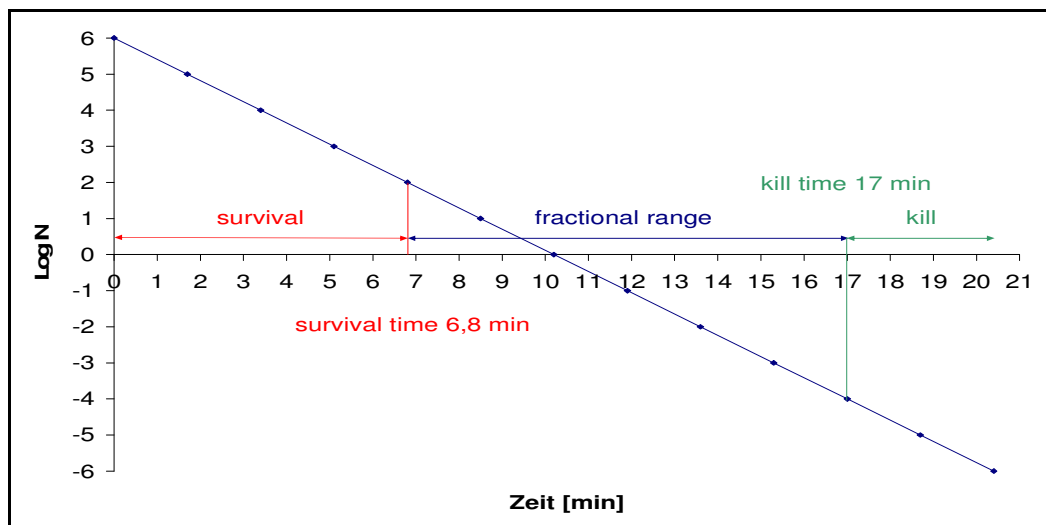


Abb. 9-29 Überlebenskurve für das erweiterte Testmodell ($N_0 = 1 \times 10^6$ KBE; D - Wert = 1,7 min).

Um mit dem Sterilisationszyklus das Abtötungsfenster sicher zu erreichen, errechnet sich auf Basis der Form. 3-7 eine Einwirkzeit von 20,4 min. Dies entspricht einer Keimreduktionsrate von 12 log Stufen. Unter Verwendung der in Abb. 9-30 dargestellten Zykluszeiten werden weitere Sterilisationsläufe am erweiterten Testmodell gefahren. Dabei werden die in Kap. 7.7.2.2 beschriebenen Positionen mit Bioindikatoren versehen.

An keiner der mikrobiologisch überwachten Stellen im Leitungssystem des erweiterten Testmodells trat Wachstum auf. Am Ende der Sterilisationsläufe lag die Wasserstoffperoxidkonzentration unter 1 ppm.

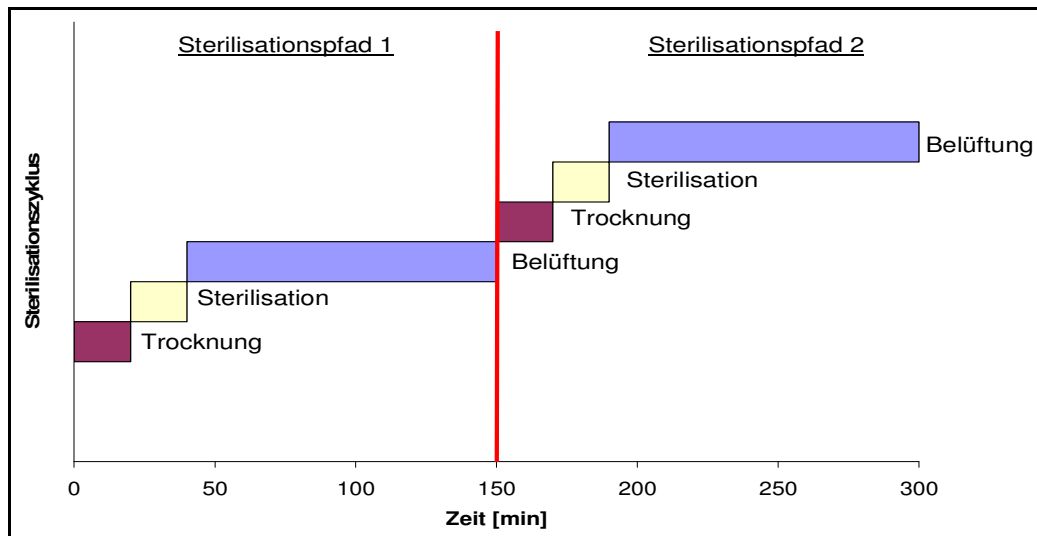


Abb. 9-30 Validierte Zykluszeiten am erweiterten Testmodell; Injektionsrate 2,5 g/min; Strömungsrate 20 m³/h.

9.3.6 Diskussion

Die Eignung des VPHP – Verfahrens zur Sterilisation eines komplexen Schlauchsystems konnte erfolgreich am erweiterten Testmodell demonstriert werden. Der Modellaufbau ermöglicht eine effiziente Sterilisation der kritischen Oberflächen innerhalb des Prüfkopfes. Die Analogie zu bestehenden Applikationen im pharmazeutischen Umfeld ist damit gegeben. Der Vergleich zum Schlauchmodell zeigt jedoch, dass sich die zunehmende Komplexität des Leitungssystems negativ auf die Prozessperformance auswirkt. Durch das erhöhte Kondensationsrisiko musste die Injektionsrate deutlich abgesenkt werden, was eine deutliche Anhebung des D – Wertes zur Folge hatte. Der Versuch der Kondensation durch Erwärmung der Oberflächen entgegenzuwirken scheiterte, da die von außen aufgebrachten Heizmatten nicht zu einer gleichmäßigen Erwärmung des Gesamtsystems führten. Als kritisch im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf der Sterilisation erweist sich die Belüftungsphase. Mit 110 min pro Sterilisationspfad liegt ihr Anteil bei mehr als zwei Drittel der Gesamtdauer des Sterilisationszyklus. Der hohe Zeitaufwand liegt vor allem in der Anwesenheit der Sterilfilter begründet.

9.4 Prozessentwicklung am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage

Wurde beim erweiterten Testmodell das Verschließen des Prüfkopfes mit einem Shuttle, sowie die anschließende Pfadauswahl noch manuell vorgenommen, erfordert die Komplexität der DDC – Anlage einen automatisierten Prozess. Zu diesem Zweck wurde ein Datenaustausch zwischen der SPS der DDC – Anlage und der Steuerung des VHP – Generators realisiert. Mittels einer Datenleitung erhält die DDC – Anlage kontinuierlich Informationen darüber, in welcher Zyklusphase sich der Generator befindet und ob er gemäß den Vorgaben arbeitet. Im Gegenzug werden Statusmeldungen bzw. Störungen seitens der DDC – Anlage an den Generator rückgemeldet. An Hand der vom Generator übertragenen Zyklusdaten ist es möglich die Ventile der Verarbeitungsstationen der DDC – Anlage phasenkonform zu schalten und einen Pfadwechsel zeitgleich über alle sechs Verarbeitungsstationen durchzuführen. Um die Verarbeitungsstationen vor Sterilisationsbeginn abzudichten, werden sechs leere Shuttles in die DDC eingeschleust und die Prüfköpfe für die Dauer der Sterilisation auf die Werkstückträger abgesenkt.

9.4.1 Druck und Durchfluss im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

Analog dem erweiterten Testmodell lässt sich im Verlauf der Sterilisation auch an den einzelnen Verarbeitungsstationen der DDC - Anlage ein konstanter Unterdruck am Systemausgang nachweisen. Dieser schwankt jedoch bei gleicher Leistung der Vakuumpumpen zwischen den Verarbeitungsstationen und ist abhängig von der Strömungsrate des in der Ringleitung zirkulierenden Luft - Gasgemisches (siehe Abb. 9-31 und Abb. 9-32).

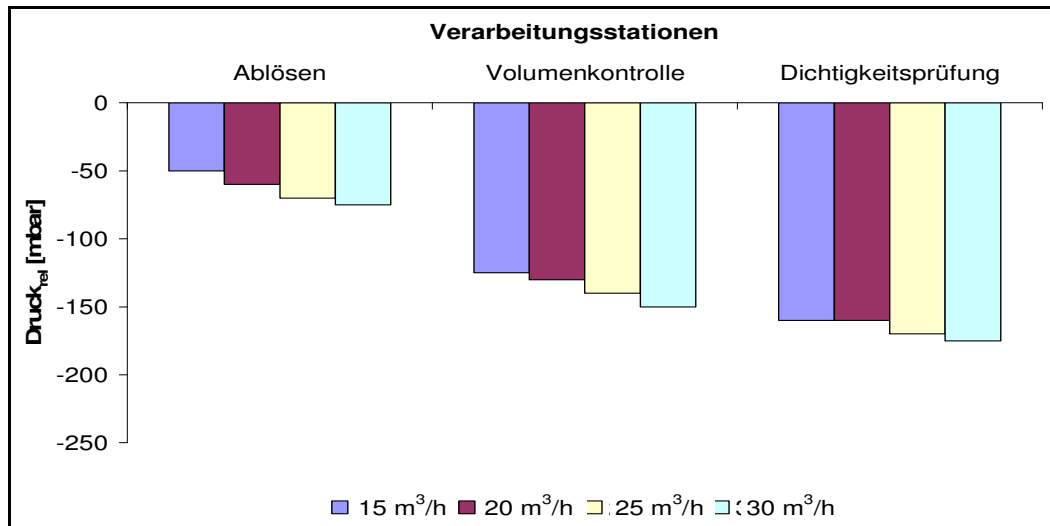


Abb. 9-31 Abhängigkeit zwischen Strömungsraten von 15 – 30 m³/h und erreichtem Vakuum in der DDC - Anlage (Pfad 1).

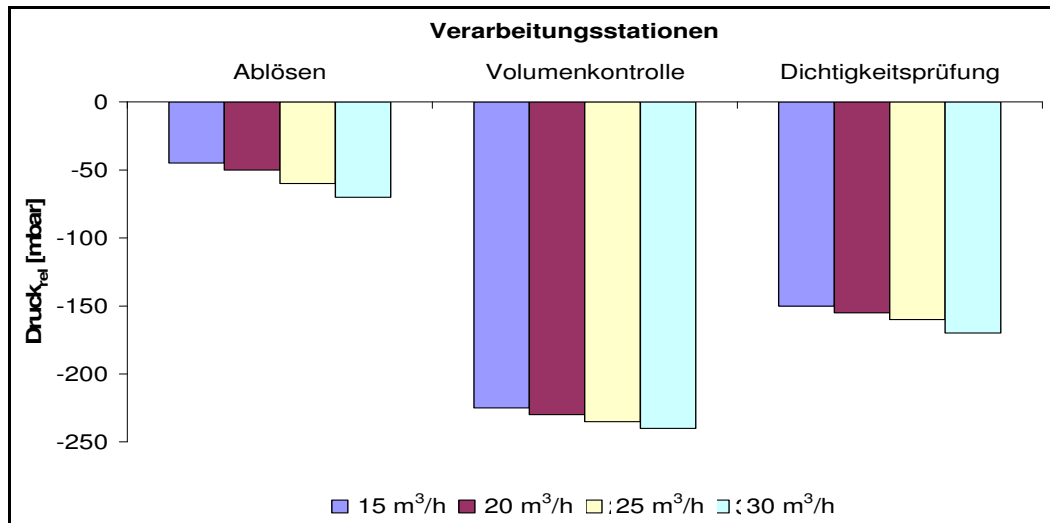


Abb. 9-32 Abhängigkeit zwischen Strömungsraten von 15 – 30 m³/h und erreichtem Vakuum in der DDC - Anlage (Pfad 2).

Der Unterschied zwischen den Verarbeitungsstationen erklärt sich aus dem Widerstand des jeweiligen Leitungssystems. Erwartungsgemäß ist der Unterdruck bei den Stationen am größten, die über stark verzweigte Luftleitungen (hoher Komplexizitätsgrad) verfügen. Beispiele hierfür sind die Volumenkontroll- und die Dichtigkeitsprüfstation. Es besteht folglich eine Proportionalität zwischen dem Systemwiderstand und vorherrschendem Unterdruck. Entsprechend deutet ein hoher Unterdruck in einem zu einer Seite offenen System auf eine reduzierte Durchflussleistung hin.

Dies wird durch die Ergebnisse der Durchflussmessung bestätigt (siehe Abb. 9-33).

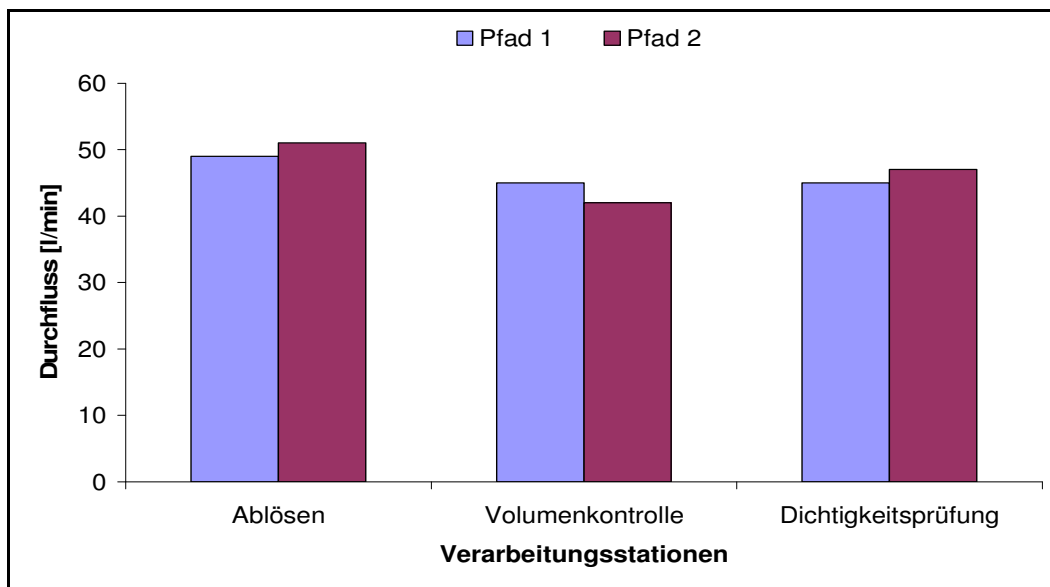


Abb. 9-33 Ergebnisse der Durchflussmessungen in der DDC – Anlage (Pfad 1 + 2).

Die Abhängigkeit zwischen dem sich einstellenden Unterdruck und der Strömungsrate innerhalb der Ringleitung begründet sich aus einem Venturi – Effekt im Bereich der Anbindungen der Verarbeitungsstationen. Durch die rechtwinklige Anordnung der Systemeinslässe erzeugt die in der Ringleitung vorherrschende Strömung einen, der Vakuumführung der einzelnen Stationen entgegen wirkenden Sog (siehe Abb. 9-34). Um diesen Effekt so klein wie möglich zu halten, wird die Strömungsrate auf $15 \text{ m}^3/\text{h}$ abgesenkt.

Die Absenkung der Strömungsrate macht eine Anpassung der Injektionsrate auf $1,5 \text{ g/min}$ erforderlich, mit dem Ziel die am erweiterten Testmodell evaluierte H_2O_2 – Gaskonzentration konstant zu halten und somit die Gefahr von Spot – Kondensation auszuschließen (siehe Kap. 9.3.3).

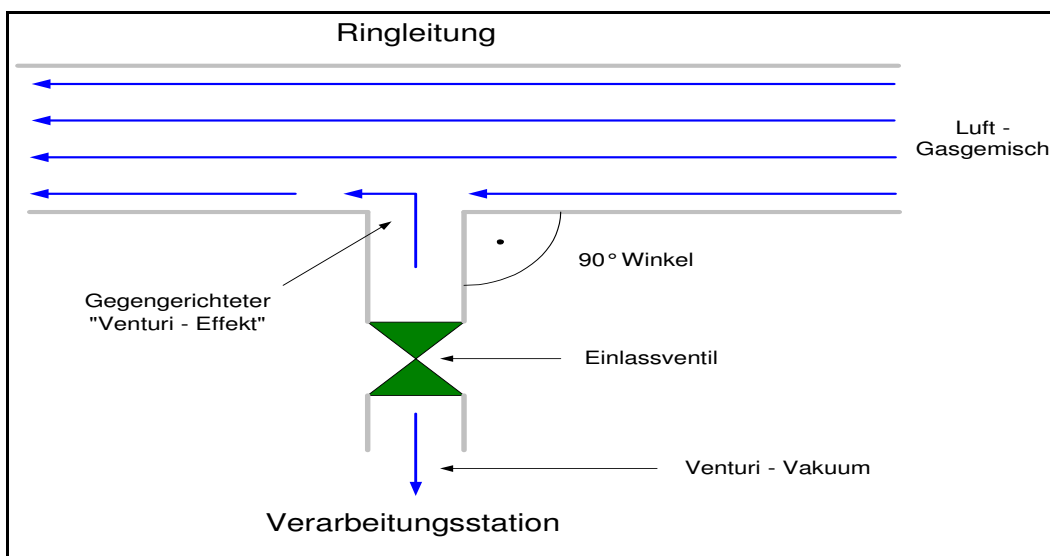


Abb. 9-34 Gegengerichteter „Venturi – Effekt“ im Bereich des Einlass zur Verarbeitungsstation.

9.4.2 Temperaturprofil im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

Entsprechend den Beobachtungen am erweiterten Testmodell wurden die Heizmatten des Sterilisationsmoduls der DDC - Anlage deaktiviert. Lediglich die Temperierung der Ringleitung musste aufrechterhalten werden, um eine Kondensation im zuführenden Leitungssystem zu vermeiden. Das Aufheizen der Ringleitung ist als separate Phase dem eigentlichen Sterilisationsprozess vorangestellt. Durch die Inaktivierung der Heizmatten wird innerhalb des gesamten Sterilisationsmoduls ein einheitliches Temperaturgefüge mit einer maximalen Temperaturdifferenz von 2,1 °C erreicht (siehe Abb. 9-35 und Abb. 9-36).

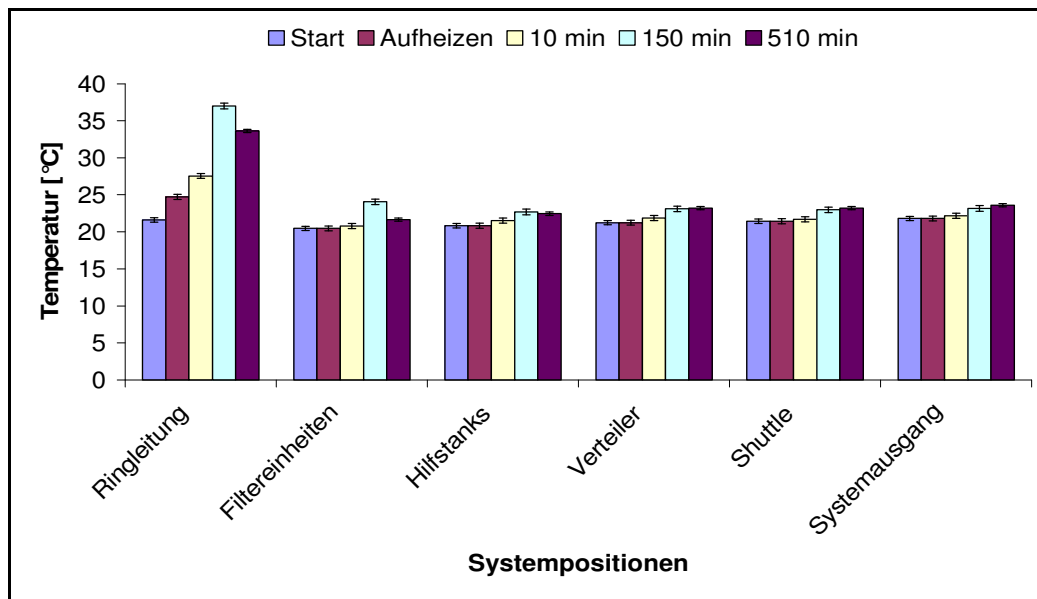


Abb. 9-35 Temperaturprofil des H₂O₂ - Luftstroms im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage (Pfad 1); [MW±SD; n=3;].

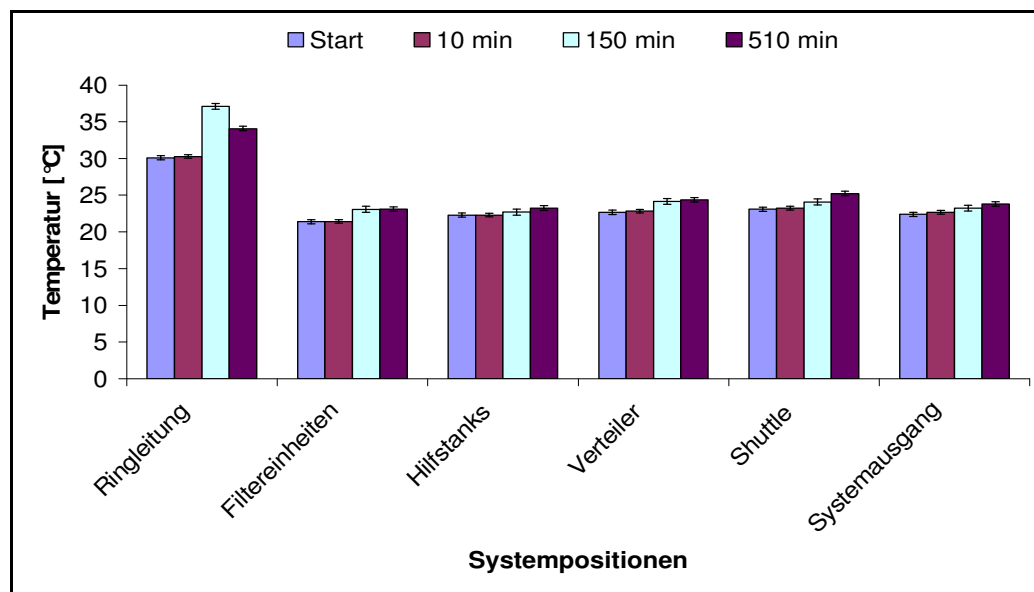


Abb. 9-36 Temperaturprofil des H₂O₂ - Luftstroms im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage (Pfad 2); [MW±SD; n=3;].

9.4.3 Feuchteprofil im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

Auch am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage können die Sterilisationszyklen mittels Feuchtemessung detailliert abgebildet werden (siehe Abb. 9-37).

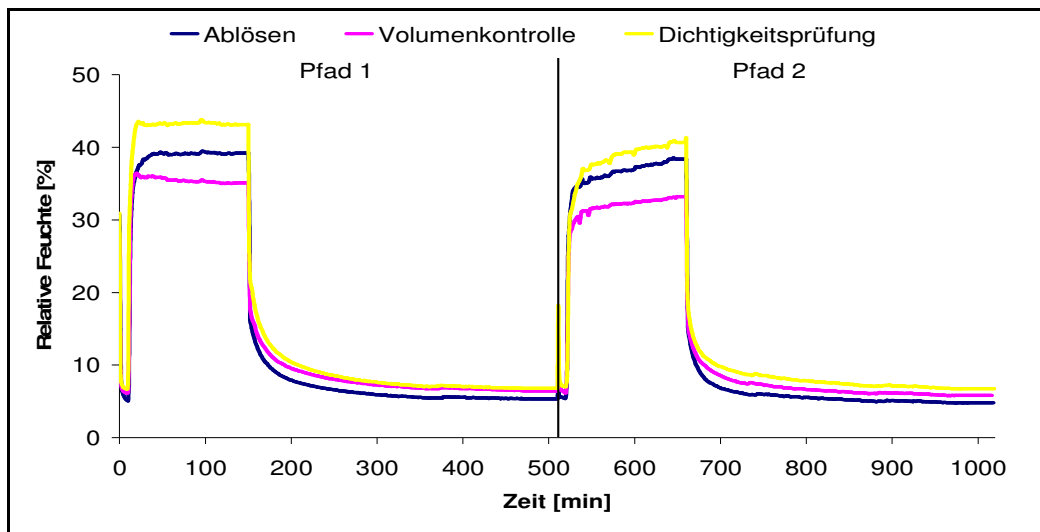


Abb. 9-37 Feuchteverlauf im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage (Pfad 1 und 2).
 Zyklusparameter: T = 10 min; S = 140 min; B = 360 min;
 Injektionsrate = 1,5 g/min; Strömungsrate = 15 m³/h.

Während der eigentlichen Sterilisationsphase stellen sich innerhalb der begasten Stationen in der Reihenfolge Dichtigkeitsprüfung > Ablösen > Volumenkontrolle unterschiedliche Feuchten ein. Bei einer mittleren Feuchte von 40 % über alle Stationen beträgt die maximale Differenz zwischen Dichtigkeitsprüf- und Volumenkontrollstation 8 %. Im direkten Vergleich der Sterilisationspfade liegt die Feuchte des zweiten Pfades durchschnittlich um 3 % niedriger. Dies ist auf die vorausgehende sechsstündige Belüftung des ersten Pfades zurückzuführen. Erwartungsgemäß zeigt sich bei einer Injektionsrate von 1,5 g/min keine Kondensation im System. Wird jedoch eine höhere Injektionsrate gewählt kommt es an allen Verarbeitungseinheiten zu Kondensationserscheinungen (siehe Abb. 9-38). Dabei sind besonders die Filtereinheiten und das unmittelbar angrenzende Leitungssystem betroffen.

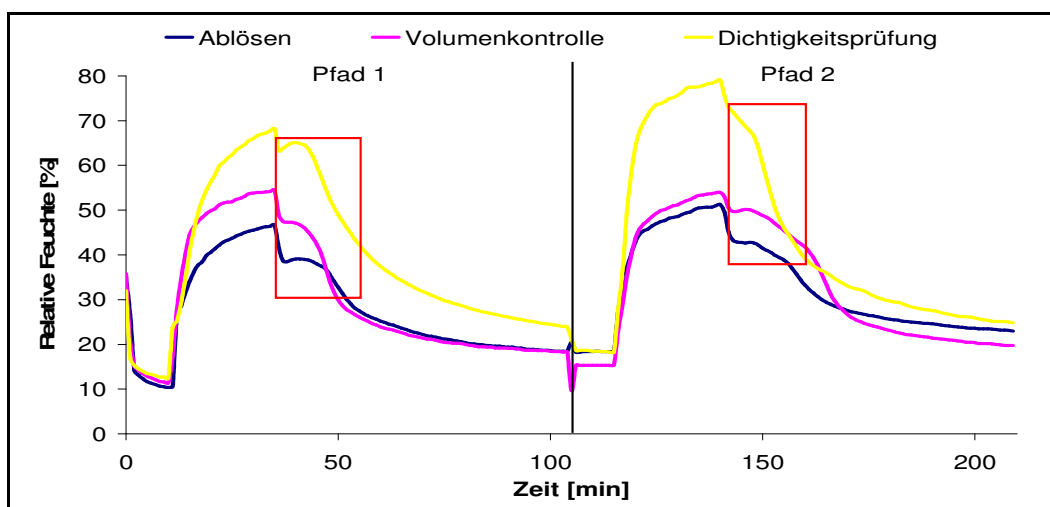


Abb. 9-38 Spot - Kondensation innerhalb des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage;
 Zyklusparameter: T = 10 min; S = 25 min; B = 70 min;
 Injektionsrate = 3,5 g/min; Strömungsrate = 15 m³/h.

Sind die Leitungen nicht horizontal eingebaut, sammelt sich das Kondensat in der Senke und kann nur durch Demontage der Leitungen entfernt werden. Aufgrund der guten Reproduzierbarkeit der Sterilisationszyklen lassen sich für die einzelnen Zyklusphasen Grenzwerte definieren, an Hand derer die Steuerung der DDC – Anlage den Verlauf der Sterilisation überwachen kann (siehe Tab. 9-6).

Tab. 9-6 Phasenbezogene Feuchtegrenzwerte zur Überwachung des Sterilisationsprozesses am Sterilisationsmodul der DDC – Anlage.

Zyklusphase	Relative Feuchte [%]
Trocknung	< 10
Sterilisation	> 25
	> 50
Belüftung	< 10

Im Bezug auf die Trocknungsphase erweisen sich die im Anschluss an die Sterilisation durchzuführenden Filtertests als kritisch. Alle Gasfilter werden mittels Wasserintrusionstests (WIT) auf Integrität geprüft [151]. Technisch bedingt verbleibt nach erfolgter Integritätstestung Restfeuchte auf der Oberfläche der Filterkerze (siehe Abb. 9-39).

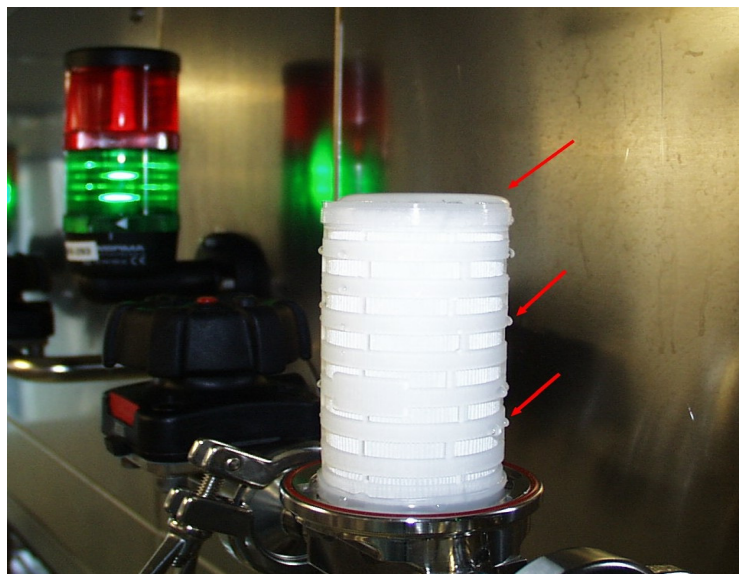


Abb. 9-39 Restfeuchte (siehe Pfeile) auf der Filteroberfläche.

Diese Restfeuchte wird im Verlauf der Produktion nur geringfügig reduziert und verhindert bei der nächsten Sterilisation ein effizientes Trocknen (< 10 min) der Anlage (siehe Abb. 9-40). Darüber hinaus verringert sich durch, die auf der Membranoberfläche anhaftende Restfeuchte die Gasdurchlässigkeit der Filter. In diesem Fall ist ein reproduzierbares Durchströmen der Gasfilter mit Wasserstoffperoxid ist nicht mehr gewährleistet. Aus diesem Grund ist vor jeder Sterilisation eine manuelle Trocknung der Filter mit anschließender Druckluftspülung über sechzig Minuten notwendig.

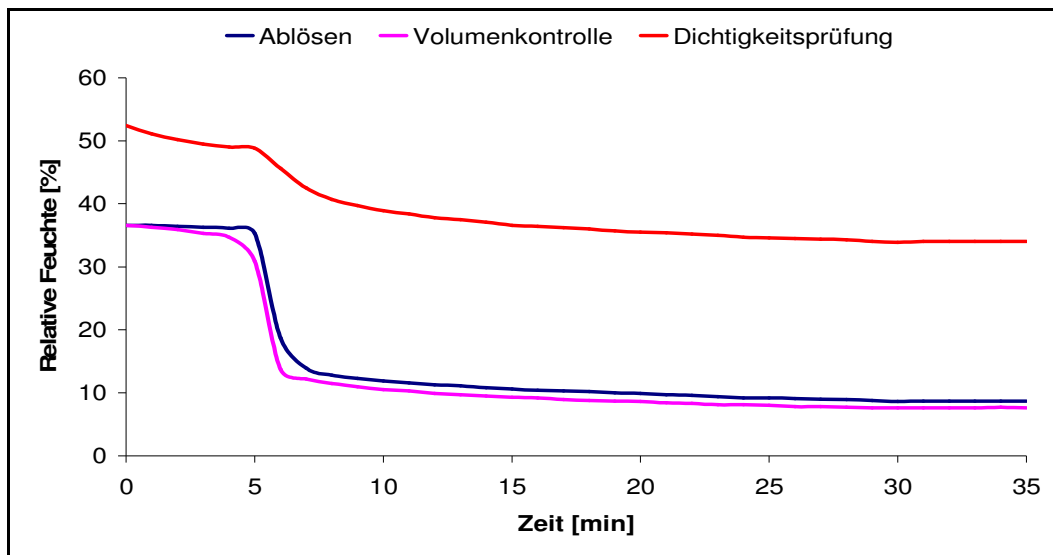


Abb. 9-40 Einfluss des Filtertests auf die Trocknungsphase; Restfeuchte innerhalb des Filtergehäuses verhindert eine effektive Trocknung der Verarbeitungsstation „Dichtigkeitsprüfung“.

9.4.4 Wasserstoffperoxidgasprofil im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

Die Online - Messung der Wasserstoffperoxid - Konzentration konnte technisch nur in der Ringleitung realisieren werden. Bei einer Injektionsrate von 1,5 g/min wird eine durchschnittliche Gaskonzentration von 1300 ppm beobachtet (siehe Abb. 9-41). Zur Anreicherung zirkuliert das Wasserstoffperoxidgas fünf Minuten lang ausschließlich in der Ringleitung, bevor es anschließend über die Stationen geführt wird. Diese Konditionierungsphasen finden sich als Peaks im Konzentrationsprofil wieder.

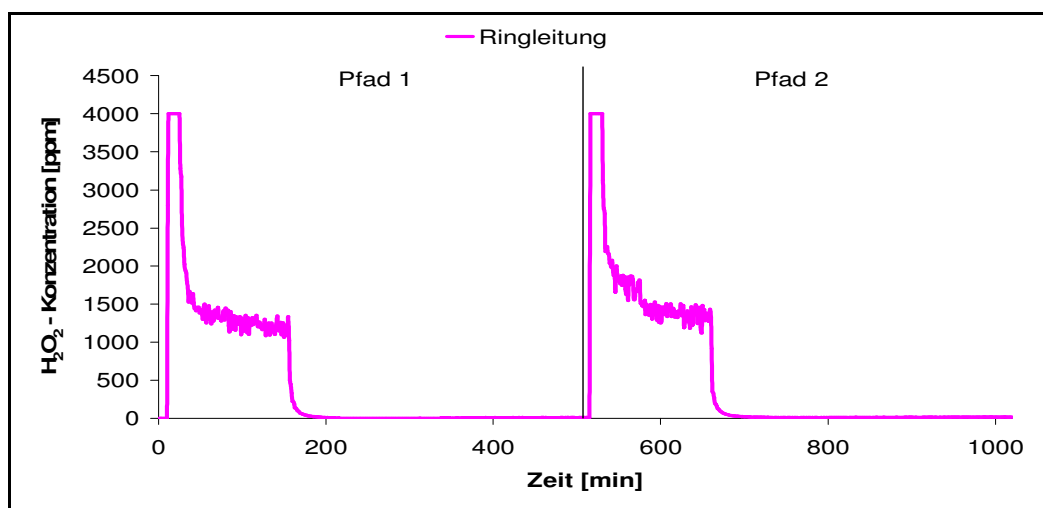


Abb. 9-41 H₂O₂ Konzentration innerhalb der Ringleitung im Sterilisationsmodul der DDC - Anlage; Pfad 1 + 2). Zyklusparameter: T = 10 min; S = 140 min; B = 360 min, Injektionsrate = 1,5 g/min; Strömungsrate = 15 m³/h.

Die Verteilung des Gases innerhalb des Sterilisationsmoduls wurde mittels der Chemoindikatoren nachgewiesen. Analog dem erweiterten Testmodell garantieren die endständigen Vakuumpumpen eine gleichmäßige Verteilung des Gases innerhalb der einzelnen Verarbeitungsstationen.

Für die Belüftung werden pro Sterilisationspfad 360 min benötigt. Die Gegenüberstellung in Tab. 9-7 zeigt, dass dieser erhöhte Zeitbedarf durch die Dichtigkeitsprüfstation hervorgerufen wird.

Tab. 9-7 Validierung der Belüftungsdauer im Sterilisationsmodul der DDC – Anlage.
Zyklusparameter: T= 10 min; S = 140 min; A = 360; Injektionsrate = 1,5 g/min;
Strömungsrate = 15 m³/h.

Belüftungsdauer [min]	H ₂ O ₂ – Konzentration [ppm]			
	Ringleitung	Verarbeitungsstationen ^a		
		AL	VO	DI
60	> 3	> 3	> 3	> 3
120	> 3	> 3	> 3	> 3
180	2-3	2-3	> 3	> 3
240	< 1	1 - 2	2	> 3
300	-	< 1	< 1	2
360	-	-	-	< 1

^a AL = Ablösen; VO = Volumenkontrolle; DI = Dichtigkeitsprüfung

Die im Zusammenhang mit der Validierung der Belüftungsphase durchgeführte worst case – Studie (siehe Kap. 7.6.3) an Kunststoffbehältern zeigt, dass bereits nach 120 min Belüftung die Wasserstoffperoxidkonzentration auf den Oberflächen der Kunststoffbehälter zwischen 0 und 0,5 ppm liegt.

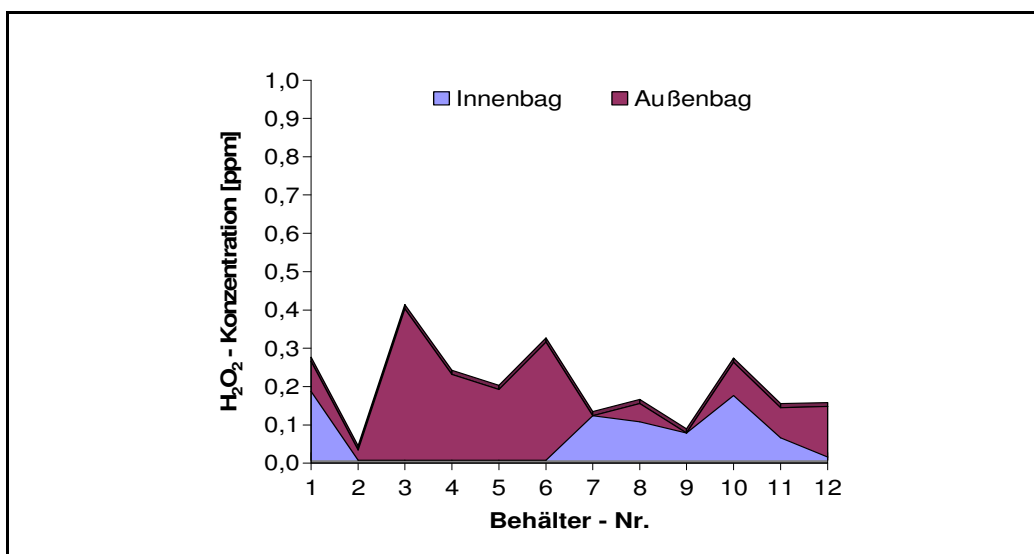


Abb. 9-42 Ergebnisse der worst - case Studie zur Behälteradsorption durchgeführt am erweiterten Testmodell [MW; n=3]. Zyklusparameter: T= 10 min; S = 140 min; A = 120; Injektionsrate = 1,5 g/min; Strömungsrate = 15 m³/h.

Durch die Verdreifachung der Belüftungszeit wird eine Kontamination der Kunststoffbehälter mit H₂O₂ unter Produktionsbedingungen ausgeschlossen.

9.4.5 Mikrobiologische Leistungsbeurteilung des Sterilisationsmoduls der DDC -Anlage

Für die D – Wert Bestimmung wird eine Einwirkzeit von 160 min gewählt.

Die Injektionsrate wird, entsprechend den Ergebnissen des Feuchtemonitorings, auf 1,5 g/min bei einer Strömungsrate von 15 m³/h festgelegt. Jeweils fünf Bioindikatoren pro Entnahmezeitpunkt werden mit Hilfe der BIEE vom Typ 2 im Schlauchsystem der Verarbeitungsstationen platziert (siehe Abb. 9-25). Abb. 9-43 stellt die auf Basis der Reactive Pattern (siehe Tab. 13-13 bis Tab. 13-18) berechneten D – Werte der einzelnen Stationen graphisch gegenüber.

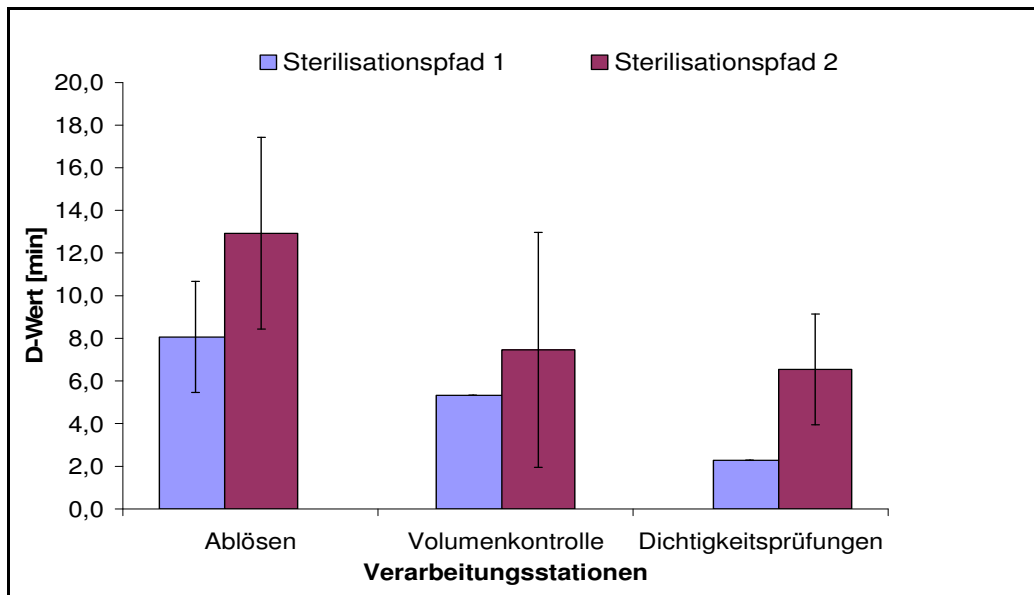


Abb. 9-43 D – Werte der einzelnen Verarbeitungsstationen der DDC – Anlagen (Pfad 1 und Pfad 2) [MW; n=3; ±SD]. Zyklusparameter: T= 10 min; S = 160 min; A = 360; Injektionsrate = 1,5 g/min; Strömungsrate = 15 m³/h.

Mit zunehmendem Abstand zwischen Gasgenerator und Verarbeitungsstation sinkt die Effizienz des VPHP – Verfahrens (Dichtigkeitsprüfung > Volumenkontrolle > Ablösen). Dieser Effekt wird bei beiden Sterilisationspfaden beobachtet. Der Grund hierfür liegt in der seriellen Anordnung der Verarbeitungsstationen, die zu einer ungleichmäßigen Gasverteilung zwischen gesättigter Ringleitung und abgehenden Stationen führt. Begünstigt wird diejenige Station die sich in unmittelbarer Nähe zum Gasgenerator befindet. Ebenfalls mit Effizienzeinbußen verbunden ist der Wechsel auf den zweiten Sterilisationspfad. So erhöht sich beispielsweise bei der Dichtigkeitsprüfstation der D – Wert um das Dreifache. Hier liegt die Ursache in der langen Belüftungsphase des ersten Sterilisationspfades. Diese führt zu einer reduzierten Feuchte im System, und wirkt dadurch der keimtötenden Wirkung des Wasserstoffperoxidgases entgegen. Der Zusammenhang zwischen D – Wert und relativer Systemfeuchte wird besonders deutlich, wenn man die Sterilisationseinrichtungen unter Einbeziehung der durchschnittlichen Feuchtwerte miteinander vergleicht (siehe Abb. 9-44).

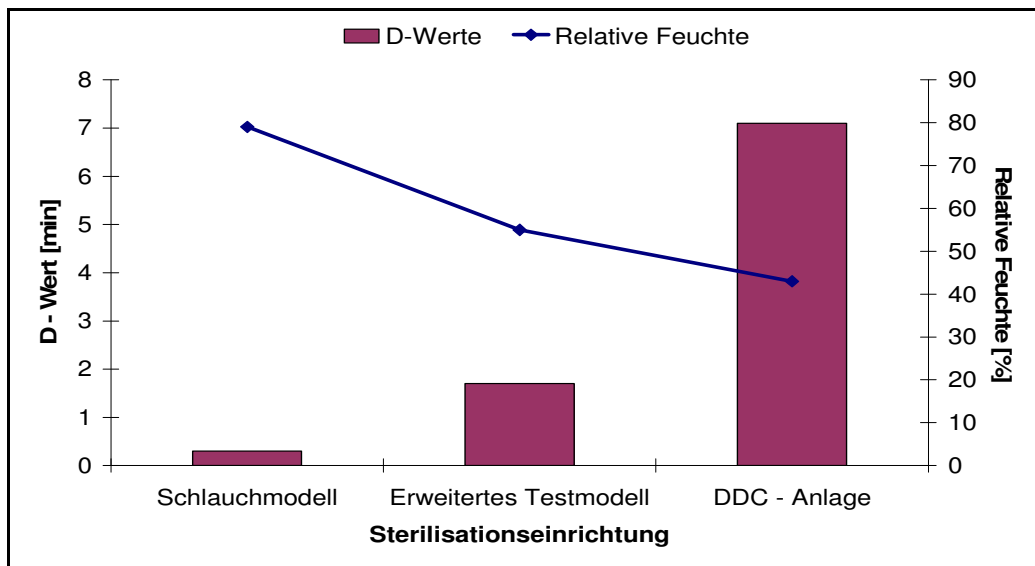


Abb. 9-44 Gegenüberstellung der an den verschiedenen Sterilisation - Einrichtungen beobachteten mittleren D - Werte und der beobachteten durchschnittlichen Systemfeuchten.

Ein Absenken der Feuchte innerhalb des Leitungssystems geht zwangsläufig mit einem Anstieg des D - Wertes einher. Ein Verhalten das auch im Isolator beobachtet wird und das charakteristisch für das VPHP - Verfahren ist [152].

Für das Sterilisationsmodul der DDC - Anlage leiten sich aus den berechneten D - Werten bei einem theoretischen Bioburden von $1,0 \times 10^6$ KBE die in Abb. 9-45 zusammengefassten Überlebenskurven ab.

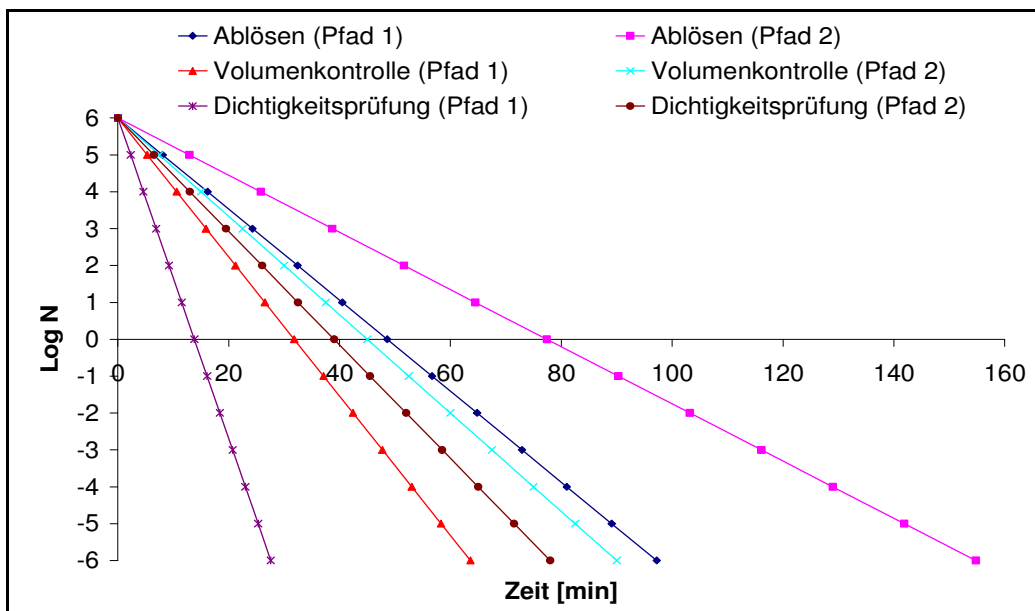


Abb. 9-45 Überlebenskurven am Sterilisationsmodul der DDC - Anlage.

Auf der Grundlage des für die Ablösestation (Pfad 2) ermittelten D - Wertes von 12,9 min (= worst case - Station), berechnet sich unter Anwendung der Form. 3-7 eine Einwirkzeit von 141,9 min pro Sterilisationspfad. Dies entspricht einer Keimreduktionsrate von 11 log Stufen, mit der das Abtötungsfenster sicher erreicht wird. Der sich daraus ableitende Sterilisationszyklus ist in Abb. 9-46 dargestellt.

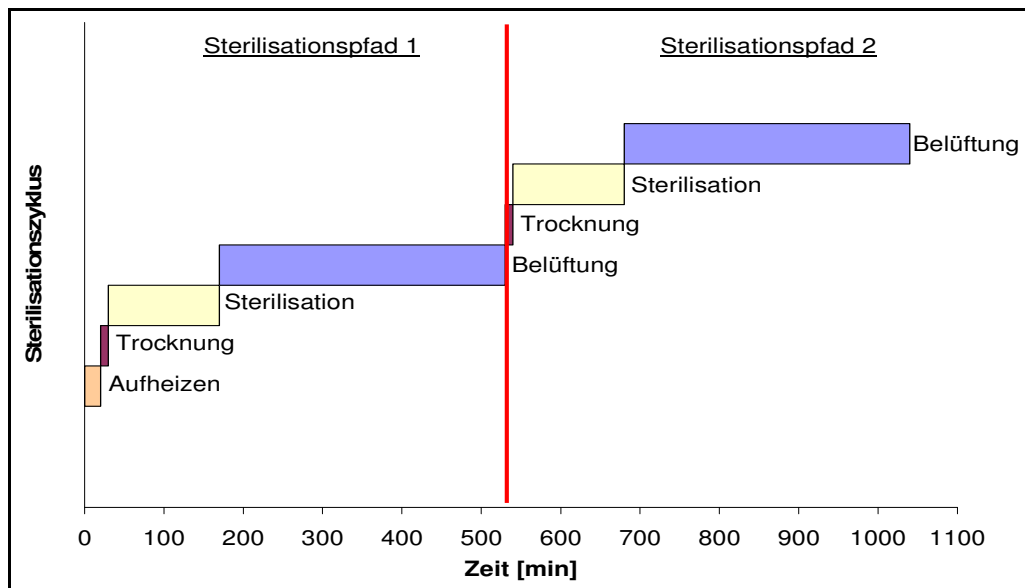


Abb. 9-46 Validierte Zykluszeiten: Sterilisationsmodul der DDC – Anlage;
Injektionsrate 1,5 g/min; Strömungsrate 15 m³/h.

Dieser wurde anhand von drei aufeinander folgenden Sterilisationsläufen und unter Berücksichtigung der im Kap. 7.7.2.3 aufgeführten Positionen validiert.

9.4.6 Materialprüfung am Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

Die Kompatibilität der für die Konstruktion des Leitungssystems verwendeten Materialien mit dem Wasserstoffperoxidgas ist entscheidend für die Anwendbarkeit des Sterilisationsverfahrens. Während sowohl die Stahloberflächen der Verteiler und Hilfstanks, als auch die Innenflächen der Poylethylenschläuche als Folge der Einwirkung von Wasserstoffperoxid keine Veränderungen aufweisen, lassen die REM – Aufnahmen bei den aus Buna[®] (siehe Kap. 7.8) bestehenden Dichtungen Materialermüdungen in Form von Rissen und Ablagerungen erkennen (siehe Abb. 9-47 bis Abb. 9-49).

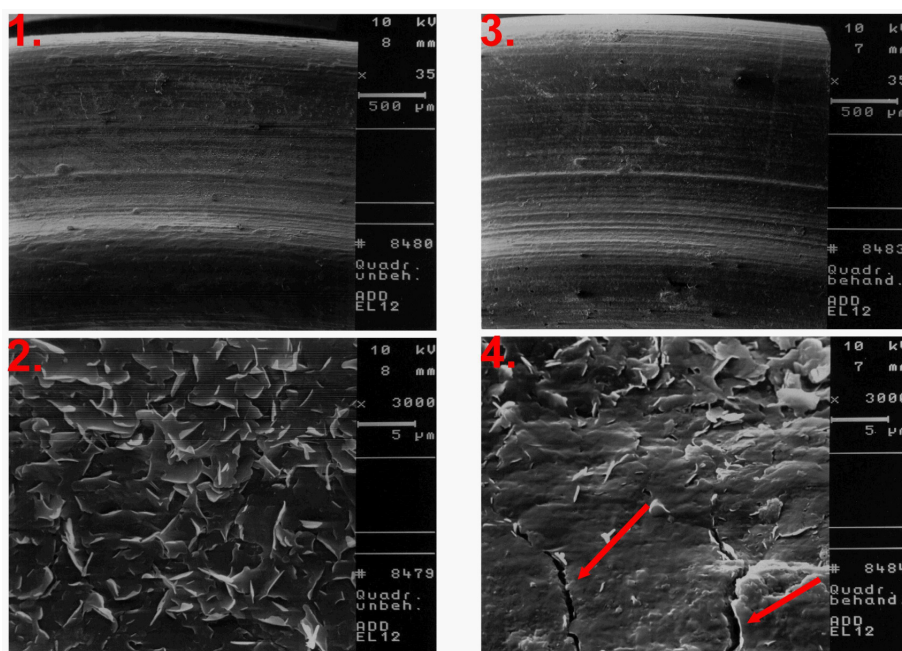


Abb. 9-47 REM – Aufnahmen der Prüfformdichtung aus Buna[®]: 1. unbehandelt (500 μm), 2. unbehandelt (5 μm), 3. gestresst (500 μm) und 4. gestresst (5 μm). Die Pfeile markieren die Risse in der Dichtungsoberfläche.

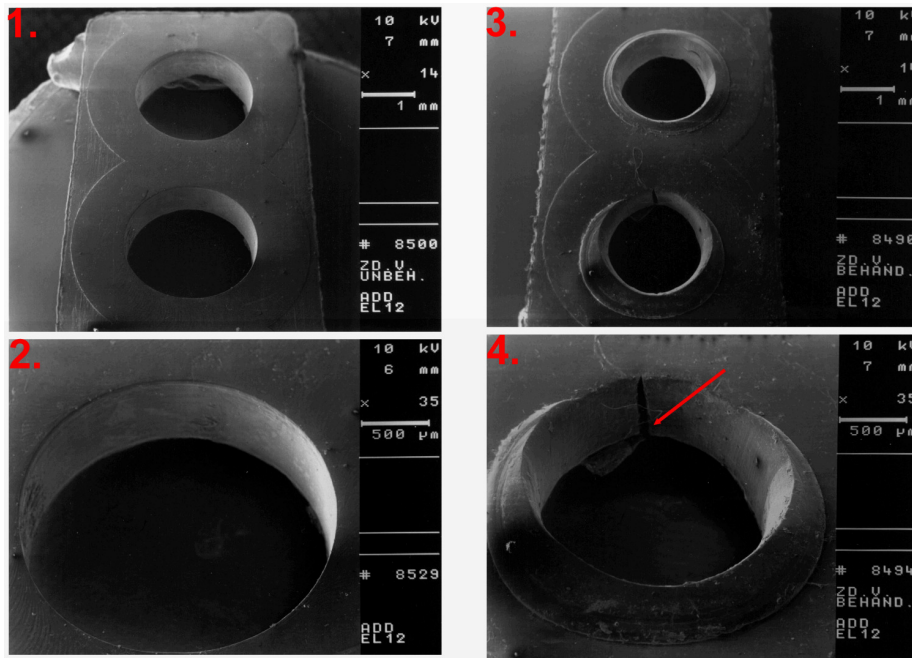


Abb. 9-48 REM – Aufnahmen der Ventilsitzdichtung aus Buna®: 1. unbehandelt (1 mm), 2. unbehandelt (500 µm), 3. gestresst (1 mm) und 4. gestresst (500 µm). Der Pfeil markiert den Riss in der Dichtungsbohrung.

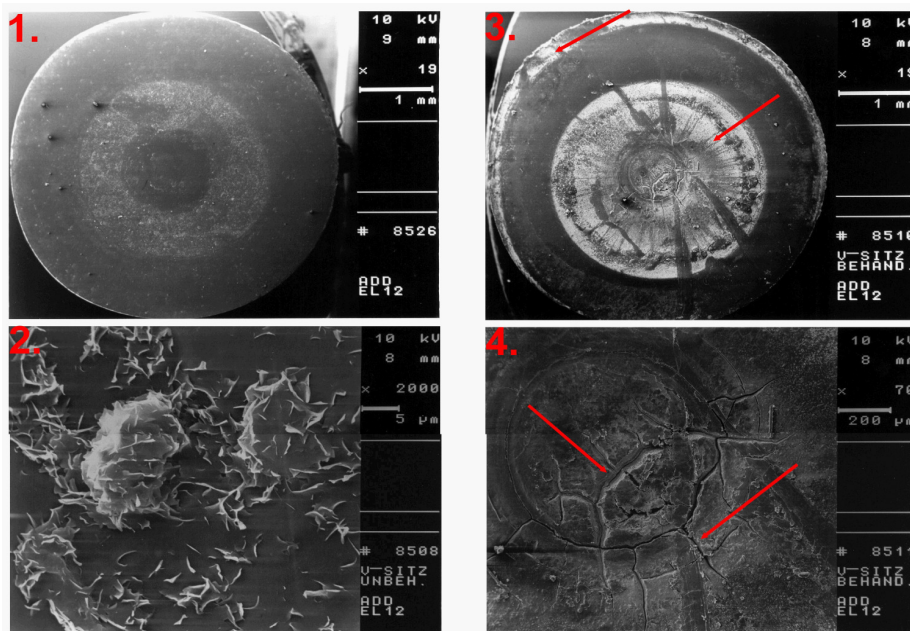


Abb. 9-49 REM – Aufnahmen der Zylinderdichtung aus Buna®: 1. unbehandelt (1 mm), 2. unbehandelt (5 µm), 3. gestresst (1 mm) und 4. gestresst (200 µm). Die Pfeile markieren die Ablagerungen und Risse auf bzw. in der Dichtungsoberfläche.

In Folge der Materialermüdungen kommt es nach Sterilisationsende zu Undichtigkeiten einzelner Prüfkreise und dadurch zu einer Beeinträchtigung der Aufbereitungs- und Prüfsysteme der DDC – Anlage (siehe Abb. 9-50).

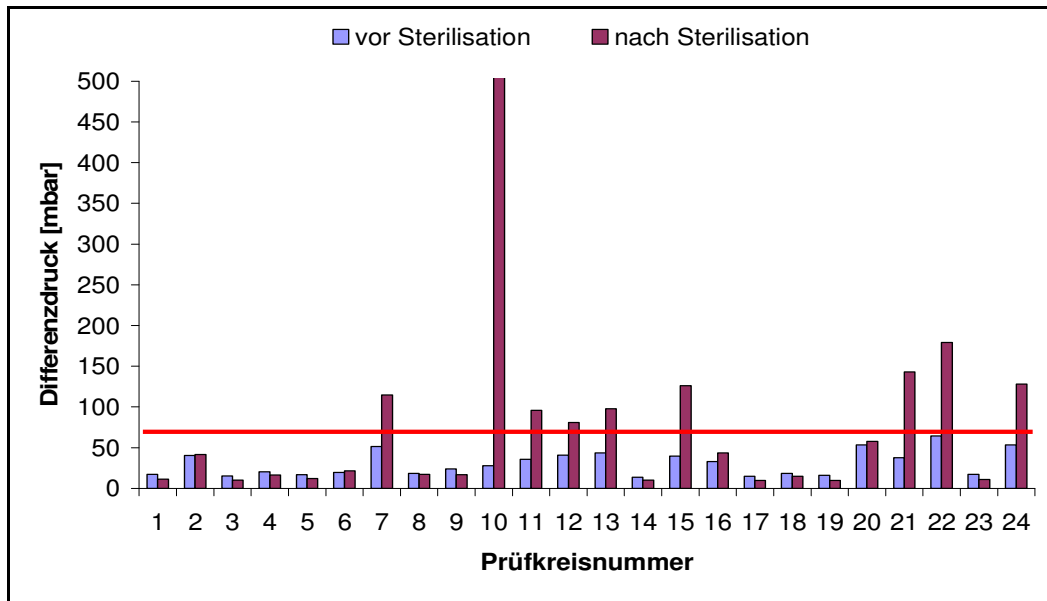


Abb. 9-50 Undichtigkeiten einzelner Prüfkreise beobachtet an den Verarbeitungsstationen „Dichtigkeitsprüfung“ (MW; n = 7); Die rote Linie zeigt den Differenzdruck an, ab dem ein Prüfkreis als undicht charakterisiert wird.

Aufgrund der Inkompatibilität wird Buna® als ungeeignet für den Einsatz in einer Wasserstoffperoxidgasatmosphäre eingestuft. Eine vergleichbare Bewertung findet sich bei Paul J. Haas [153]. Sämtliche auf diesem Material basierende Dichtungen wurden gegen beständige Silikon- oder PTFE (Teflon) - Dichtungen ausgetauscht (siehe Abb. 9-51).

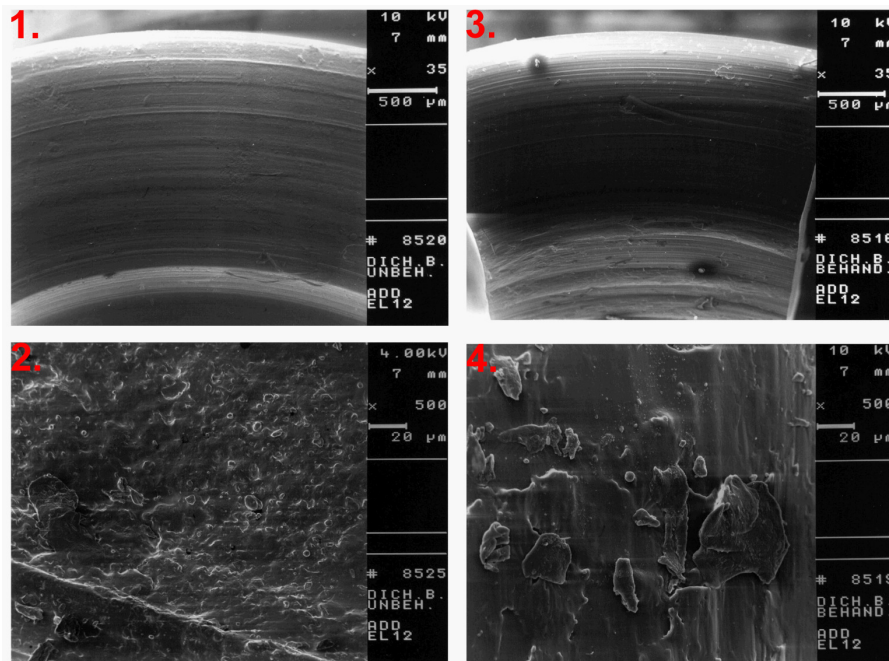


Abb. 9-51 REM – Aufnahmen der Behälterdichtung aus Silikon: 1. unbehandelt (500 μm), 2. unbehandelt (20 μm), 3. gestresst (500 μm) und 4. gestresst (20 μm). Die Oberflächen lassen keine Veränderungen durch Gaseinwirkung erkennen.

9.4.7 Entwicklung eines Konzeptes zur Optimierung des Sterilisationsmoduls der DDC - Anlage

Vor dem Hintergrund des aufgezeigten Zusammenhanges zwischen der Gasverteilung über die Ringleitung gekoppelt mit einer seriellen Anordnung der Prüfstationen und der reduzierten Sterilisationseffizienz wurde ein Konzept zur Optimierung des Sterilisationsmoduls ausgearbeitet (siehe Abb. 12-7). Zentrales Element des überarbeiteten Sterilisationsmoduls ist dabei eine in die DDC - Anlage integrierte Verdampfeinheit (siehe Kap. 5.7.1), die unabhängig vom Kreislaufprinzip H_2O_2 - Gas in einen rechteckigen, beheizten Verteiler einspeist. Ventilatoren im Verteiler verhindern eine Schichtung des H_2O_2 . Das Gas wird mittels Gebläse aus dem Verteiler über die Verarbeitungsstationen transportiert und anschließend an den Verteiler rückgeführt. Auf diese Weise wird das Erreichen der Systemsättigung beschleunigt und die nachzudosierende H_2O_2 - Menge abgesenkt. Die Beaufschlagung der Verarbeitungsstationen mit Wasserstoffperoxidgas erfolgt nicht zeitgleich sondern sequentiell. Auf diese Weise wird ein Ungleichgewicht bei der Gasverteilung vermieden und die Einwirkzeit pro Verarbeitungsstation kann deutlich verkürzt werden.

Durch eine Entkopplung der Druckluftzufuhr ist es jedoch möglich, parallel die eine Station zu sterilisieren während die andere belüftet wird. Die simultane Abarbeitung einzelner Sterilisationsphasen ermöglicht eine Reduzierung der Gesamtdauer des Sterilisationszyklus. Aus der Simulation ergibt sich der in Abb. 9-52 dargestellte optimierte Sterilisationszyklus. Es ergibt sich gegenüber dem bestehenden Modul eine Zeitersparnis von ca. zehn Stunden.

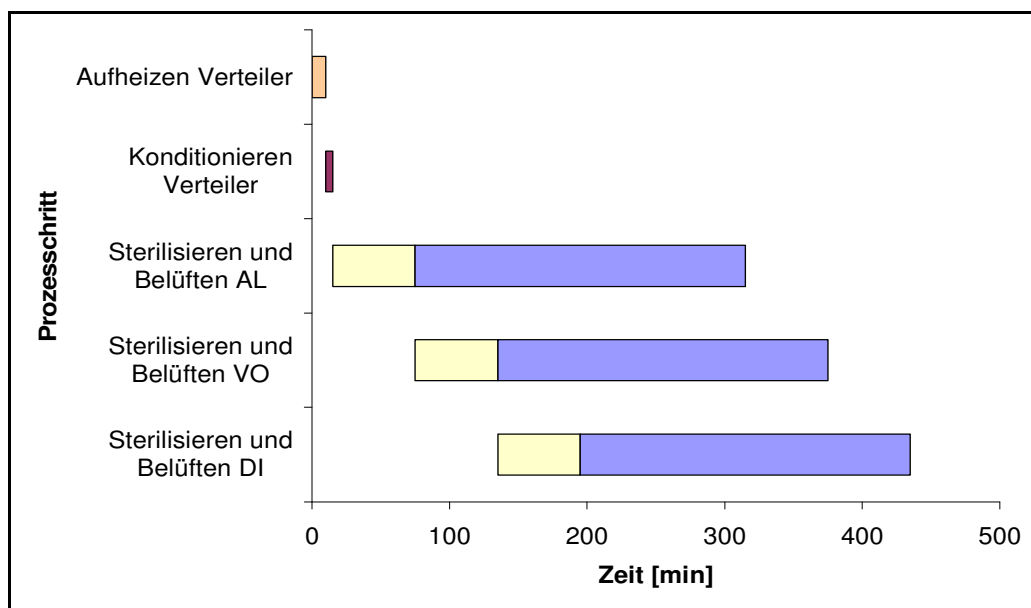


Abb. 9-52 Simulierte Zykluszeiten: Optimiertes Sterilisationsmodul der DDC - Anlage

9.4.8 Diskussion

Das VPHP - Sterilisationsverfahren konnte auch am Leitungssystem der DDC - Anlage erfolgreich zur Anwendung gebracht werden. Das entwickelte Sterilisationsmodul gewährleistet eine sichere Keimreduktion auf allen beaufschlagten Oberflächen. Analog dem Übergang vom Schlauchmodell zum erweiterten Testmodell ging jedoch die Erhöhung der Systemkomplexität erneut mit einer Reduzierung der Prozessperformance einher. Dabei erweist sich der Zusammenhang zwischen Komplexitätsgrad und Performancereduzierung als annähernd linear. Bei gleich bleibender Injektionsrate bedeutet die Erweiterung des Leitungssystems von eins auf sechs zu sterilisierende Prüfstationen gleichzeitig eine Erhöhung des D - Wertes um den Faktor sechs.

Als Ursache für die geminderte Verfahrenseffizienz konnten zwei Faktoren identifiziert werden. Zum einen wird durch eine zeitintensive Gasabbauphase die relative Feuchte innerhalb des Leitungssystems stark gesenkt. In Folge erhöht sich beim zweiten Sterilisationspfad die Zeit, die das H₂O₂ zur Durchdringung und Abtötung der Sporen benötigt. Zum anderen führt das gaszuführende Kreislaufsystem, bestehend aus Generator und Ringleitung, zu einer ungleichmäßigen Verteilung des Wasserstoffperoxids auf die einzelnen Verarbeitungsstationen. Daraus resultierend muss, wie im Fall der Ablösestationen, mehr Zeit aufgewendet werden, um das Leitungssystem mit H₂O₂ zu sättigen. Neben dem Einfluss der zentralen Verteilung spielen in diesem Zusammenhang auch die unterschiedlichen Ausprägungen des jeweiligen Leitungssystems der Prüfeinheiten eine, wenn auch untergeordnete, Rolle. Mit der Ausarbeitung eines Konzeptes zur Optimierung der Konstruktion des Sterilisationsmoduls und damit einhergehend des Programmablaufs wurden Möglichkeiten aufgezeigt die Effizienz zu verbessern (siehe Kap. 9.4.7). Im Zusammenhang mit der Evaluierung des Sterilisationszyklus an der DDC - Anlage wurde der Einfluss des Wasserstoffperoxids auf die eingesetzten Ventile deutlich. Die aus Buna[®] bestehenden Ventildichtungen hielten der oxidierenden Wirkung der H₂O₂ auf Dauer nicht Stand. Mit Silikon und Teflon konnten jedoch Dichtungsmaterialien qualifiziert werden, die sich unter Wasserstoffperoxidatmosphäre als beständig erwiesen. Neben dem Nachweis des Sterilisationseffektes und der Materialverträglichkeit konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass bei Einhaltung der validierten Belüftungsphase eine Kontamination der zu prüfenden Kunststoffbehälter unter Produktionsbedingungen ausgeschlossen ist.

10 Ethylenoxid – Sterilisation

10.1 Grundlagenstudie zur Anwendung der Ethylenoxidsterilisation

Zunächst soll anhand von standardisierten Halbzyklen mit einer Einwirkzeit von zwei Stunden die grundsätzliche Sterilisierbarkeit der Respimat[®] – Primärbauteile mittels Ethylenoxid gezeigt werden. Tab. 10-1 gibt eine Übersicht der Prozessparameter.

Tab. 10-1 Sterilisationsparameter des von der Fa. Rose verwendeten Standard – Halbzyklus A 01.

Sterilisationsphase	Dauer [h]	T [°C]	rF [%]	P [mbar]	ETO – Konz. [mg/l]
Vorkonditionierung	10 – 48	45 – 53	45 – 80	-	-
Sterilisation	2	45 – 53 ^b	50 – 80 ^b	-890 ^a -48 bis -60 ^b	465 - 562
Nachkonditionierung	22 - 54	45 - 53	-	-	-

^a Initialvakuum ^b nach Gaseinlass

Jeweils 10 Bauteile werden mit einem Bacillus subtilis - Bioindikator präpariert (siehe Kap. 8.2.3). Anschließend werden diese Bauteile gemäß Packschema in ein Doppel - Sterilbeutelssystem eingeschweißt (siehe Kap. 8.2.2) und auf einer Palette platziert. Die Palette wird dann als Teil einer Mischbeladung in der jeweiligen Sterilisierkammer mit Ethylenoxid beaufschlagt. Zusätzlich zu den Bauteil - Bioindikatoren werden weitere 25 (Sterilisierkammer 2K0669) bzw. 82 (Sterilisierkammer K2) Bioindikatoren gleichmäßig auf die gesamte Kammerbeladung verteilt. Die Entnahme der Bioindikatoren erfolgt unmittelbar nach der Begasung. Tab. 10-2 fasst die Ergebnisse der Wachstumskontrolle zusammen. Nach einer zweistündigen Beaufschlagung der Kunststoffbauteile mit Ethylenoxid sind alle Bioindikatoren abgetötet.

Tab. 10-2 Qualitative Auswertung der Bioindikatoren aus Sterilisationslauf 1 und 2.

Einwirkzeit	Gaskonzentration	Kunststoffbauteil	Bioindikatoren (Positionierung)	
			Präparierte Bauteile	Kammerbeladung
2 h	500 mg/l	Behälter	-	-
		Verschluss	-	-

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

10.1.1 Diskussion

Die Vorversuche unter Anwendung von validierten Standardzyklen belegen die grundsätzliche Anwendbarkeit des Sterilisationsverfahrens auf die Kunststoffbauteile. Aufgrund der nachgewiesenen Keimreduktion innerhalb der für das Gas schwer zugänglichen Zwischenräume, lässt sich ableiten, dass alle Bauteiloberflächen vom Ethylenoxidgas erfasst, durchdrungen und sterilisiert werden. Da jedoch das Einbringen der Bioindikatoren zu einer Vergrößerung der Zwischenräume innerhalb der Bauteile führt, ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Bauteile im Originalzustand nicht gegeben. Aus diesem Grund wurden provozierende Prüfkörper (siehe Kap. 8.2.3.1) entwickelt, die zur weiteren Verfahrensevaluierung (siehe Kap. 10.5) eingesetzt werden.

10.2 Materialprüfungen an sterilisierten Kunststoffbehältern und Kunststoffverschlüssen

In Ergänzung zur Grundlagenstudie sollen Materialprüfungen aufzeigen, ob es durch die Ethylenoxidsterilisation zu Beeinträchtigungen der physikalischen Eigenschaften der Bauteile kommt. Dabei werden Vergleiche zur Dampf-, Plasma- und Strahlensterilisation gezogen.

10.2.1 Prüfung auf Veränderungen von Abmessungen und Gewicht

Der Vergleich der Abmessungen zwischen sterilisierten und unbehandelten Bauteilen zeigt keine Auffälligkeiten (siehe Tab. 14-1 und Tab. 14-2). Durch die Ethylenoxidsterilisation kommt es weder bei den Dimensionen noch beim Gewicht zu Veränderungen. In Abb. 10-1 bis Abb. 10-6 sind die Ergebnisse bezüglich des Kunststoffverschlusses graphisch dargestellt. Abb. 10-7 bis Abb. 10-11 geben die Messergebnisse des Kunststoffbehälters wieder.

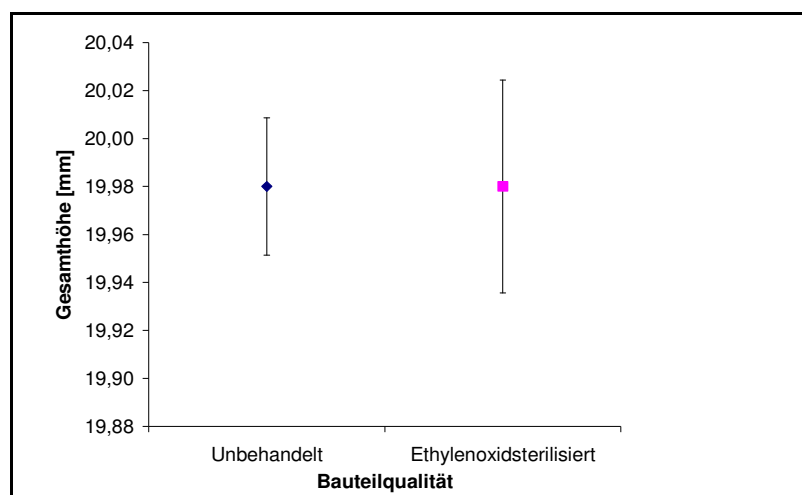


Abb. 10-1 Vergleich der Gesamthöhe von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW ± SD; n = 30].

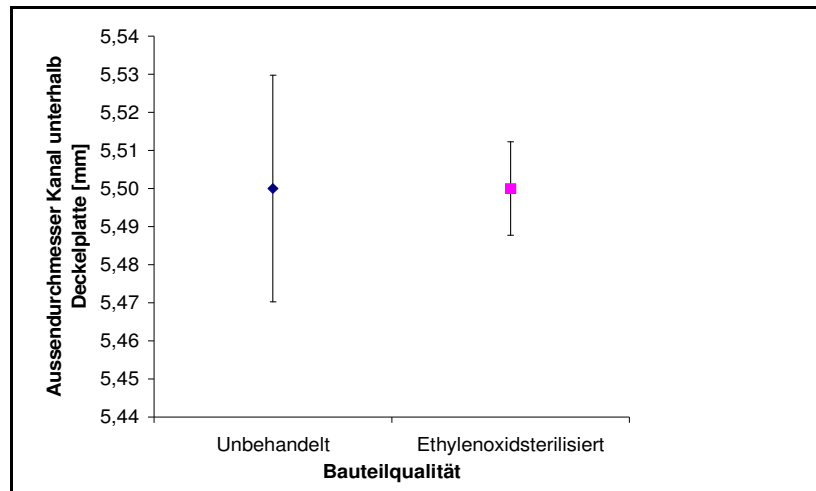


Abb. 10-2 Vergleich der Außendurchmesser des Kanals unterhalb der Deckelplatte von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW \pm SD; n = 30].

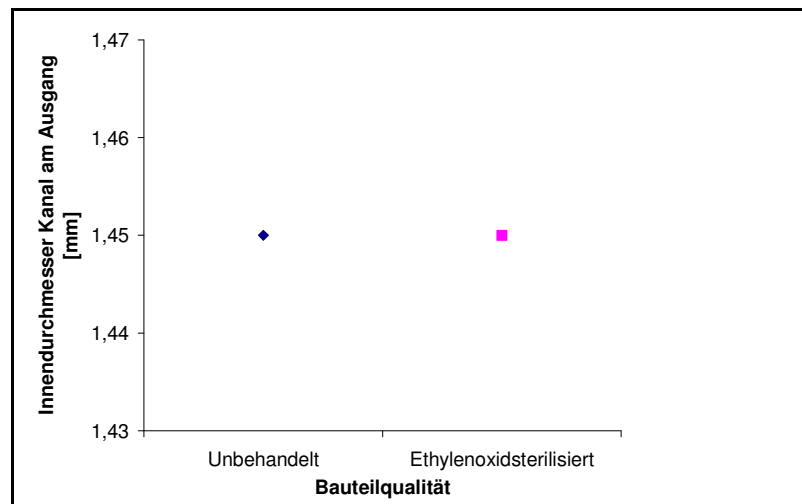


Abb. 10-3 Vergleich der Innendurchmesser des Kanals am Ausgang von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW; n = 30].

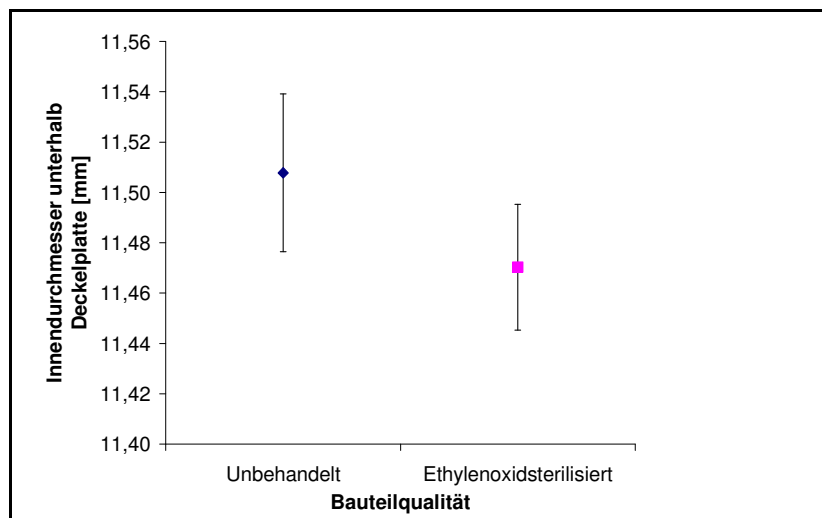


Abb. 10-4 Vergleich der Innendurchmesser unterhalb der Deckelplatte von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW \pm SD; n = 30].

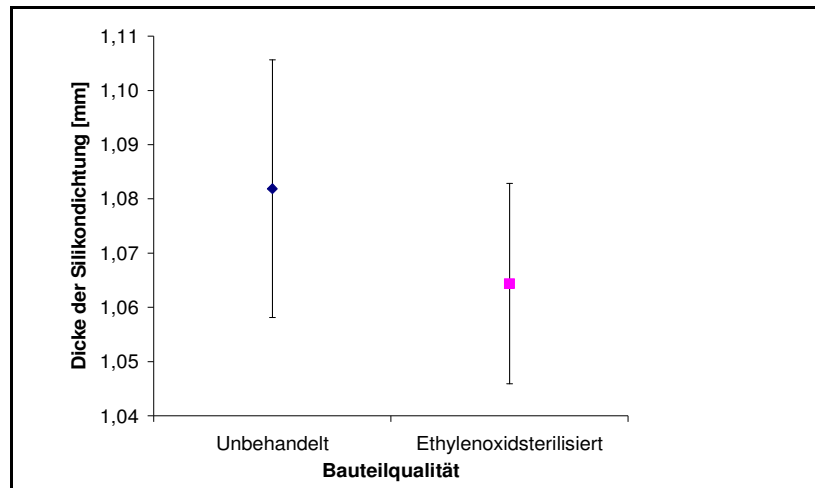


Abb. 10-5 Vergleich der Dicke der der Silikondichtung von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW \pm SD; n = 30].

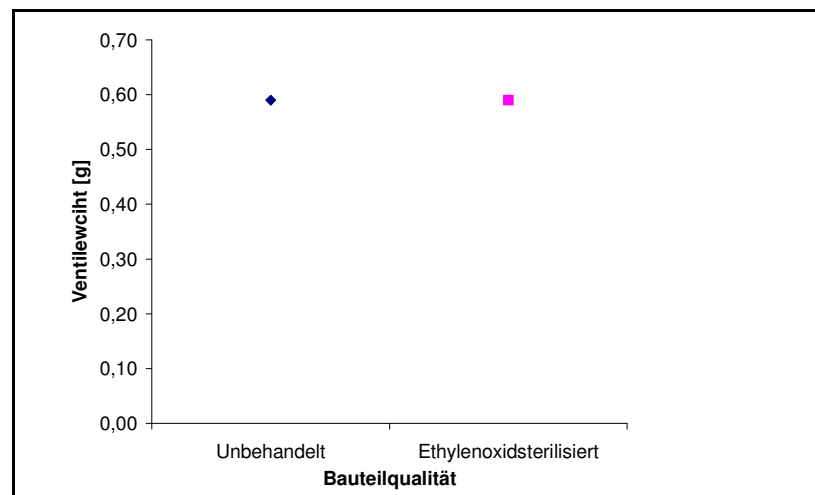


Abb. 10-6 Vergleich der Gewichte von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen [MW; n = 30].

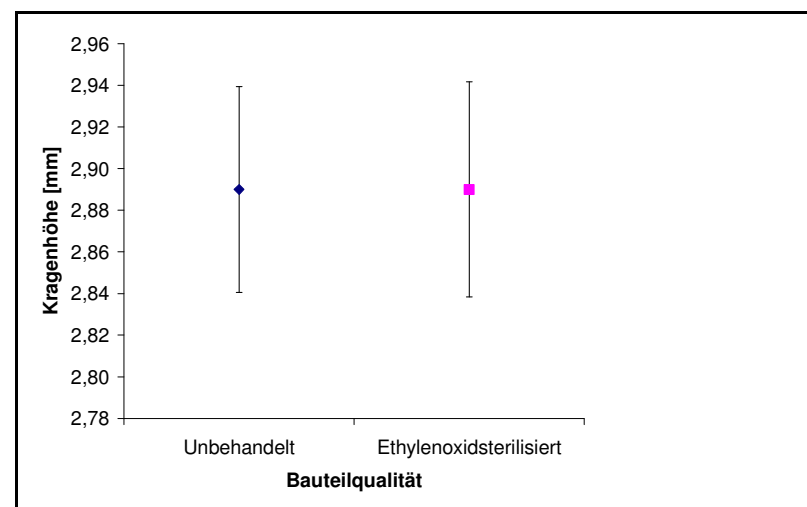


Abb. 10-7 Vergleich der Kragenhöhe von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehältern: [MW \pm SD; n = 20].

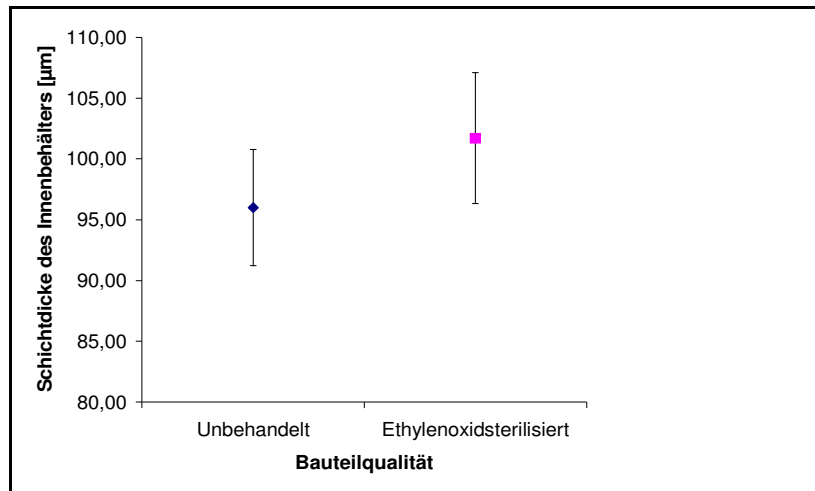


Abb. 10-8 Vergleich der Schichtdicke des Innenbehälters von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehältern [MW \pm SD; n = 20].

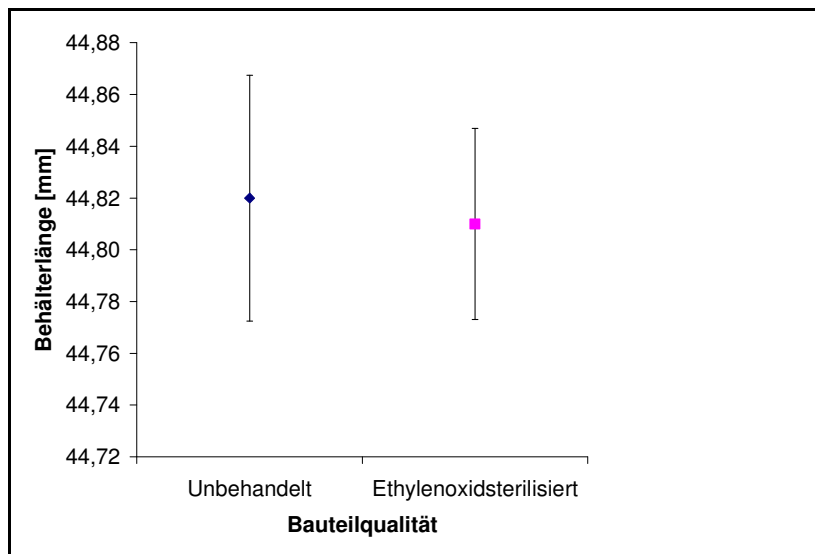


Abb. 10-9 Vergleich der Behälterlänge von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehältern [MW \pm SD; n = 20].

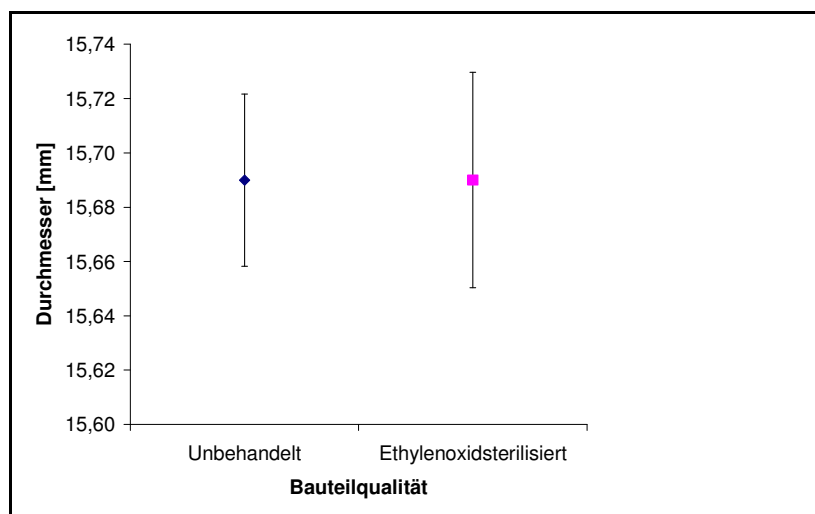


Abb. 10-10 Vergleich der Durchmesser von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehältern [MW \pm SD; n = 20].

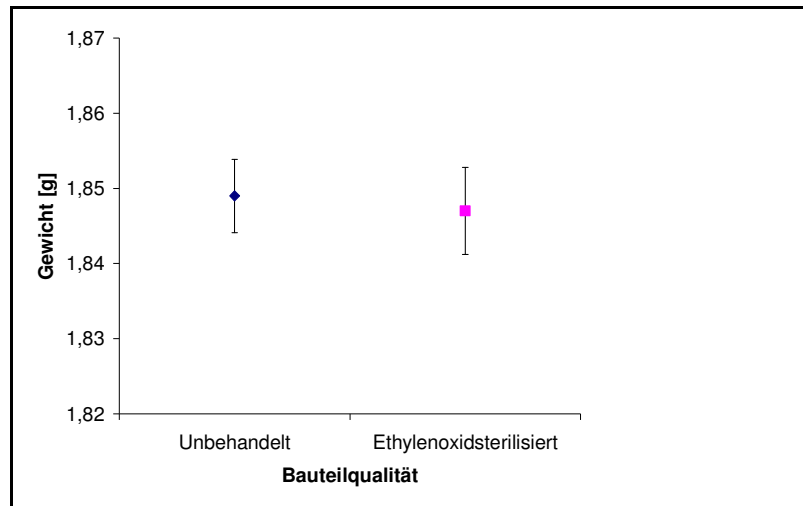


Abb. 10-11 Vergleich der Gewichte von unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehältern [MW \pm SD; n = 20].

10.2.2 Untersuchung des Kollabierverhaltens von ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbehältern

Der Vergleich der Mittelwerte und Standardabweichungen (siehe Tab. 14-3) macht deutlich, dass die Begasung mit Ethylenoxid keinen Einfluss auf das Kollabierverhalten der Kunststoffbehälter nimmt [154]. Abb. 10-12 und Abb. 10-13 zeigen die zugehörigen Druckverlaufdiagramme.

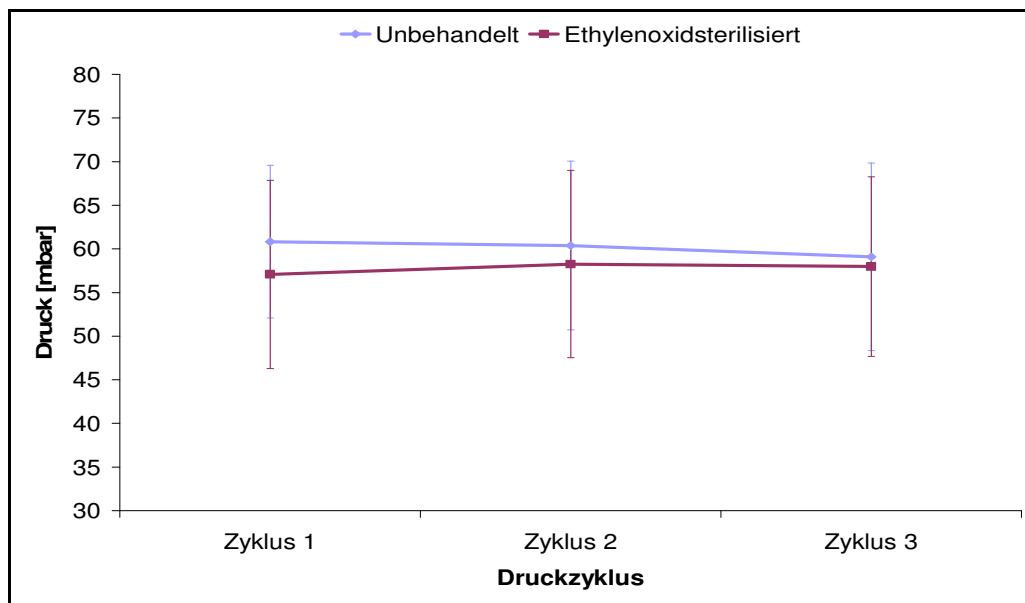


Abb. 10-12 Diagramm des Druckverlaufs der Trockenkollabierung für unbehandelte und ethylenoxidsterilisierte Kunststoffbehälter; [MW \pm SD; n = 64]. Beide Behälterqualitäten zeigen den gleichen Verlauf.

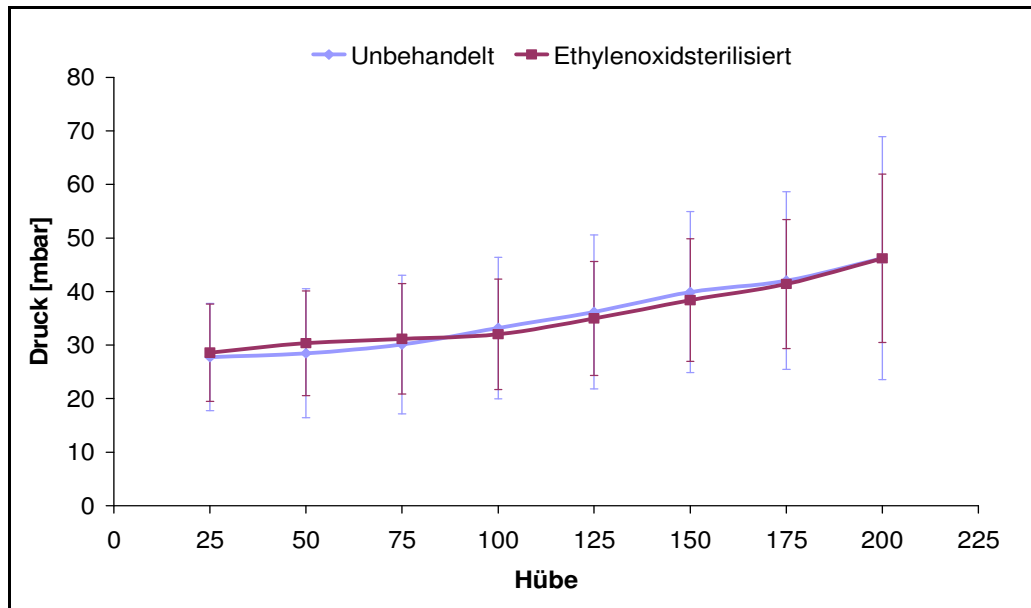


Abb. 10-13 Diagramm des Druckverlaufs der Nasskollabierung von unbehandelten und ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbehältern; [MW \pm SD; n= 684]. Beide Behälterqualitäten zeigen den gleichen Verlauf.

10.2.3 Kräftemessungen an sterilisierten Kunststoffbehältern und Kunststoffverschlüssen

Auch bei den Kräftemessungen verhalten sich die ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbehälter und -verschlüsse analog den unbehandelten Bauteilen (siehe Abb. 10-14 bis Abb. 10-16) [154, 155].

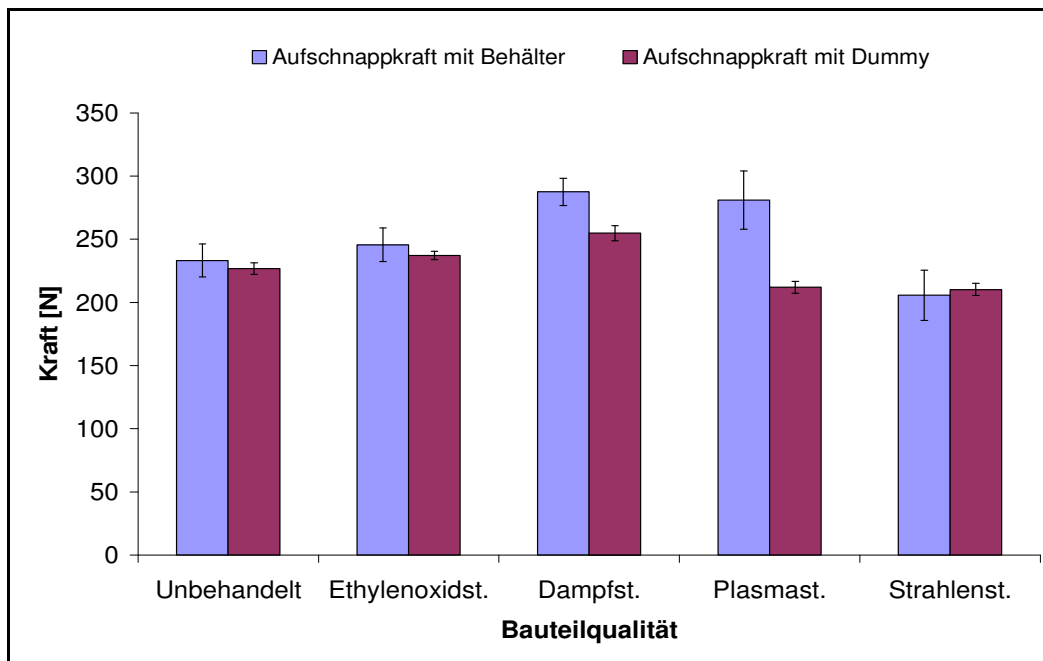


Abb. 10-14 Aufschnappkraft gemessen mit unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen gegen Kunststoffbehälter und Metalldummy (siehe Kap. 8.5.1); [MW \pm SD; n = 10].

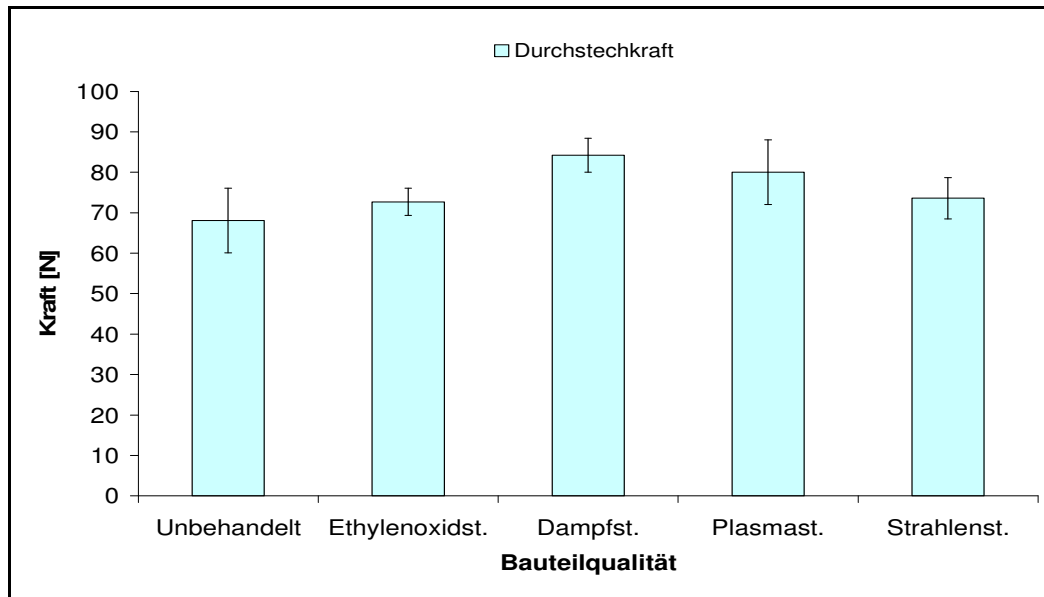


Abb. 10-15 Durchstechkräfte gemessen mit unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüssen; [MW \pm SD; n = 10].

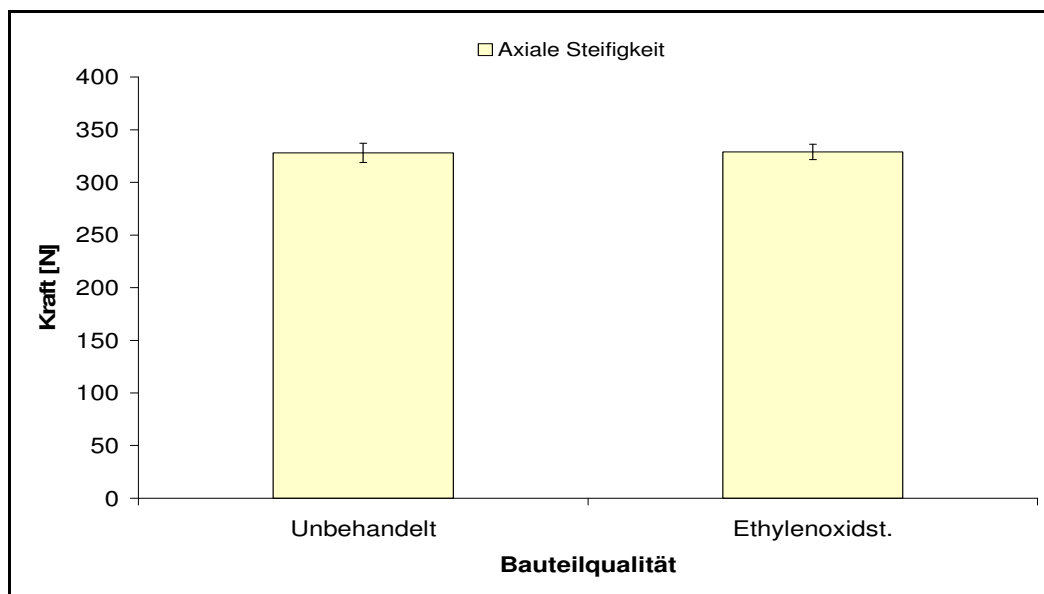


Abb. 10-16 Axiale Behältersteifigkeit gemessen mit unbehandelten und ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbehältern; [MW \pm SD; n = 10].

Lediglich bei dampfsterilisierten Kunststoffverschlüssen kommt es in Folge von Veränderungen der Oberflächenstruktur (siehe 10.2.4) zu einer Erhöhung der Aufsnappkraft. Im Kraft - Weg - Diagramm findet sich der Einfluss der Oberflächenveränderung als Abweichung im Kurvenverlauf während der Aufsnappphase wieder (siehe Abb. 10-17).

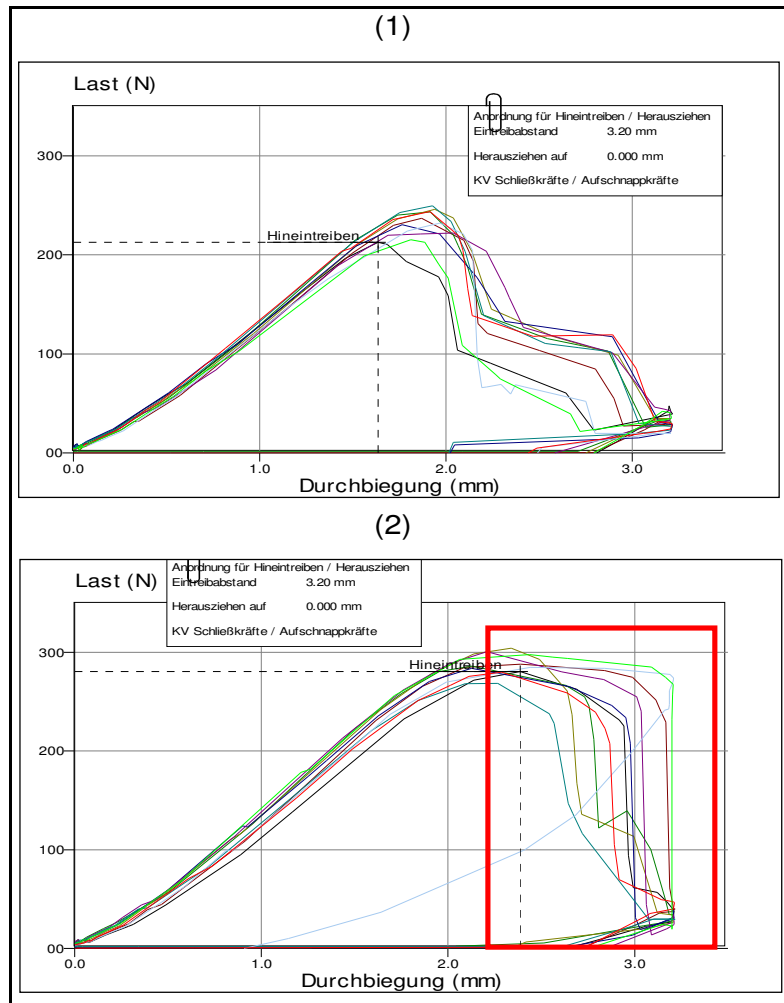


Abb. 10-17 Kraft – Weg – Diagramm der Aufschnappkräfte von unbehandelten Kunststoffverschlüssen (1) und dampfsterilisierten Kunststoffverschlüssen. Der im Vergleich zu den unbehandelten Kunststoffverschlüssen abweichende Kurvenverlauf während Aufschnappphase ist durch einen roten Rahmen gekennzeichnet.

Unter Produktionsbedingungen führt die Anhebung der Aufschnappkraft zu einer massiven Stauchung des Kunststoffbehälters und einer irreversiblen Beschädigung der Behälteraußenwand (siehe Abb. 10-18).

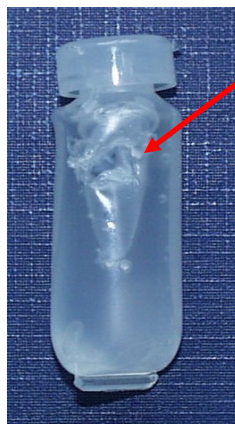


Abb. 10-18 Beschädigung des Kunststoffbehälters (siehe Pfeil) in Folge der erhöhten Aufschnappkräfte bei der Verarbeitung von dampfsterilisierten Kunststoffverschlüssen.

Auffällig bei den strahlen- und plasmasterilisierten Kunststoffverschlässen sind in der Simulation mit Kunststoffbehältern die hohen Standardabweichungen bei den Aufschnappkräften (siehe Tab. 14-4). Diese lassen in Verbindung mit den abweichenden Kraft – Weg – Diagrammen auf eine beginnende Versprödung der Bauteile schließen. Ein Verhalten über das im Falle von strahlensterilisiertem Polypropylen bereits berichtet wurde [72, 106].

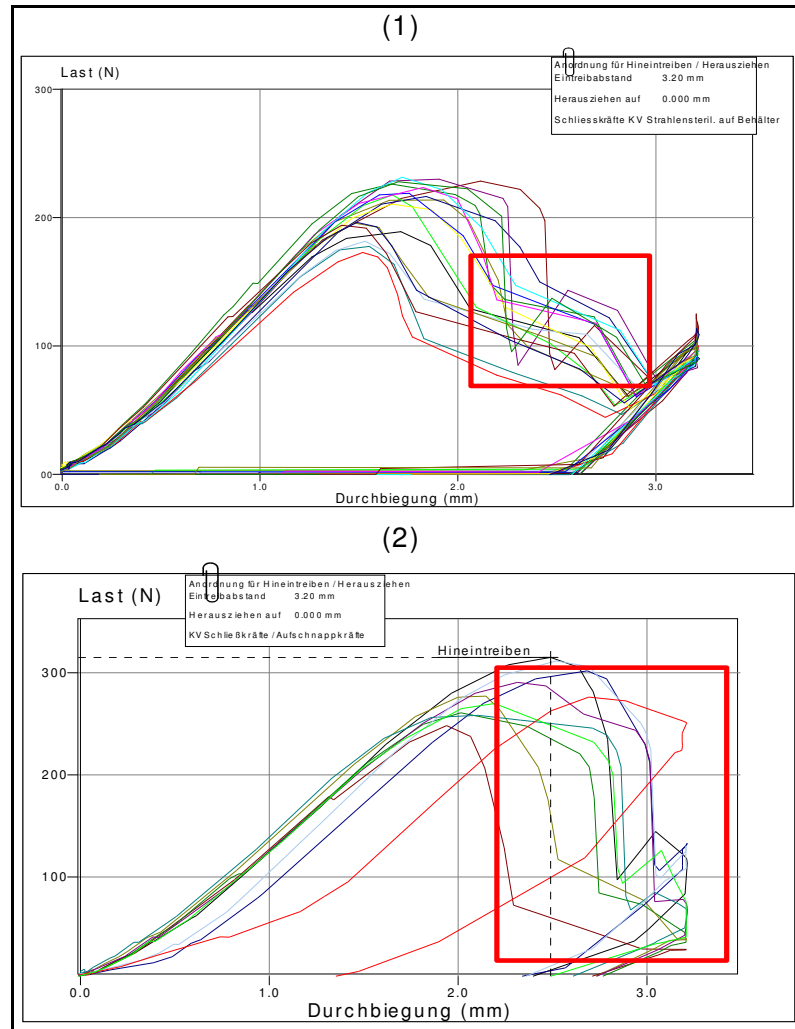


Abb. 10-19 Kraft – Weg- Diagramm der Aufschnappkräfte von strahlensterilisierten Kunststoffverschlässen (1) und plasmasterilisierten Kunststoffverschlässen (2). Die roten Rahmen markieren den im Vergleich zu den unbehandelten Kunststoffverschlässen abweichenden Kurvenverlauf (siehe Abb. 10-17).

In nachgeschalteten Maschinengängigkeitsversuchen auf der Produktionsanlage ließen sich diese Verschlässe jedoch ohne Schwierigkeiten verarbeiten.

10.2.4 REM – Aufnahmen der sterilisierten Kunststoffbehälter und Kunststoffverschlässe

In Analogie zu den Ergebnissen der Prüfung auf Maßhaltigkeit, sowie der Kräftemessungen weisen die ethylenoxidsterilisierten Kunststoffverschlässe keine strukturellen Modifikationen im Bereich der Oberfläche auf (siehe Abb. 10-20). Da sich aus den vorausgegangenen Prüfungen keine Hinweise auf eine Oberflächenveränderung beim ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbehälter ergeben haben, wird auf entsprechende REM- Aufnahmen verzichtet.

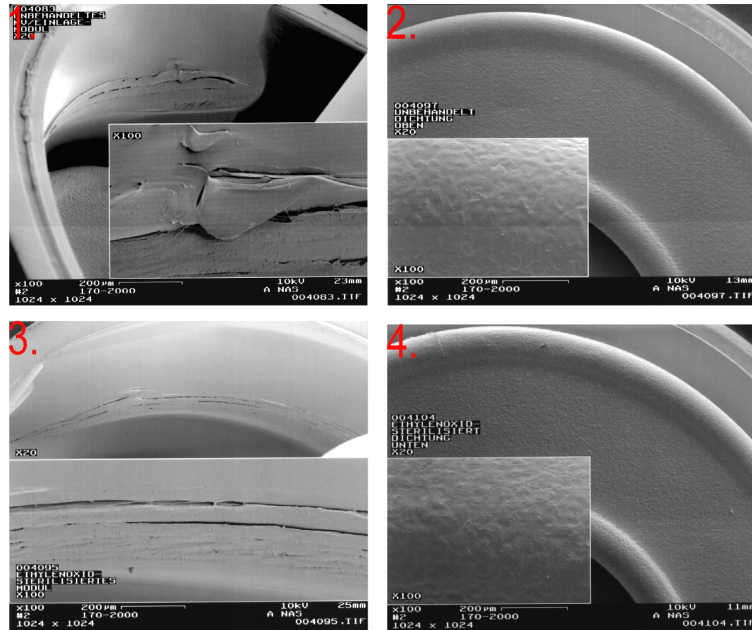


Abb. 10-20 REM- Aufnahmen des Kunststoffverschlusses und der Silikondichtung: (1) Kunststoffverschluss (unbehandelt); (2) Silikondichtung (unbehandelt); (3) Kunststoffverschluss (ethylenoxidsterilisiert); (4) Silikondichtung (ethylenoxidsterilisiert).

Bei den dampfsterilisierten Verschlüssen konnte in der Innenwandung des Deckels eine Zunahme der Rauigkeit im Bereich der Schnittlamellen des Formwerkzeuges festgestellt werden (siehe Abb. 10-21). Diese Veränderung der Lamellen erklärt die im Rahmen der Kräftermessungen beobachtete Erhöhung der Aufschnappkraft. Verursacht wird die rauere Oberfläche vermutlich durch die hohen Temperaturen, die während der Sterilisation auf die Oberfläche einwirken.

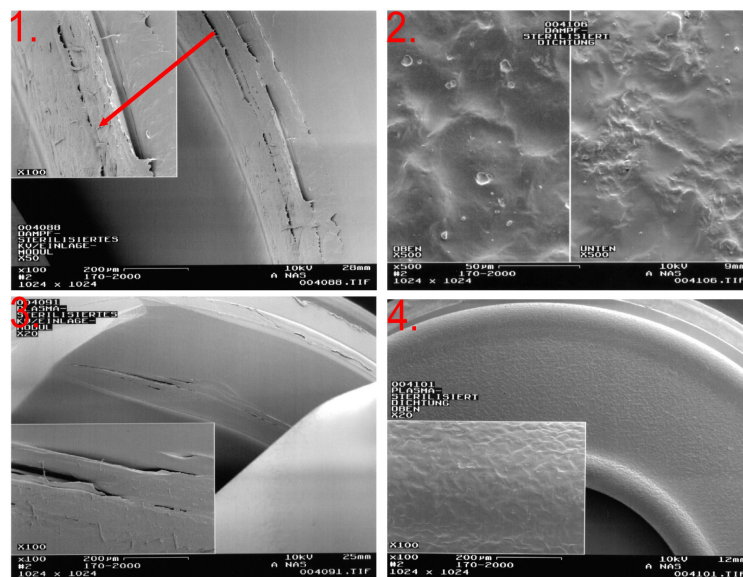


Abb. 10-21 REM- Aufnahmen des Kunststoffverschlusses und der Silikondichtung: (1) Kunststoffverschluss (dampfsterilisiert); (2) Silikondichtung (dampfsterilisiert); (3) Kunststoffverschluss (plasmasterilisiert); (4) Silikondichtung (plasmasterilisiert). Der rote Pfeil kennzeichnet den Bereich der Schnittlamellen.

Auch der Polyethylen – Innenbag des Kunststoffbehälters erfährt durch Temperatureinwirkung eine Veränderung. Die ursprünglich glatte Oberfläche des kollabierfähigen Beutels wirft unter der Dampfeinwirkung Blasen und versprödet (siehe Abb. 10-22).

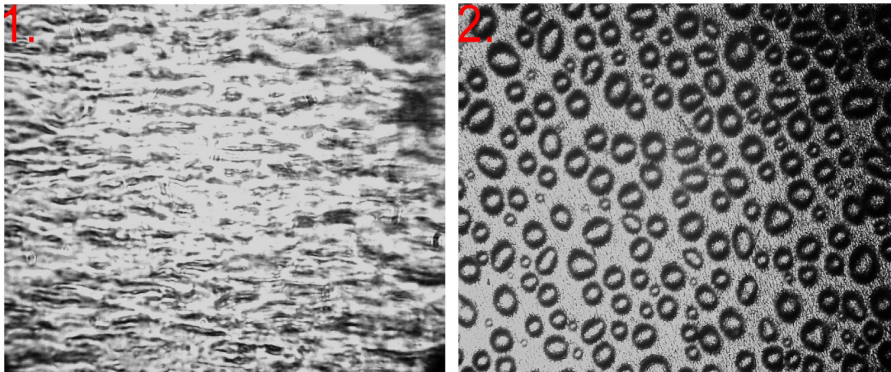


Abb. 10-22 Lichtmikroskopische Aufnahmen des Innenbags: (1) Innenbag (unbehandelt); (2) Innenbag (dampfsterilisiert).

Bereitet man die dampfsterilisierten Behälter anschließend mittels DDC – Anlage auf (siehe Kap. 5.1), reißt der Innenbag beim Ablösevorgang und es kommt zu einem erhöhten Auswurf an fehlerhaften Behältern (siehe Abb. 10-23).

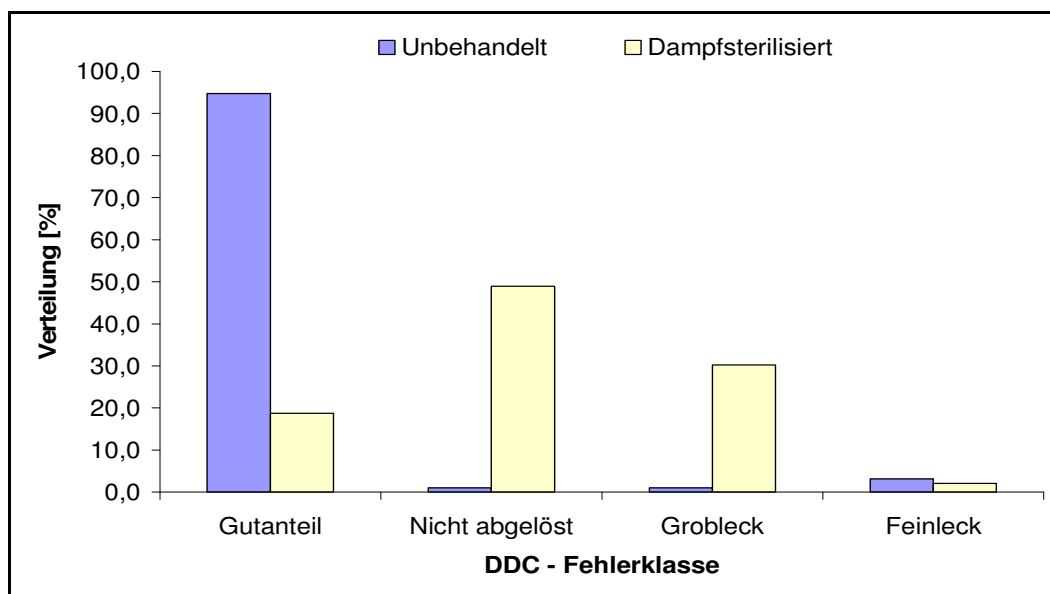


Abb. 10-23 Ergebnis der Aufbereitung von unbehandelten und dampfsterilisierten Kunststoffbehältern durch die DDC – Anlage.

Plasma- und strahlensterilisierte Kunststoffverschlüsse lassen analog den mit Ethylenoxid behandelten Mustern keine Veränderungen der Oberflächenstruktur erkennen. Allerdings weisen die strahlensterilisierten Bauteile eine deutliche Gelbfärbung auf.

10.2.5 Dichtigkeitsprüfung der Kunststoffbehälter im Lagertest

Auf Basis der berechneten Mittelwerte und Standardabweichungen kann festgehalten werden, dass es durch die Ethylenoxidsterilisation zu keiner Beeinträchtigung der Behälterintegrität bzw. der Dichtfunktion des Kunststoffverschlusses kommt (siehe Tab. 14-5).

Auch nach Sterilisation der Einzelbauteile bleibt das im Anschluss befüllte Container Closure System intakt. Eine signifikante Erhöhung des Anteils an Fein - bzw. Groblecks wird nicht beobachtet (siehe Abb. 10-24).

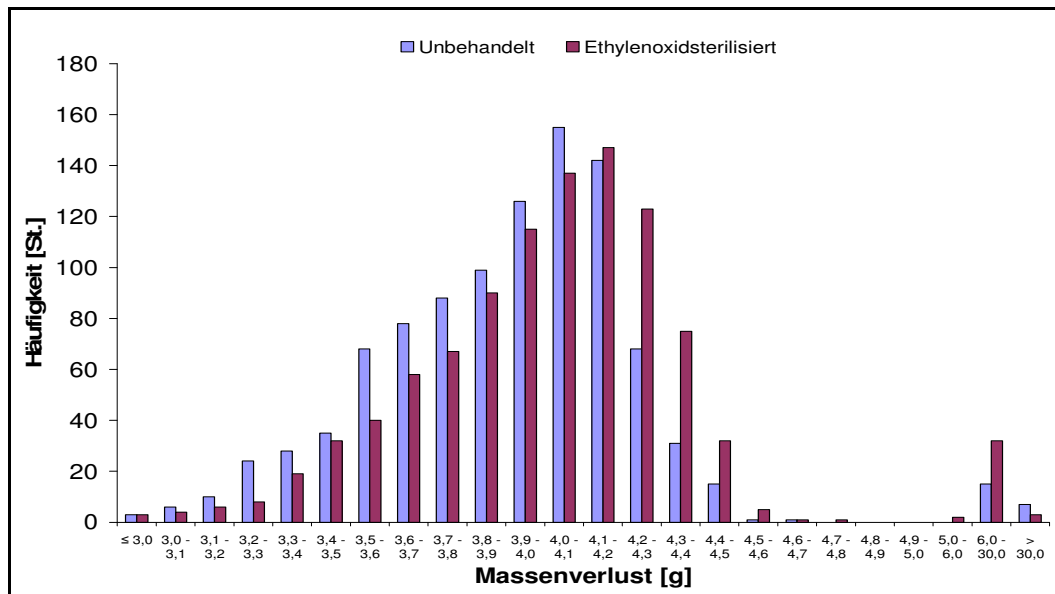


Abb. 10-24 Vergleich der Häufigkeitsverteilung des Massenverlustes von unbehandelten und sterilisierten Bauteilen; [n = 1000]. Ein Masseverlust > 6 mg/Tag entspricht einem Feinleck. Ein Masseverlust > 30 mg/Tag entspricht einem Grobleck.

10.2.6 Diskussion

Anhand der Materialprüfungen konnte belegt werden, dass die Sterilisation mit Ethylenoxid keine Veränderungen der physikalischen Eigenschaften der Kunststoffbauteile hervorruft. Beide Packmittelkomponenten werden weder in ihrer Beschaffenheit noch in ihrer Funktion beeinträchtigt. Dies liegt in dem Umstand begründet, dass die Ethylenoxidsterilisation als Kaltsterilisationsverfahren seine keimtötende Wirkung ohne Hitze entfaltet.

Hohe Temperaturen führen, wie an den Ergebnissen mit den dampfsterilisierten Mustern ersichtlich, zu starken Beeinträchtigungen der Bauteile. Eine einwandfreie Funktion ist nach der Behandlung mit gespanntem Wasserdampf nicht mehr gewährleistet. Daraus resultierend wird die Dampfsterilisation im Rahmen der Kompatibilitätsuntersuchungen nicht mehr weiter betrachtet.

Bei den strahlensterilisierten Mustern wurden im Bereich der Oberflächengüte keine Abweichungen gefunden. Die Gelbfärbung des Verschlusskörpers, ebenso wie die schwankenden Aufschnappkräfte sind jedoch Hinweise auf Instabilitäten des Polypropylens [106]. Auch bei den plasmasterilisierten Verschlüssen deuten sich, nach den Ergebnissen der Kräftermessungen zu urteilen, künstlich hervorgerufene Alterungsprozesse des Polypropylens in Form von Versprödung an. Weiteren Aufschluss über den Sachverhalt geben die Untersuchungen bezüglich der Extractables der Bauteile (siehe Kap. 10.3).

Tab. 10-3 Bewertung der Ergebnisse aus der Materialprüfung.

Prüfparameter	Sterilisationsverfahren			
	Ethylenoxid	Dampf	Strahlung	Plasma
Abmessungen und Gewicht	+	n.u.	n.u.	n.u.
Kollabierverhalten	+	n.u.	n.u.	n.u.
Kräftemessungen	+	-	+ ^a	+ ^a
Oberflächengüte	+	-	+ ^b	+
Maschinengängigkeit	+	-	+	+
Dichtigkeit	+	n.u.	n.u.	n.u.

+ = geeignet; - = ungeeignet; n.u. = nicht untersucht

^a = Bauteile zeigen Anzeichen von Versprödung

^b = die Muster weisen eine deutliche Gelbfärbung auf

10.3 Untersuchung der extrahierbaren Bestandteile

Die Untersuchung der extrahierbaren Bestandteile lässt keinen Unterschied zwischen den unbehandelten und den ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbauteilen erkennen. Die Konzentration des Antioxidans Irganox 1010 liegt bei den entsprechenden Einzelbestandteilen beider Qualitäten auf gleichem Niveau (siehe Abb. 10-25 und Abb. 10-26). Ebenfalls gleich ist die Summe der gaschromatographisch erfassbaren Polydimethylsiloxane der Silikondichtung. Sie liegen deutlich unterhalb des für dieses Material zulässigen Grenzwertes von $\leq 10000 \mu\text{g/g}$ (siehe Abb. 10-27) [133]. Irganox 1076 konnte weder in den unbehandelten Referenzmustern noch in den sterilisierten Proben nachgewiesen werden (siehe Tab. 14-6). Bei plasma- und strahlensterilisierten Mustern konnte ein Abbau des Irganox 1010 beobachtet werden. Während das Wasserstoffperoxidplasma die Irganox 1010 - Konzentration um 36 % reduziert, baut die Strahlung den Stabilisator fast vollständig ab. Die Restkonzentration nach der Strahlensterilisation betrug 6 % (siehe Abb. 10-25).

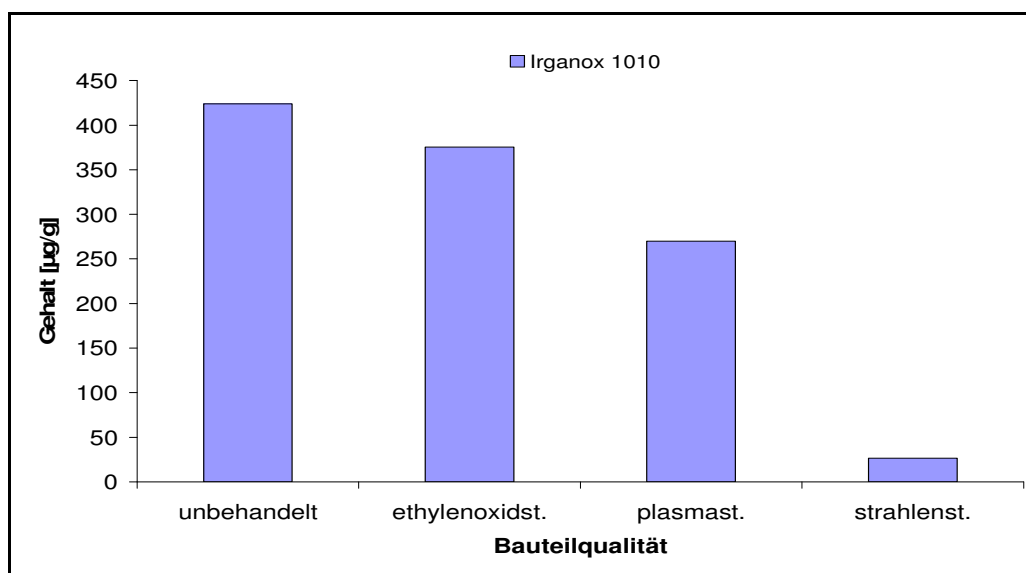


Abb. 10-25 Konzentration an Irganox 1010 im Polypropylenverschluss.

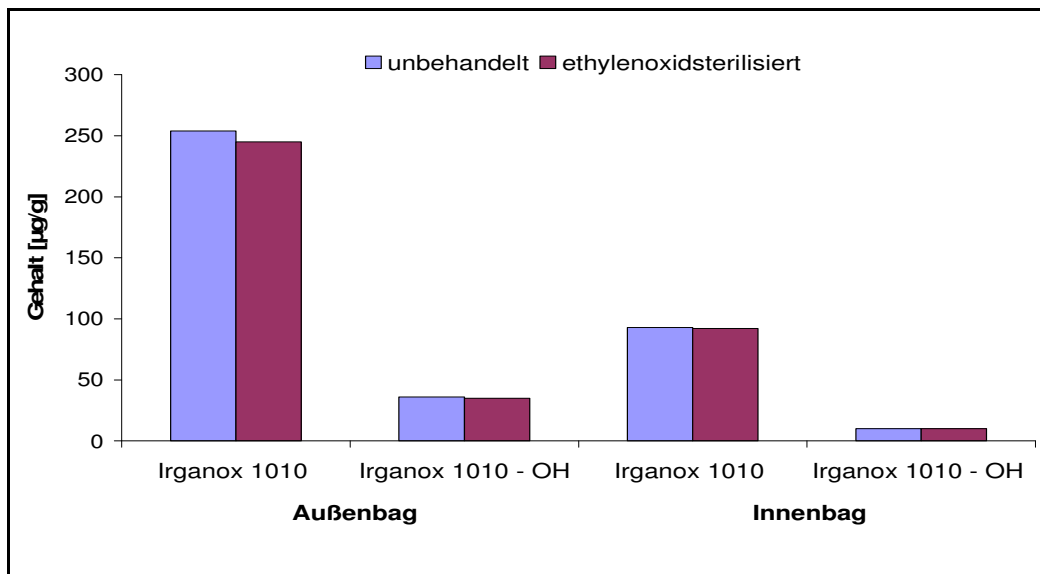


Abb. 10-26 Konzentration an Irganox 1010 und Irganox 1010 - OH im Außen- und Innenbag des Kunststoffbehälters

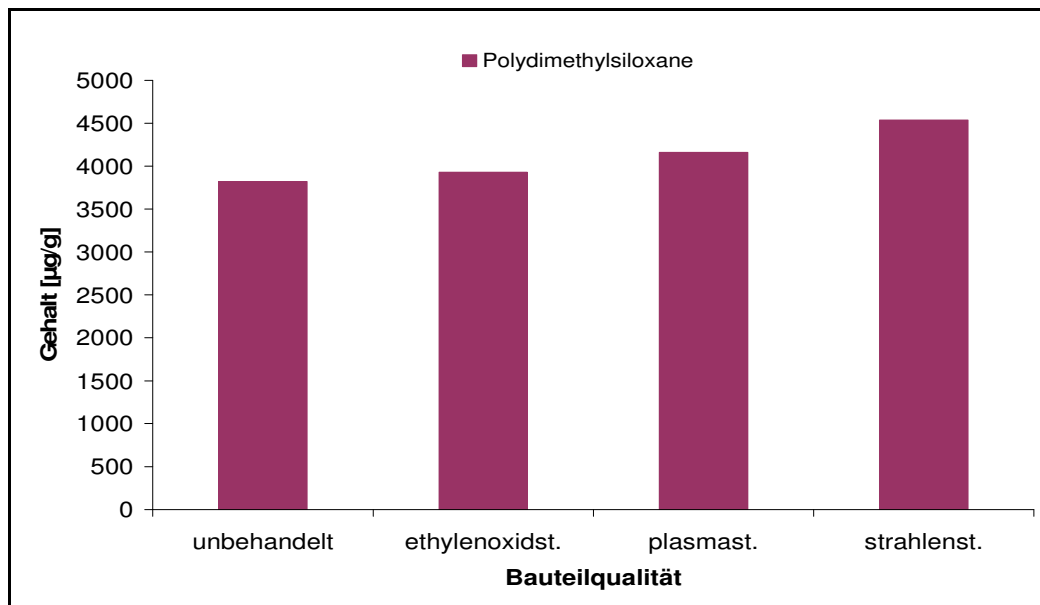


Abb. 10-27 Konzentration an Polydimethylsiloxanen im Silikon - Dichtring.

10.3.1 Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass es auch nach zweimaliger Ethylenoxidbegasung zu keiner Veränderung der chemischen Zusammensetzung kommt. Trotz der oxidierenden Eigenschaften des Ethylenoxids bleibt die Irganox 1010 - Konzentration nahezu konstant. Anders stellt sich die Situation bei den mit Plasma bzw. Strahlung behandelten Bauteilen dar. In Folge der Einwirkung von Radikalen, die bei beiden Verfahren im Verlauf der Sterilisation entstehen, wird der Gehalt an Irganox 1010 massiv gesenkt. Im Fall der strahlensterilisierten Muster ist das Fehlen von Irganox 1010 bereits äußerlich an der Gelbfärbung erkennbar. Die Konzentrationsminderung des Antioxidans ist die Ursache für die während der Materialprüfungen festgestellte Bauteilversprödung. Aufgrund dieser Ergebnisse werden beide Sterilisationsverfahren bei der Interaktionsprüfung mit den Inhalationslösungen (Kompatibilitätsprüfung) nicht weiter berücksichtigt.

10.4 Kompatibilitätsprüfung zwischen Respimat – Primärpackmittel und Inhalationslösungen

Anhand der in Kap. 8.9 definierten Parameter soll im Rahmen der Kompatibilitätsprüfung bewertet werden, ob die Sterilisation der Packmittelkomponenten in der Kombinationsprüfung mit den Inhalationslösungen zu Veränderungen der Zusammensetzung der Lösungen führt.

10.4.1 Prüfung auf Farbe der Lösung

Die Sterilisation der Packmittel nimmt keinen Einfluss auf die Farbe der jeweiligen Lösung (siehe Tab. 10-4). Sowohl die Placebolösung als auch Inhalationslösung A und C zeigen über die betrachtete Laufzeit keine Veränderungen. Bei Inhalationslösung B kommt nach sechsmonatiger Stresslagerung zu einer Verfärbung der Lösung nach B6. Diese zeigt sich jedoch bei beiden Bauteilqualitäten.

Tab. 10-4 Farbe der Placebo – und Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Bauteilqualität	Farbe der Lösung ^a			
		Lagerzeit [Monate]			
		0	1	3	6
Placebolösung	unbehandelt	B9	B9	B9	B9
	sterilisiert	B9	B9	B9	B9
Inhalationslösung A	unbehandelt	B9	B9	B9	B9
	sterilisiert	B9	B9	B9	B9
Inhalationslösung B	unbehandelt	B9	B9	B8	B6
	sterilisiert	B9	B9	B8	B6
Inhalationslösung C	unbehandelt	B9	B9	B9	B9
	sterilisiert	B9	B9	B9	B8

^a Die Lösung ist nicht stärker gefärbt als der angegebene Wert

10.4.1.1 Prüfung auf Klarheit der Lösung

Die Ergebnisse der Kombinationsprüfung zeigen, dass weder die unbehandelten noch die mit Ethylenoxid sterilisierten Bauteilen eine Trübung der Inhalationslösungen hervorrufen (siehe Tab. 10-5).

Tab. 10-5 Klarheit der Placebo – und Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Bauteilqualität	Klarheit der Lösung			
		Lagerzeit [Monate]			
		0	1	3	6
Placebolösung	unbehandelt	< 0/1	< 0/1	< 0/1	< 0/1
	sterilisiert		< 0/1	< 0/1	< 0/1
Inhalationslösung A	unbehandelt	< 0/1	< 0/1	< 0/1	< 0/1
	sterilisiert		< 0/1	< 0/1	< 0/1
Inhalationslösung B	unbehandelt	< 0/1	< 0/1	< 0/1	< 0/1
	sterilisiert		< 0/1	< 0/1	< 0/1
Inhalationslösung C	unbehandelt	< 0/1	< 0/1	< 0/1	< 0/1
	sterilisiert		< 0/1	< 0/1	< 0/1

10.4.2 Prüfung auf pH – Wert der Lösung

Die Ergebnisse der pH – Wert – Messungen zeigen keine Auffälligkeiten. Während der sechsmonatigen Stresslagerung kommt es zu keinen signifikanten Veränderungen der pH – Werte (siehe Tab. 10-6).

Tab. 10-6 pH – Wert der Placebo – und Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Bauteilqualität	pH – Wert der Lösung			
		Lagerzeit [Monate]			
		0	1	3	6
Placebolösung	unbehandelt	3,0	3,0	3,0	3,0
	sterilisiert		3,0	3,0	3,0
Inhalationslösung A	unbehandelt	3,4	3,4	3,4	3,4
	sterilisiert		3,4	3,4	3,4
Inhalationslösung B	unbehandelt	3,6	3,6	3,5	3,5
	sterilisiert		3,6	3,5	3,5
Inhalationslösung C	unbehandelt	3,0	3,0	2,9	2,9
	sterilisiert		3,0	2,9	2,9

10.4.3 Prüfung auf Wirkstoffgehalt und Wirkstoffzersetzung

Auch bei den im Hinblick auf die Wirksamkeit entscheidenden Gehaltsprüfungen weisen alle Inhalationslösungen über die Laufzeit hinweg konstante Wirkstoffkonzentrationen auf, unabhängig davon, ob sie mit unbehandelten oder mit sterilisierten Bauteilen kombiniert wurden (siehe Abb. 10-28 bis Abb. 10-30).

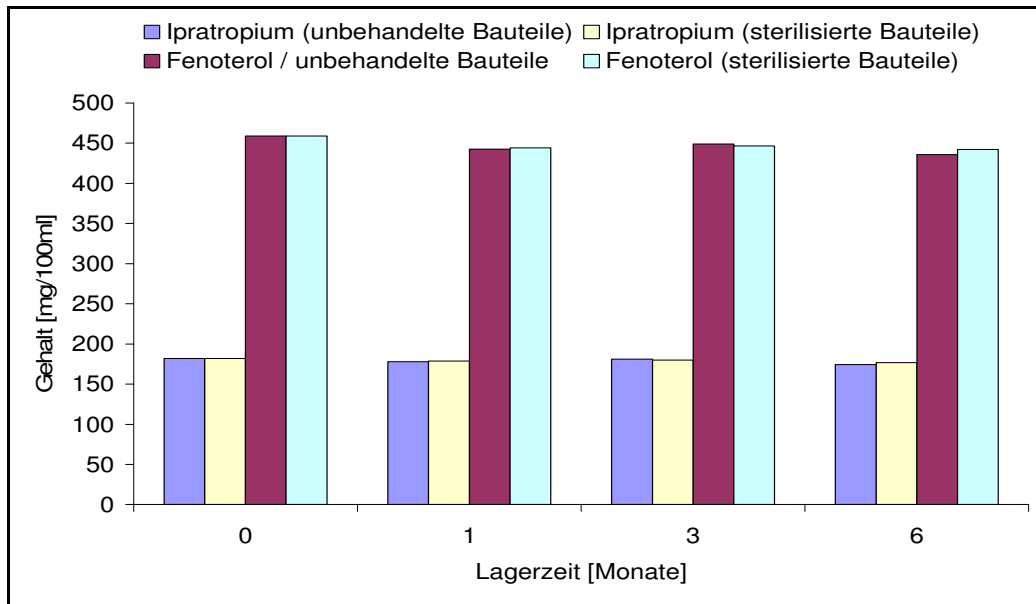


Abb. 10-28 Entwicklung des Wirkstoffgehaltes von Ipratropium und Fenoterol in der Inhalationslösung A während der sechsmonatigen Stresslagerung.

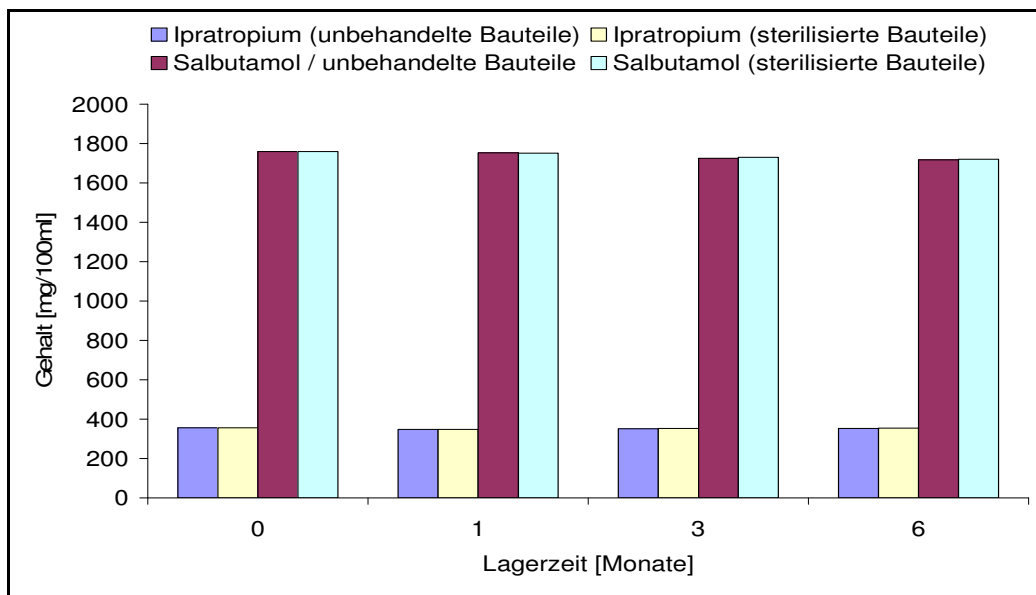


Abb. 10-29 Entwicklung des Wirkstoffgehaltes von Ipratropium und Salbutamol in der Inhalationslösung B während der sechsmonatigen Stresslagerung.

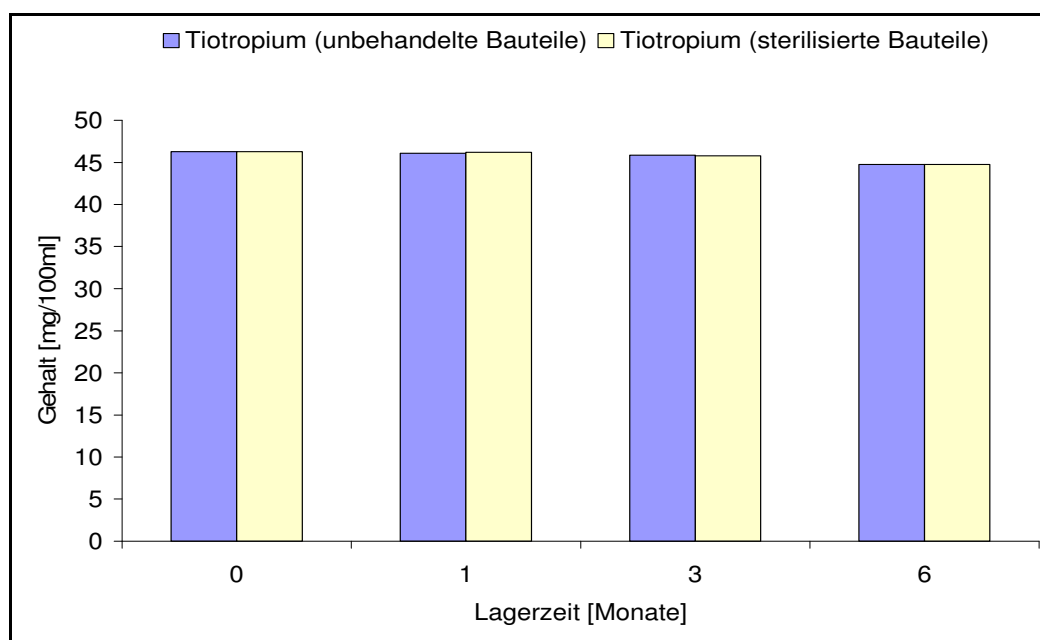


Abb. 10-30 Entwicklung des Wirkstoffgehaltes von Tiotropium in der Inhalationslösung C während der sechsmonatigen Stresslagerung.

Folglich bleibt bei den einzelnen Inhalationslösungen auch die Summe der Zersetzungen auf niedrigem Niveau (siehe Tab. 10-7).

Tab. 10-7 Wirkstoffzersetzung innerhalb der Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Wirkstoff	Bauteilqualität	Summe aller Zersetzungen [%]			
			Lagerzeit [Monate]			
			0	1	3	6
Inhalationslösung A	Ipratropium	unbehandelt	n.n.	n.n	0,1	0,2
		sterilisiert	n.n.	n.n	0,1	0,2
	Fenoterol	unbehandelt	n.n.	n.n	< 0,1	< 0,1
		sterilisiert	n.n.	n.n	n.n	< 0,1
Inhalationslösung B	Ipratropium	unbehandelt	0,03	0,08	0,38	0,98
		sterilisiert	0,03	0,08	0,39	0,98
	Salbutamol	unbehandelt	0,01	0,73	1,78	1,99
		sterilisiert	0,01	0,72	1,78	2,00
Inhalationslösung C	Tiotropium	unbehandelt	n.n	0,62	1,62	2,81
		sterilisiert	n.n	0,58	1,60	2,77

n.n. = nicht nachweisbar

10.4.4 Prüfung auf Gehalt an Benzalkoniumchlorid und Natriumedetat

Vergleichbar den Wirkstoffen bleiben auch die Konzentrationen der Hilfsstoffe Benzalkoniumchlorid und Natriumedetat unter Stressbedingungen konstant (siehe Tab. 10-8 und Tab. 10-9). Ein Einfluss der Ethylenoxidsterilisation kann nicht festgestellt werden.

Tab. 10-8 Gehalt an Benzalkoniumchlorid in den Placebo- und Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Bauteilqualität	Benzalkoniumchlorid – Gehalt [mg/100ml]			
		Lagerzeit [Monate]			
		0	1	3	6
Placebolösung	unbehandelt	9,9	10,2	10,1	10,5
	sterilisiert		9,6	10	9,5
Inhalationslösung A	unbehandelt	9,8	9,9	9,6	10
	sterilisiert		9,8	9,5	10
Inhalationslösung B	unbehandelt	9,9	10,1	9,7	9,9
	sterilisiert		9,9	9,8	9,9
Inhalationslösung C	unbehandelt	9,9	10,4	10	9,8
	sterilisiert		9,7	10	9,4

Tab. 10-9 Gehalt an Natriumedetat in den Placebo- und Inhalationslösungen A bis C (siehe Kap. 6.9) nach Stresslagerung [156].

Inhalationslösung	Bauteilqualität	Benzalkoniumchlorid – Gehalt [mg/100ml]			
		Lagerzeit [Monate]			
		0	1	3	6
Placebolösung	unbehandelt	10,2	9,6	10,1	10,5
	sterilisiert		9,6	10	9,5
Inhalationslösung A	unbehandelt	49,7	50,4	50,3	49,4
	sterilisiert		50,2	50,2	49,4
Inhalationslösung B	unbehandelt	48,6	50,4	50	45,9
	sterilisiert		50,4	49,9	49,1
Inhalationslösung C	unbehandelt	10,2	9,7	10	9,8
	sterilisiert		9,7	1	9,4

10.4.5 Prüfung auf migrierende Bestandteile

Die Untersuchung der Placebolösung auf migrierende Substanzen zeigt keine Auffälligkeiten (siehe Tab. 10-10). Weder in der Kombination mit den unbehandelten Mustern noch in der Kombination mit den sterilisierten Proben lassen sich die bekannten Leachables in der Lösung nachweisen.

Tab. 10-10 Gehalt an Leachables (siehe Kap. 8.9.13) in der Placebolösung nach Stresseinlagerung [142, 157].

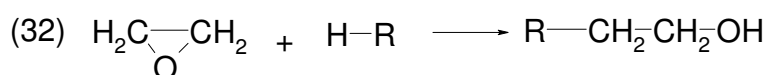
Bauteil	Lagerzeit [Monate]	Leachables [$\mu\text{g/g}$]				
		DMCPS	Leachables 1-3	Irganox 1010	Irganox 1076	PDMS
Kunststoffbehälter	3	n.n.	n.n.	n.n.	- ^a	-
- unbehandelt						
- sterilisiert						
Kunststoffverschluss	1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
- unbehandelt	3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
- sterilisiert	6	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

^a = nicht untersucht, da nur in Verbindung mit dem Kunststoffverschluss relevant

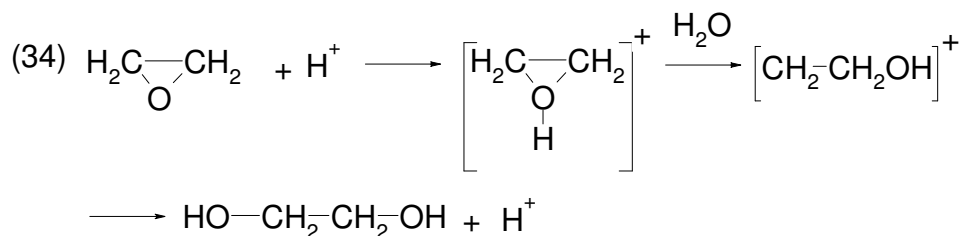
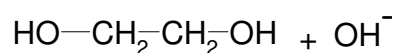
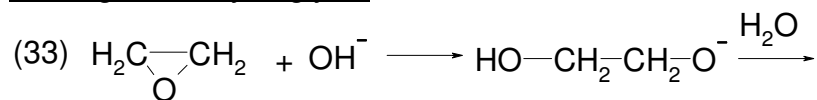
10.4.6 Diskussion

Die Kompatibilität zwischen den ethylenoxidsterilisierten Kunststoffbauteilen und den verschiedenen Inhalationslösungen konnte nachgewiesen werden. Der zusätzliche Herstellungsschritt der Sterilisation nimmt keinen Einfluss auf die Eignung des Primärpackmittels. Die Ergebnisse der unter Stressbedingungen (40 °C / 75 % rF) durchgeführten Untersuchungen sind auf die Klimazonen I – III übertragbar. Entscheidend für die Kompatibilität der sterilisierten Bauteile ist ein abgeschlossener Desorptionsprozess. Bei nicht vollständig entgasten Komponenten besteht die Gefahr des Übergangs von Ethylenoxid in die wässrigen Inhalationslösungen und einer möglichen Bildung von Ethylenglykol bzw. ungewollter Ethoxylierung der Wirkstoffe (siehe Form. 10-1).

Ethoxylierung



Bildung von Ethylenglykol



Form. 10-1 Ethoxylierungsreaktion (33) und Bildung von Ethylenglykol (33) und (34)

10.5 Evaluierung der ETO – Sterilisationszyklen

Nach erfolgreichem Abschluss der drei Entwicklungsbausteine Grundlagenstudie, Materialprüfung und Kompatibilitätsuntersuchungen kann die Evaluierung geeigneter Ethylenoxid – Sterilisationszyklen initiiert werden. Durchgeführt wird die Verfahrensevaluierung mit provozierenden Prüfkörpern (siehe Kap. 8.2.3.1). Die Wahl des Materials, aus der die Diffusionsmembran für den jeweiligen Prüfkörper ausgestanzt wird, leitet sich von den charakteristischen Zwischenräumen der beiden Bauteile ab (siehe Tab. 10-11).

Tab. 10-11 Übersicht der für die Diffusionsmembran im provozierenden Prüfkörper verwendete Materialien.

Bauteil	Kritischer Zwischenraum	Gewähltes Material	Gewählte Membrandicke
Kunststoffbehälter	zwischen PP – Außenbag und PE – Innenbag	Polyethylen des Innenbags	100 µm
			120 µm
			150 µm
Kunststoffverschluss	zwischen PP – Grundkörper und Si – Einlagedichtung	Silikon der Einlagedichtung	1,1 mm

Basiszyklus für die Verfahrensentwicklung ist der zweistündige Halbzyklus der bereits für Grundlagenstudie genutzt wurde (siehe Kap. 10.1). Um eine maximale Kammerauslastung zu erreichen, wird zusätzlich zu der Palette mit den Kunststoffbauteilen eine so genannte Referenzladung in die Sterilisierkammer eingebracht. Diese besteht aus stark ETO – adsorbierenden Materialien (z.B. geschreddertes PVC) und erzeugt im Hinblick auf die Ethylenoxidverteilung innerhalb der Sterilisierkammer eine worst – case Situation. Während sich mit dem provozierenden Prüfkörper des Kunststoffverschlusses im Halbzyklus ein Sterilisationserfolg, analog der Grundlagenstudie, nachweisen lässt, zeigen alle Bioindikatoren der provozierenden Prüfkörper des Kunststoffbehälters Wachstum (siehe Tab. 10-12).

Tab. 10-12 Ergebnisse des BI - Wachstumstest nach Ethylenoxidsterilisation der Kunststoffbauteile im Halbzyklus mit zweistündiger Einwirkzeit.

Einwirkzeit	Gaskonzentration	BI-Nr.	Provozierender Prüfkörper	
			Behälter (PE / 100 µm)	Verschluss (Si)
2 h	500 mg/l	1.	+	-
		2.	+	-
		3.	+	-
		4.	+	-
		5.	+	-
		6.	+	-

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Aufgrund der äquivalenten Ergebnisse zwischen Grundlagenstudie und Evaluierungslauf wird der Standardzyklus als geeignet für die Sterilisation der Kunststoffverschlüsse eingestuft. Im Falle des Kunststoffbehälters wird im nächsten Schritt eine Einwirkzeit von vier Stunden unter Beibehaltung der Ethylenoxidkonzentration von 500 mg/l evaluiert. Tab. 10-13 fasst die Ergebnisse des anschließenden Wachstumstest zusammen. Auch nach vierstündiger Begasung wird keiner der eingebrachten Bioindikatoren abgetötet.

Tab. 10-13 Ergebnisse des BI - Wachstumstest nach Ethylenoxidsterilisation der Kunststoffbehälter im Vollzyklus mit vierstündiger Einwirkzeit.

Einwirkzeit	Gaskonzentration	BI-Nr.	Provozierender Prüfkörper
			Behälter (PE / 100 µm)
4 h	500 mg/l	1.	+
		2.	+
		3.	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Erst unter Ausnutzung des bei Nachkonditionierung in der Kammer noch vorhandenen Restgases, dem so genannten „post cycle“ - Effekt, werden die Bioindikatoren im provozierenden Prüfkörper des Behälters abgetötet (siehe Tab. 10-14).

Tab. 10-14 Ergebnisse des BI - Wachstumstest nach Ethylenoxidsterilisation der Kunststoffbehälter im Vollzyklus mit vierstündiger Einwirkzeit und unter Ausnutzung des „post cycle“ - Effektes. Die Bioindikatoren werden in provozierenden Prüfkörpern eingebracht. Die Prüfkörper werden anteilig nach Sterilisation bzw. Nachkonditionierung entnommen.

Einwirkzeit	NK	Gaskonzentration	BI-Nr.	Zeitpunkt der Entnahme	
				nach Sterilisation	nach Nachkonditionierung („post cycle“)
4 h	22 h	500 mg/l	1.	+	-
			2.	+	-
			3.	+	-

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Eine Keimzahlbestimmung nach einstündiger Einwirkzeit zeigt, dass die Effektivität des Standardzyklus im Falle der Kunststoffbehälter deutlich vermindert ist. Während beim provozierenden Prüfkörper des Kunststoffverschlusses die Ausgangskeimzahl um vier Zehnerpotenzen reduziert wird, kann beim provozierenden Prüfkörper des Kunststoffbehälters nur eine Keimreduktion von einer Zehnerpotenz nachgewiesen werden (siehe Tab. 10-15). Eine konstante Keimreduktion vorausgesetzt, ergeben sich aus der Keimzahlbestimmung die in Abb. 10-31 dargestellten Abtötungskinetiken.

Tab. 10-15 Ergebnisse der Keimzahlbestimmung nach einstündiger Ethylenoxidsterilisation der provozierende Prüfkörper des Kunststoffverschlusses und des Kunststoffbehälters. Die Ausgangskeimzahl der eingesetzten Bioindikatoren liegt bei $1,0 \times 10^6$ KBE.

Einwirkzeit	Gaskonzentration	BI-Nr.	Keimzahl nach Sterilisation [KBE]	
			Behälter (PE / 100 μm)	Verschluss (Si)
1 h	500 mg/l	1.	10^5	10^2
		2.	10^5	10^2
		3.	10^5	10^2
		4.	10^5	10^2
		5.	10^5	10^2
		6.	10^5	10^2

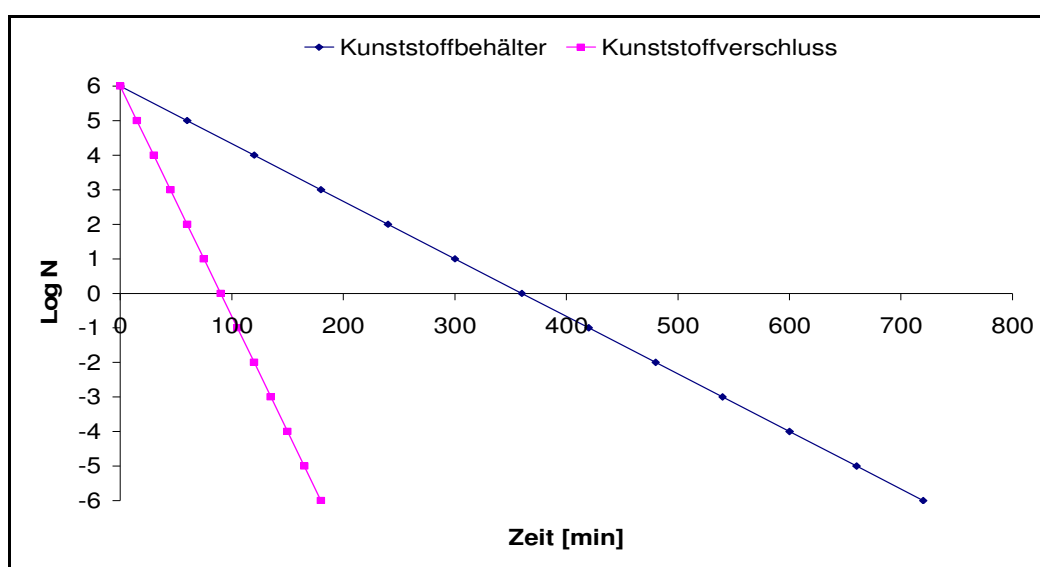


Abb. 10-31 Simulierte Abtötungskinetiken für Kunststoffbehälter und Kunststoffverschluss im Standardzyklus. Die Simulation basiert auf den Ergebnissen der Keimzahlbestimmung nach einstündiger Einwirkzeit (siehe Tab. 10-15)

Während beim Kunststoffverschluss mit einer Einwirkzeit von 4 Stunden (Vollzyklus) ein SAL von 10^{-6} sicher erreicht wird, ist diese Zeitspanne beim Kunststoffbehälter nicht ausreichend (> 12 h). Dies begründet sich aus dem Umstand, dass im Zuge der Sterilisationsphase keine ausreichend hohe Gaskonzentration innerhalb der provozierenden PE - Prüfkörper aufgebaut werden kann, um eine schnelle Abtötung der enthaltenen Bioindikatoren zu erzielen. Während beim Verschluss - Prüfkörper eine maximale Gaskonzentration von 56,7 mg/l gemessen wird, liegt der Höchstwert beim Prüfkörper des Kunststoffbehälters bei nur 33,6 mg/l. Eine Erhöhung der Gaskonzentration in der Sterilisationskammer auf 840 mg/l führt zu keiner signifikanten Konzentrationserhöhung innerhalb des PE - Prüfkörpers (siehe Abb. 10-32).

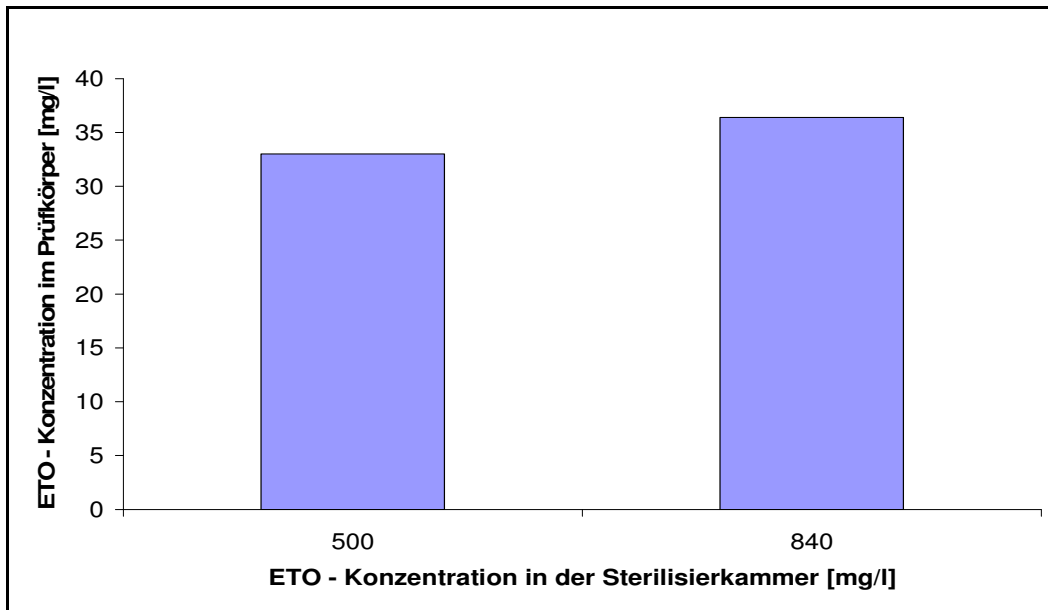


Abb. 10-32 Maximale Ethylenoxidkonzentration im provozierenden Prüfkörper des Kunststoffbehälters bei unterschiedlichen ETO - Konzentrationen innerhalb der Sterilisierkammer.

Verursacht wird die niedrigere Gaskonzentration im PE - Prüfkörper durch eine verstärkte Ethylenoxidadsorption des Polypropylen - Außenbags. Konzentrationsmessungen am sterilisierten Kunststoffverschluss zeigen, dass sich 95 % der vom Bauteil adsorbierten Ethylenoxidmenge im Polypropylen - Grundkörper wieder finden (siehe Abb. 10-33)

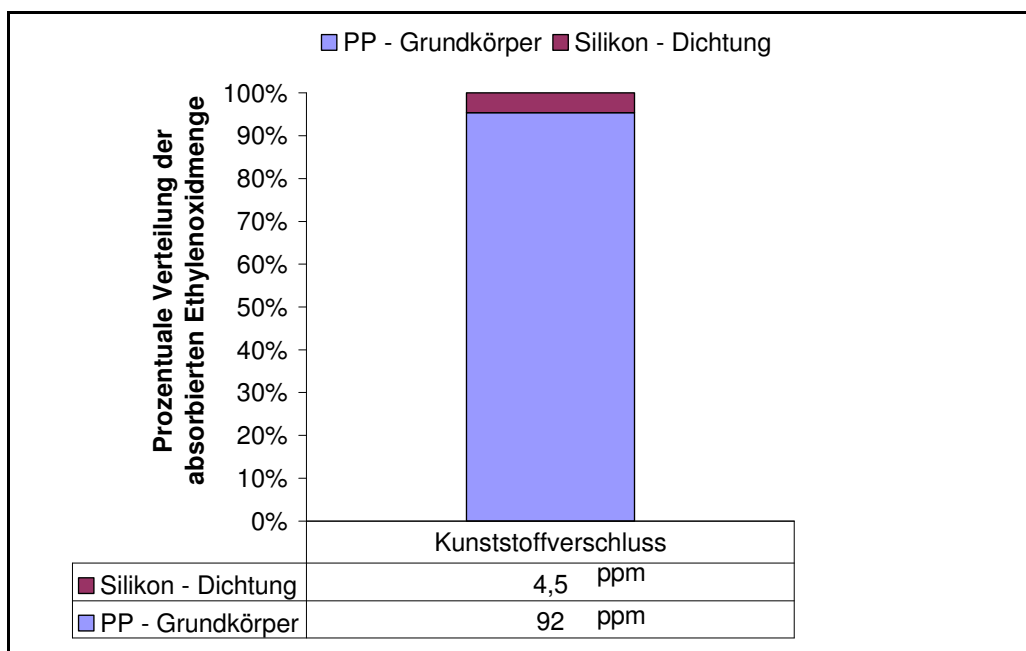


Abb. 10-33 Prozentuale Verteilung der adsorbierten Ethylenoxidmenge beim Kunststoffverschluss nach vierstündiger Beaufschlagung mit Ethylenoxid.

Überträgt man dieses Ergebnis auf den vergleichsweise voluminösen Kunststoffbehälter mit seiner um ein Vielfaches größeren Polypropylenfläche, so wird deutlich dass im Verlauf der Begasung nur eine reduzierte Ethylenoxidmenge an der Diffusionsmembran des beigefügten Prüfkörpers präsentiert werden kann. Dies gilt besonders für die Fälle, in denen die Kunststoffbehälter in einer stark ethylenoxidadsorbierenden Mischbeladung sterilisiert werden.

Die Gaskonzentration im provozierenden Prüfkörper ist ebenfalls abhängig von der gewählten Schichtdicke der Diffusionsmembran. Mit zunehmender Schichtdicke reduziert sich die Gaskonzentration innerhalb des Prüfkörpers. Abb. 10-34 zeigt dies am Beispiel des provozierenden Prüfkörpers des Kunststoffbehälters mit einer Diffusionsmembran aus Polyethylen.

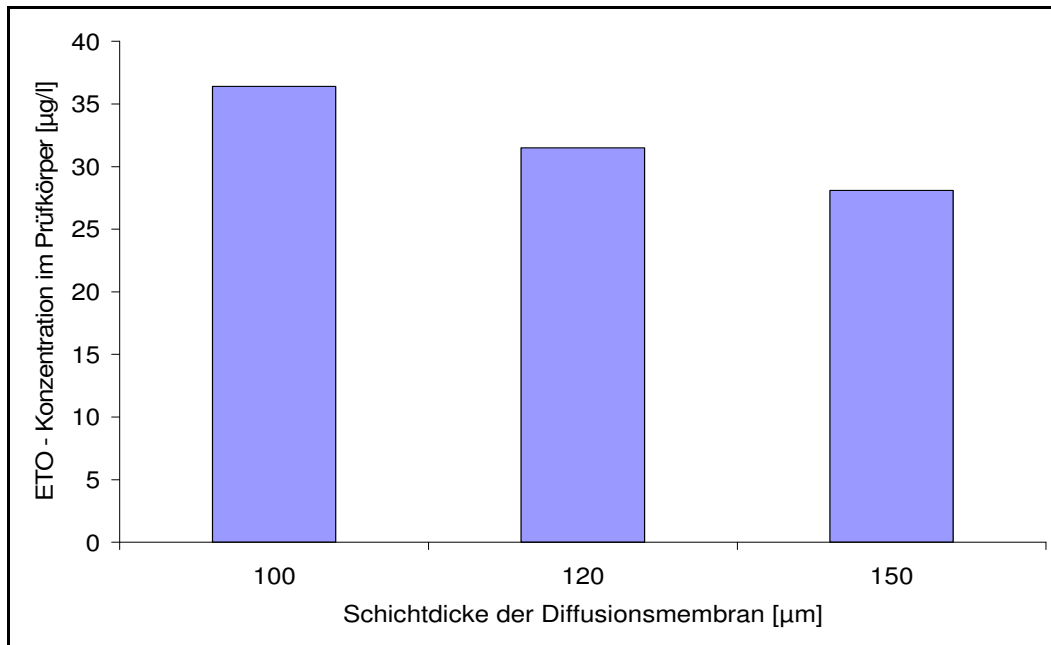


Abb. 10-34 Zusammenhang zwischen der Schichtdicke der PE – Diffusionsmembran und der maximalen Ethylenoxid Konzentration im PE – Prüfkörper. ETO – Konzentration in der Sterilisierkammer liegt bei 840 mg/l. Die Einwirkzeit des Gases beträgt vier Stunden.

Die Konsequenz aus der Beeinflussung des PE – Prüfkörpers durch die Ethylenoxidadsorption des PP – Außenbags ist eine Verstärkung, des mit dem provozierenden Prüfkörper geschaffenen worst case – Szenarios des Originalbauteils. Denn grundsätzlich wirkt sich die hohe Adsorptionsrate des Polypropylens positiv auf die Keimreduktionsrate aus, da es für den Spalt zwischen Außen- und Innenbag unerheblich ist aus welcher Richtung er durchdrungen wird. Der auf einer PE – Membran basierende provozierende Prüfkörper jedoch gibt diesen Effekt nicht wider, sondern zeigt stattdessen eine verminderte Verfahrenseffizienz an (siehe Abb. 10-31). Dies erklärt die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Grundlagenstudie und denen der Verfahrensevaluierung. Zur Vermeidung der in Kap. 10.1 beschriebenen Modifikationen am Bauteil bei der Verwendung von Bioindikatorfäden sowie dem Ziel einer einheitlichen Validierungsstrategie über beide Packmittelkomponenten, wird dennoch an dem Konzept des provozierenden Prüfkörpers für den Kunststoffbehälter festgehalten.

Auf der Grundlage des erfolgreichen Evaluierungslaufes mit einer Einwirkzeit von 4 Stunden und unter Einbeziehung des „post cycle“ – Effektes (siehe Tab. 10-14), wird für den Kunststoffbehälter ein Halbzyklus mit einer Begasungszeit von fünf Stunden (beinhaltet einen Sicherheitszuschlag von einer Stunde) und einer erhöhten Ethylenoxidkonzentration von 840 mg/l definiert. Tab. 10-16 zeigt die Ergebnisse der anschließenden erfolgreichen Evaluierung. Dabei deckt der fünfstündige Halbzyklus die Bandbreite der produktionsseitig möglichen Innenbag – Schichtdicken ab. Im Gegensatz zum Kunststoffverschluss wird jedoch nicht mehr in einer Mischbeladung sterilisiert, dass heißt zusammen mit anderen Produkten, sondern in der Sterilisationskammern befinden sich ausschließlich Paletten mit Kunststoffbehältern. Tab. 10-17 fasst die Sterilisationsparameter des evaluierten Halbzyklus zusammen.

Tab. 10-16 Ergebnisse des BI - Wachstumstest nach Ethylenoxidsterilisation der Kunststoffbehälter im Sterilisationszyklus mit fünfstündiger Einwirkzeit und unter Ausnutzung des „post cycle“ - Effektes. Es werden provozierende Prüfkörper mit Diffusionsmembranen unterschiedlicher Schichtdicke eingesetzt.

Einwirkzeit	NK	Gaskonzentration	BI-Nr.	Provozierender Prüfkörper Schichtdicke der PE - Membran		
				100 µm	120 µm	150 µm
4 h	22 h	840 mg/l	1.	-	-	-
			2.	-	-	-
			3.	-	-	-

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 10-17 Sterilisationsparameter des für die Kunststoffbehälter definierten Halbzyklus.

Sterilisationsphase	Dauer [h]	T [°C]	rF [%]	P [mbar]	ETO - Konz. [mg/l]
Vorkonditionierung	8 – 48	44 – 48	45 – 80	-	-
Sterilisation	5 ^a	45 – 48 ^c	50 – 80 ^c	-910 ^b -350 ^c	800 - 900
Nachkonditionierung	22 - 54	44 - 58	-	-	-

^a berücksichtigt einen Sicherheitszuschlag von 1 h; ^b Initialvakuum; ^c nach Gaseinlass

10.5.1 Diskussion

Die Eignung der provozierenden Prüfkörper als Referenzmodelle für die mikrobiologische Leistungsbeurteilung im Rahmen der Validierung und der späteren Sterilisationsroutine wurde belegt. Aus der unterschiedlichen Beschaffenheit der beiden Kunststoffbauteile resultieren in Verbindung mit dem Konzept der provozierenden Prüfkörper bauteilspezifische Sterilisationszyklen. Die Evaluierung beider Zyklen konnte erfolgreich abgeschlossen werden.

10.6 Durchführung der Validierung der gewählten Sterilisationszyklen

Anhand von drei voneinander unabhängigen Halbzyklen sollen die erfolgreich evaluierten Sterilisationszyklen des Kunststoffverschlusses und des Kunststoffbehälters validiert werden. Die Validierung unterteilt sich in die physikalische Leistungsbeurteilung, die mikrobiologischen Leistungsbeurteilung und die Analyse der Desorptionskinetik.

10.6.1 Durchführung der physikalische Leistungsbeurteilung

Durch die physikalische Leistungsbeurteilung wird nachgewiesen, dass die spezifizierten Zyklusparameter in jeder Phase der Sterilisation eingehalten werden. Eine homogene Verteilung von Temperatur, relativer Feuchte und Ethylenoxid innerhalb der eingesetzten Kammerysteme ist zu belegen. Zur Erfassung der physikalischen Einflussgrößen werden Datenlogger gleichmäßig innerhalb der Kammer verteilt (siehe Kap. 8.1).

Die Validierungszyklen werden im Sinne des worst case – Gedanken an der unteren Spezifikationsgrenze gefahren. Bei beiden Sterilisationszyklen lagen alle Messwerte innerhalb der physikalischen Prozessvorgaben. Tab. 10-18 gibt exemplarisch die Ergebnisse der physikalischen Leistungsbeurteilung des Sterilisationszyklus für die Kunststoffverschlüsse wieder.

Tab. 10-18 Ergebnis der physikalischen Leistungsbeurteilung des Sterilisationszyklus für die Kunststoffverschlüsse.

Zyklusphase	Zyklusparameter	Spezifikation	Validierungslauf		
			1.	2.	3.
Vorkonditionierung	Temperatur am Ende der VK [°C]	≤ 45	44,2	44	44
	Feuchte am Ende der VK [%]	≤ 45	43,8	44,2	44,9
	Behandlungszeit [h]	≤ 10	9,33	9,30	9,01
Begasung	Initialvakuum [mbar]	≤ -880	-880	-880	-880
	Vakuum nach Gaseinlaß [mbar]	≥ -65	-65	-65	65
	ETO – Dosierung [mg/l]	≤ 465	462	463	461
	Temperatur nach Gaseinlaß [°C]	≤ 45	44	43	43
	Feuchte nach Gaseinlaß [%]	50 – 55	50	54	54
	Temperatur am Ende der Begasungszeit [°C]	≤ 45	43	45	45
	Gaseinwirkungszeit [h]	2	2	2	2
Nachkonditionierung	Temperatur am Ende der Nachkonditionierung [°C]	≤ 45	45	45	45
	Behandlungszeit [h]	≤ 22	22	21,4	21,4

10.6.2 Durchführung der mikrobiologischen Leistungsbeurteilung

Unter dem Einsatz der provozierenden Prüfkörper soll ein SAL von 10^{-6} für die ausgewählten Sterilisationszyklen nachgewiesen werden. Jeweils zehn Prüfkörper werden mit kommerziellen Bioindikatoren mit einer Ausgangspopulation von 10^6 KBE bestückt (siehe Kap. 6.7.1.) und gemäß Positionierungsschema in der Sterilisierkammer verteilt (siehe Kap. 8.2.3). Zusätzlich werden jeweils zehn dieser Sporenstreifen dem Schüttgut beigefügt. Die geforderte Keimreduktion von 12 log – Stufen wird in der Routine durch die Verdoppelung des validierten Halbzyklus erreicht. Bei beiden Sterilisationszyklen werden alle eingebrachten Bioindikatoren erfolgreich abgetötet. Tab. 10-19 gibt exemplarisch die Ergebnisse der mikrobiologischen Leistungsbeurteilung des Sterilisationszyklus für die Kunststoffverschlüsse wieder.

Tab. 10-19 Ergebnis der mikrobiologischen Leistungsbeurteilung des Sterilisationszyklus für den Kunststoffverschluss; Einwirkzeit = 2 h; ETO – Konz. = 500 mg/l; Ausgangskeimzahl der eingesetzten Bioindikatoren = 1×10^6 KBE.

BI-Nr.	BI - Position	Kunststoffverschluss		
		Validierungslauf		
		1.	2.	3.
1.	Prüfkörper	-	-	-
2.		-	-	-
3.		-	-	-
4.		-	-	-
5.		-	-	-
6.		-	-	-
7.		-	-	-
8.		-	-	-
9.		-	-	-
10.		-	-	-
11.	Schüttwerk	-	-	-
12.		-	-	-
13.		-	-	-
14.		-	-	-
15.		-	-	-
16.		-	-	-
17.		-	-	-
18.		-	-	-
19.		-	-	-
20.		-	-	-

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

10.6.3 Untersuchung der Desorptionskinetik

Um die Kompatibilität zwischen den ethylenoxidsterilisierten Packmitteln und den Inhalationslösungen zu gewährleisten, kommt der Aufklärung der Desorptionskinetik eine entscheidende Bedeutung zu. Es muss gezeigt werden, dass nach Abschluss der Desorptionslagerung die Restgaskonzentrationen unterhalb der spezifizierten Akzeptanzgrenzen liegen. Diese werden auf Basis der Vorgaben der EMEA [74] und der FDA [158] wie folgt definiert:

- Ethylenoxid (ETO) $\leq 1 \mu\text{g/g}$
- Ethylenchlorhydrin (ETC) $\leq 20 \mu\text{g/g}$
- Ethylenglykol (ETG) $\leq 20 \mu\text{g/g}$

Aus Gründen der Produktsicherheit werden die Akzeptanzgrenzen für Ethylenchlorhydrin und Ethylenglykol niedriger gewählt als von den Normwerken vorgesehen.

Die Ergebnisse der Restgasuntersuchungen sind in Abb. 10-35 und Abb. 10-36 dargestellt.

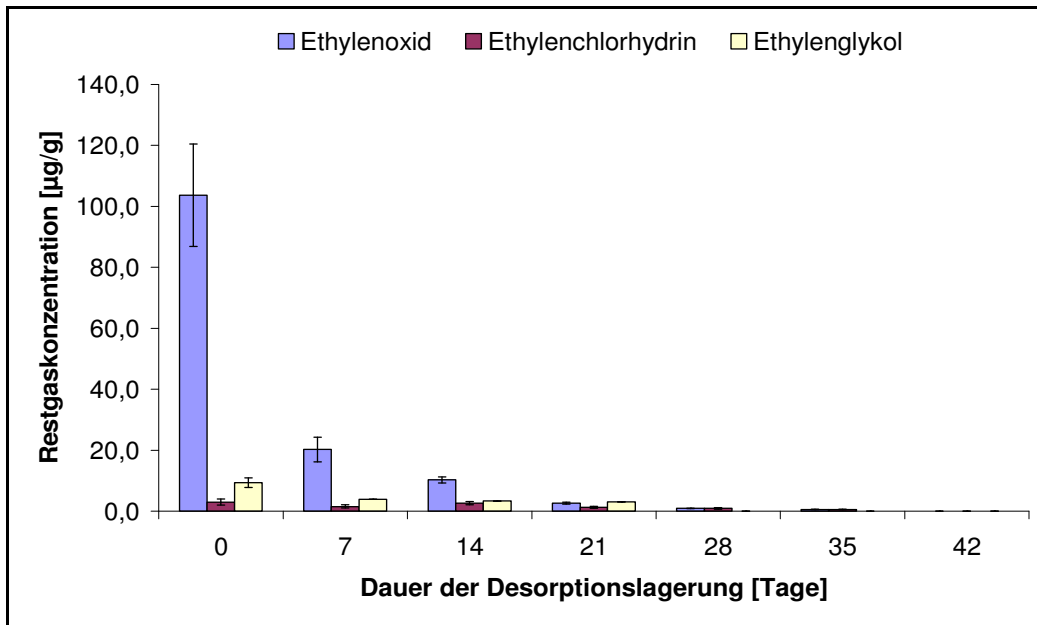


Abb. 10-35 Darstellung Desorptionskinetik des Kunststoffbehälters; [MW±SD; n = 3].

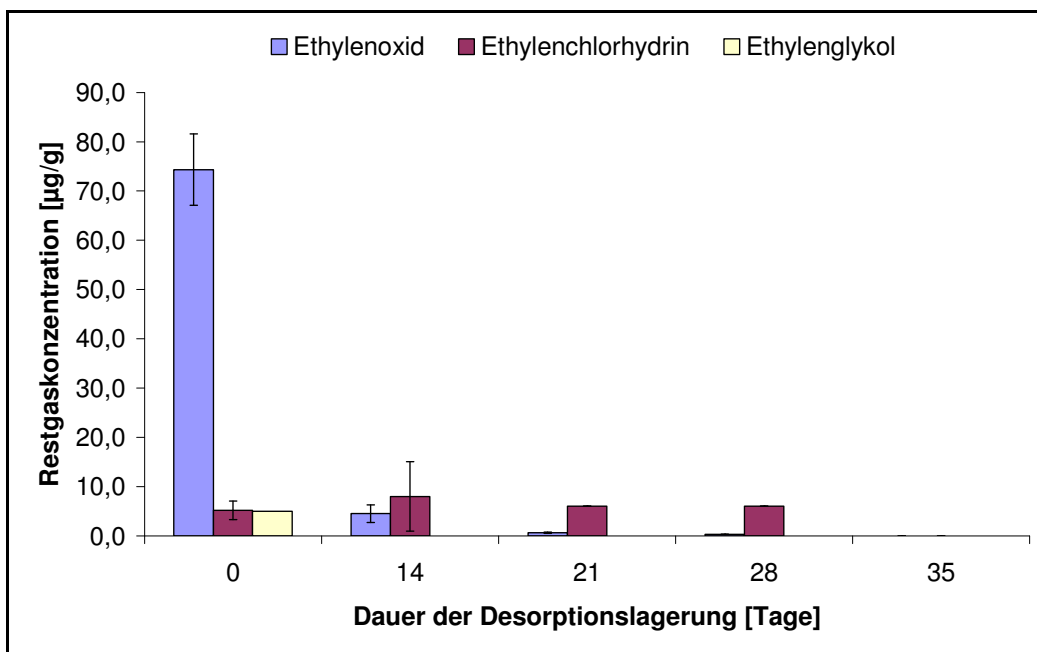


Abb. 10-36 Desorptionskinetik des Kunststoffverschlusses; [MW ± SD; n = 3].

Wie erwartet weist der Kunststoffbehälter, infolge der längeren Einwirkzeit bei höherer Gaskonzentration, einen höheren Restgasanteil auf. Zur vollständigen Entgasung ist daher eine entsprechend längere Desorptionszeit erforderlich. Auffällig beim Kunststoffverschluss ist der Ethylenchlorhydrinanteil, der über 28 Tage Desorption hinweg konstant bleibt. Diese ETC - Konzentration findet sich nur beim ersten Validierungslauf. Möglicherweise handelt es sich um eine einmalige Produktbeeinflussung durch die Mischbeladung. In der Sterilisationsroutine wurde eine vergleichbare ETC - Konzentration nicht mehr beobachtet.

Auf Basis der Ergebnisse wird für den Kunststoffbehälter eine Mindestdesorptionszeit von 35 Tagen und für den Kunststoffverschluss von 28 Tagen definiert. Beide Zeitspannen berücksichtigen einen Sicherheitszuschlag von einer Woche. Evaluierungsläufe mit Kunststoffbehältern haben gezeigt, dass durch Lagerung bei einer Umgebungstemperatur von 40 °C die Desorptionszeit der Bauteile um 7 bis 14 Tage verkürzt werden kann.

10.6.4 Diskussion

Mit der Validierung der beiden Sterilisationszyklen wurde der letzte Schritt der Prozessentwicklung erfolgreich abgeschlossen. Im Rahmen der physikalischen und mikrobiologischen Leistungsbeurteilungen gab es keinerlei Auffälligkeiten. Auf Basis der ermittelten Desorptionskinetiken konnten Lagerzeiten abgeleitet werden, die eine vollständige Entgasung der Bauteile gewährleisten. Mit maximal 840 Stunden nimmt die Desorption die meiste Zeit in Anspruch. Hier müssen zukünftig Wege gefunden werden diese zeitintensive Phase in den Ablauf der Respimat® – Produktion zu integrieren.

Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es, mögliche Vorgehensweisen aufzuzeigen, mit denen neue Applikationsformen auf der Grundlage bekannter Sterilisationsverfahren entwickelt, charakterisiert und validiert werden können. Als Gegenstand der Untersuchung dienten zwei Anwendungen aus dem Bereich der aseptischen Herstellung von Inhalationslösungen. Zum einen wurde die Sterilisation mittels Wasserstoffperoxid in der Gasphase (VPHP) erfolgreich auf das komplexe Leitungssystem einer Produktionsmaschine adaptiert. Hier lag die Herausforderung in der Sterilisation stark verzweigter, englumiger Polyethylenschläuche. Zum anderen konnte die Eignung der Ethylenoxidbegasung zur Overkill - Sterilisation eines aus zwei Einzelbauteilen bestehenden Primärpackmittels zur Aufnahme von Inhalationslösungen belegt werden. In diesem Fall galt es das Gas in ausreichender Konzentration durch alle Umverpackungen hindurch in die engen Zwischenräume der Kunststoffbauteile zu führen. Ausgangsproblematik für die Anwendung beider alternativer Verfahren war die Thermolabilität der zu sterilisierenden Komponenten, für die eine denkbarer Behandlung mit trockener Hitze oder gespanntem Wasserdampf von vorneherein ausgeschlossen wurde.

Die Verfahrensentwicklung beider Prozesse wurde zunächst in drei Teilabschnitte untergliedert. Zuerst erfolgte eine Grundlagenstudie, in der gezeigt wurde, dass die Technologien grundsätzlich zur Sterilisation des jeweiligen Objekts geeignet sind. Im Anschluss daran kam eine Evaluierungsphase in der die kritischen Prozessparameter identifiziert und anschließend mit Spezifikationen belegt wurden. Darüber hinaus wurden in dieser Phase Materialunverträglichkeiten aufgedeckt und beseitigt. Mit der Validierung beider Sterilisationsapplikationen wurde die Verfahrensentwicklung erfolgreich abgeschlossen.

Während die Arzneibücher als Referenzkeim für die Ethylenoxidsterilisation *Bacillus subtilis* definieren, fehlen richtungweisende Vorgaben für das VPHP - Verfahren fast vollständig. Aus diesem Grund wurde im Vorfeld zur eigentlichen Verfahrensentwicklung der Sporenbildner *Bacillus stearothermophilus* als Prüfkeim für die Wasserstoffperoxidsterilisation im Referenzisolator qualifiziert. Für die Grundlagenstudie kam beim VPHP - Verfahren einfache Modelle zum Einsatz. Im Falle der Ethylenoxidsterilisation wurde ein bereits etablierter Standardzyklus in einer qualifizierten Sterilisierkammer zur Anwendung gebracht. In beiden Fällen konnte die grundsätzliche Anwendbarkeit der Verfahren nachgewiesen werden. Aus der Schwierigkeit heraus die Bioindikatoren an den repräsentativen, schwer zu sterilisierenden Positionen zu platzieren, resultierte bereits in dieser Phase die Entwicklung und Qualifizierung geeigneter Referenzkörper. Mittels der Referenzkörper wurde es möglich kommerzielle Sporenstreifen ohne bauliche Modifikationen in das jeweilige System einzubringen. Sie wurden sowohl für die mikrobiologische Leistungsbeurteilung im Rahmen der Verfahrensevaluierung als auch der Validierung eingesetzt.

In der Evaluierungsphase wurde deutlich, dass die kritischen Prozessparameter bei beiden Verfahren nahezu identisch sind. Druck, Temperatur, relative Feuchte, Gaskonzentration und Einwirkzeit sind entscheidend für den Sterilisationserfolg. Hohe Systemfeuchten stehen in direkter Korrelation zu einem niedrigen D - Wert. Dies gilt besonders für die Ethylenoxidsterilisation bei der durch die Tertiärverpackung hindurch sterilisiert werden musste. Für alle genannten Prozessparameter wurden im Verlauf der Evaluierung geeignete Grenzwerte definiert. Für die mikrobiologische Leistungsbeurteilung wurden zwei unterschiedliche Ansätze gewählt. Bei der Ethylenoxidsterilisation wurde die klassische Halbzyklusmethode angewandt. Die Bewertung der VPHP - Technologie erfolgte mittels statistischer D - Wert - Abschätzung anhand der Fraction Negative Analysis. Diese Methodik hat gegenüber dem Halbzyklusverfahren den Vorteil, dass sie den Verlauf der Keimreduktion detailliert nachbildet und man anhand der berechneten Abtötungskinetik ein besseres Verständnis für den gesamten Sterilisationsprozess gewinnt. Unabhängig von der Art der mikrobiologischen Leistungsbeurteilung konnten für beide Anwendungen Sterilisationszyklen mit einem SAL von 10^{-6} bzw. 10^{-5} entwickelt werden.

Bereits in Evaluierungsphase machte sich der für die Gassterilisationsverfahren typische Nachteil der zeitintensiven Desorption bemerkbar. Sowohl beim H_2O_2 – Verfahren als auch bei der Ethylenoxidsterilisation ist ein Vielfaches der Einwirkzeit erforderlich, um nach der eigentlichen Sterilisation die Restgaskonzentration auf Akzeptanzniveau abzusenken. Bei der Wasserstoffperoxidsterilisation erwiesen sich Materialinkompatibilität als weiterer Nachteil. Die Einwirkung des Wasserstoffperoxids auf die aus polymerisiertem 1,3 Butadien bestehende Dichtungen des Leitungssystems führte zu Rissen und Versprödungen. Durch den Austausch gegen Dichtungen aus PTFE konnte diese Inkompatibilität jedoch dauerhaft beseitigt werden. Widererwartend zeigte Ethylenoxid keinerlei Inkompatibilitäten mit den Packmitteln. Alle Extraktionsprofile waren unauffällig. Die Konzentration an Antioxidantien blieb auch nach einer zweifachen Beaufschlagung mit Ethylenoxid konstant. Die sterilisierten Packmittel zeigten ihrerseits in der Kompatibilitätsprüfung keine Interaktion mit den untersuchten Inhalationslösungen. Eine erhöhte Migration von Packmittelbestandteilen in Richtung der Lösungen wurde nicht festgestellt. Grundvoraussetzung hierfür ist ein abgeschlossener Desorptionsprozess.

Der finale Schritt der Validierung wurde mit je drei voneinander unabhängigen Sterilisationsläufen durchgeführt. Dabei lagen die physikalischen Parameter bei beiden Applikationen innerhalb der gesetzten Vorgaben. Alle eingebrachten Bioindikatoren konnten erfolgreich abgetötet werden. Für die Ethylenoxidsterilisation ergab sich abhängig von den Einzelkomponenten, eine maximale Desorptionsdauer von 840 Stunden. Dies ist das Achtzigfache der Einwirkzeit. Weiterführende Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass der Desorptionsprozess durch temperierte Lagerung deutlich beschleunigt werden kann. Im Falle der VPHP – Anwendung lag das Verhältnis zwischen Einwirkzeit zur Desorptionszeit bei 1:3.

Abschließend lässt sich festhalten, dass die für die Verfahrensentwicklung gewählte Strategie bei beiden Anwendungen zu einer erfolgreichen Adaption des entsprechenden Gassterilisationsverfahrens geführt hat. Sowohl die zu Beginn erwähnte Teilung der Verfahrensentwicklung in drei Abschnitte, als auch der Einsatz von Modellen und Referenzkörpern haben sich bewährt.

Anhang

11 Übersicht der eingesetzten Geräte

Tab. 11-1 Geräte

Gerätetyp	Bezeichnung	Hersteller
Bildschirmschreiber	Jumo Logoscreen	M.K. Juchheim
Datenerfassungssystem	Eurotherm 4250 G	Eurotherm
Datenerfassungssystem	Micromec Multisense Datenlogger	Technetics
Rasterelektronenmikroskop	DSM 940	Carl Zeiss
Farbmessgerät	Lico 200	Dr. Bruno Lange
Trübungsmessgerät	2100 AN	Hach
pH – Meter	MP 230	Mettler Toledo
Extraktionssystem	B – 811	Büchi
HPLC	HP 1100	Agilent
HPLC	Alliance 2960 XE	Waters
Gaschromatograph	HP 5890 Serie II	Agilent
Gaschromatograph	HP 6890 plus	Agilent
UV-Spektralphotometer	Milton Roy Spectronic 601	Milton Roy
Auswertungssoftware	Millenium 32	Waters

12 Fließschemata der DDC – Anlage und des Sterilisationsmoduls

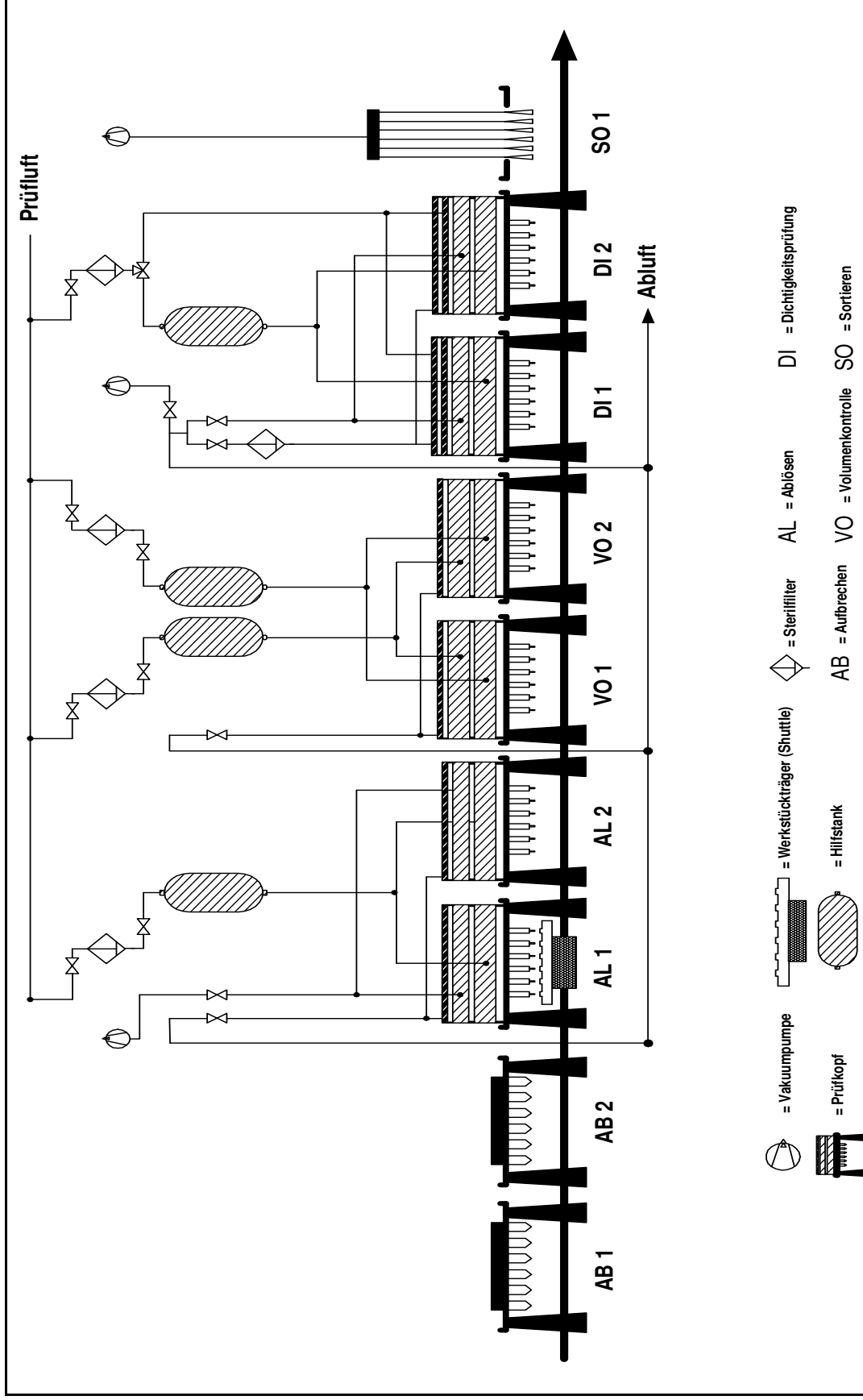


Abb. 12-1 Fließschema der DDC – Anlage.

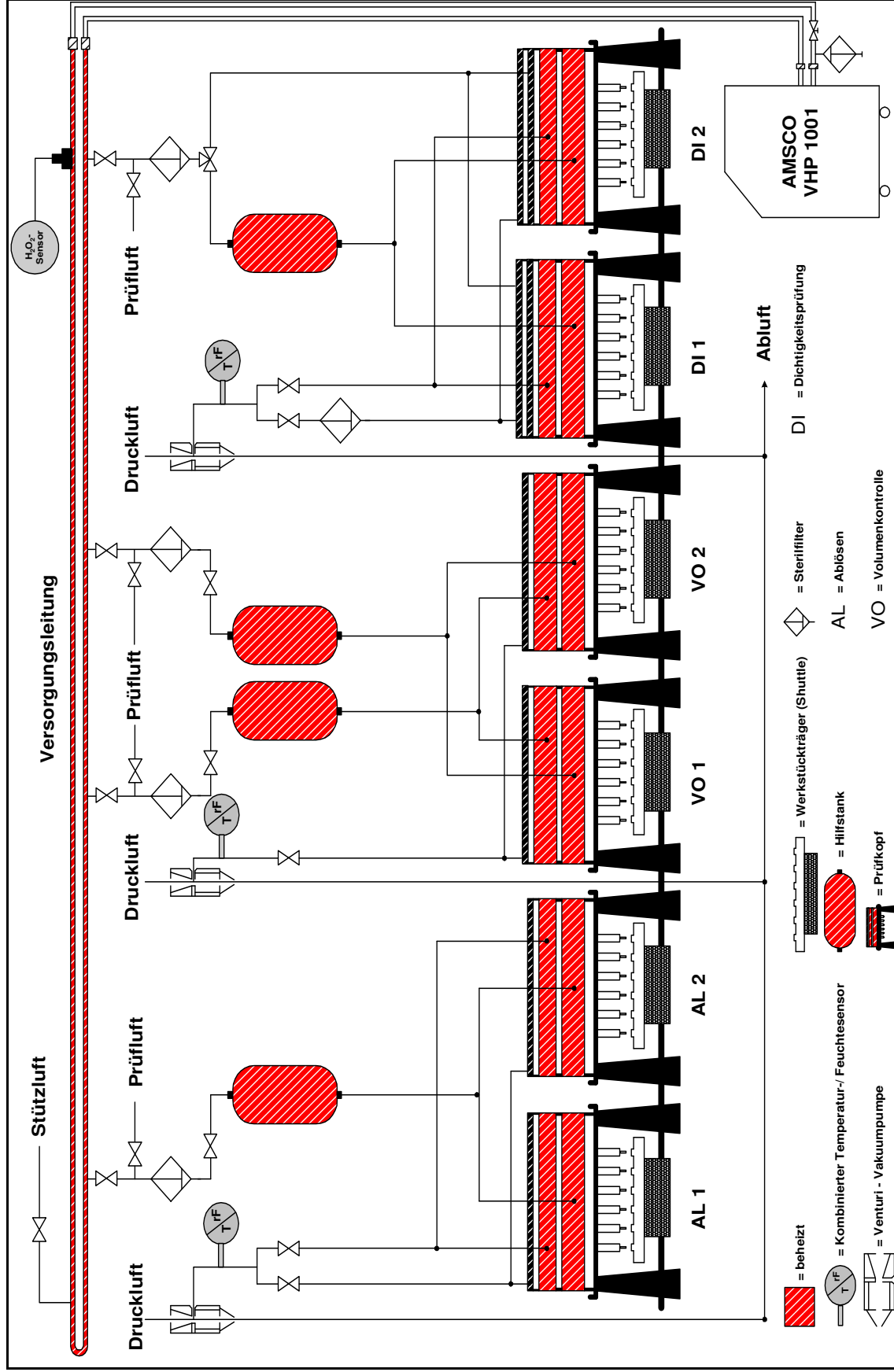


Abb. 12-2 Fließschema des Sterilisationsmoduls der DDC - Anlage.

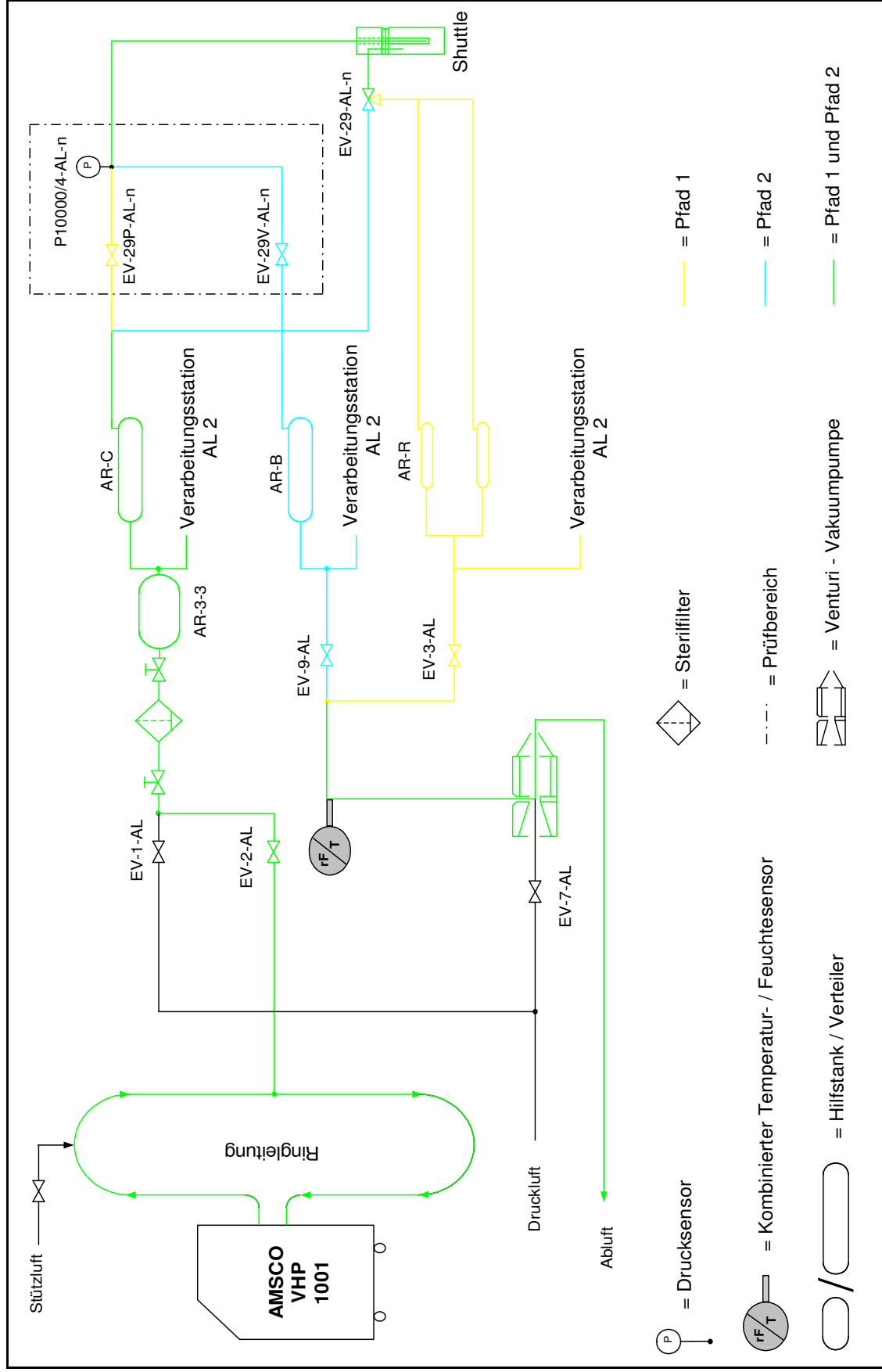


Abb. 12-4 R&I Schema der Verarbeitungsstation Ablösen.

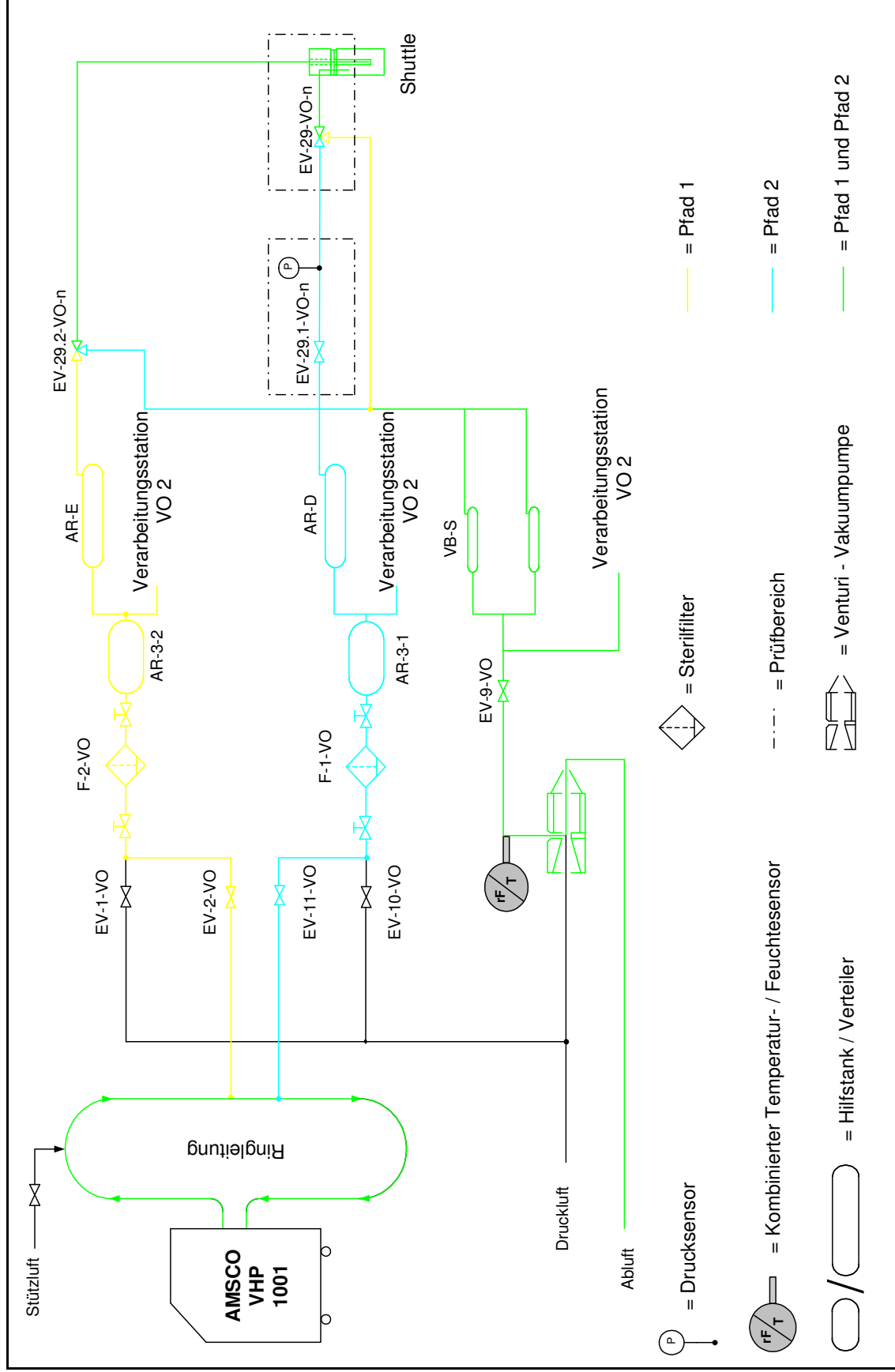


Abb. 12-5 R&I Schema der Verarbeitungsstation Volumenkontrolle.

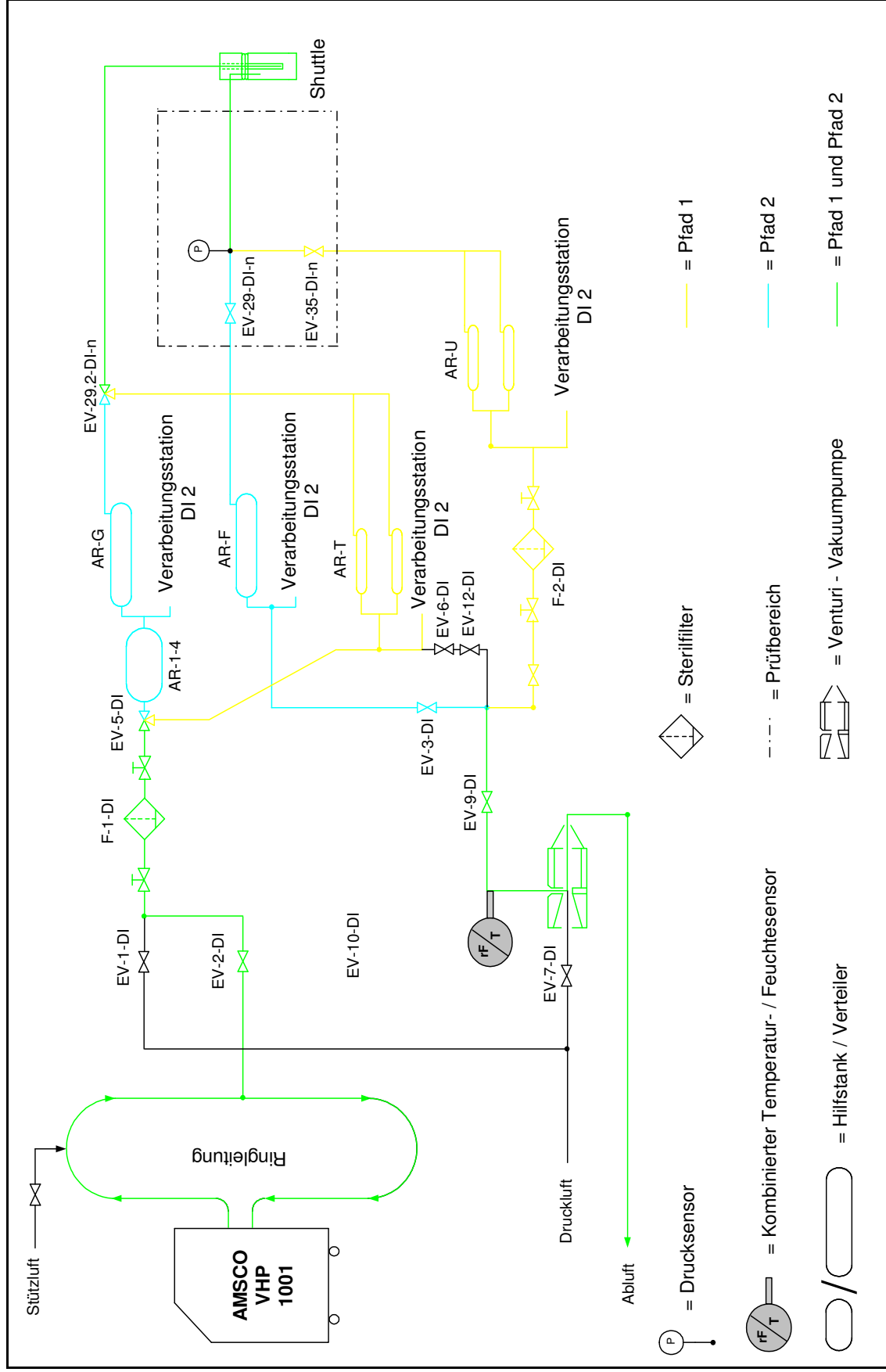


Abb. 12-6 R&I Schema der Verarbeitungsstation Dichtigkeitsprüfung.

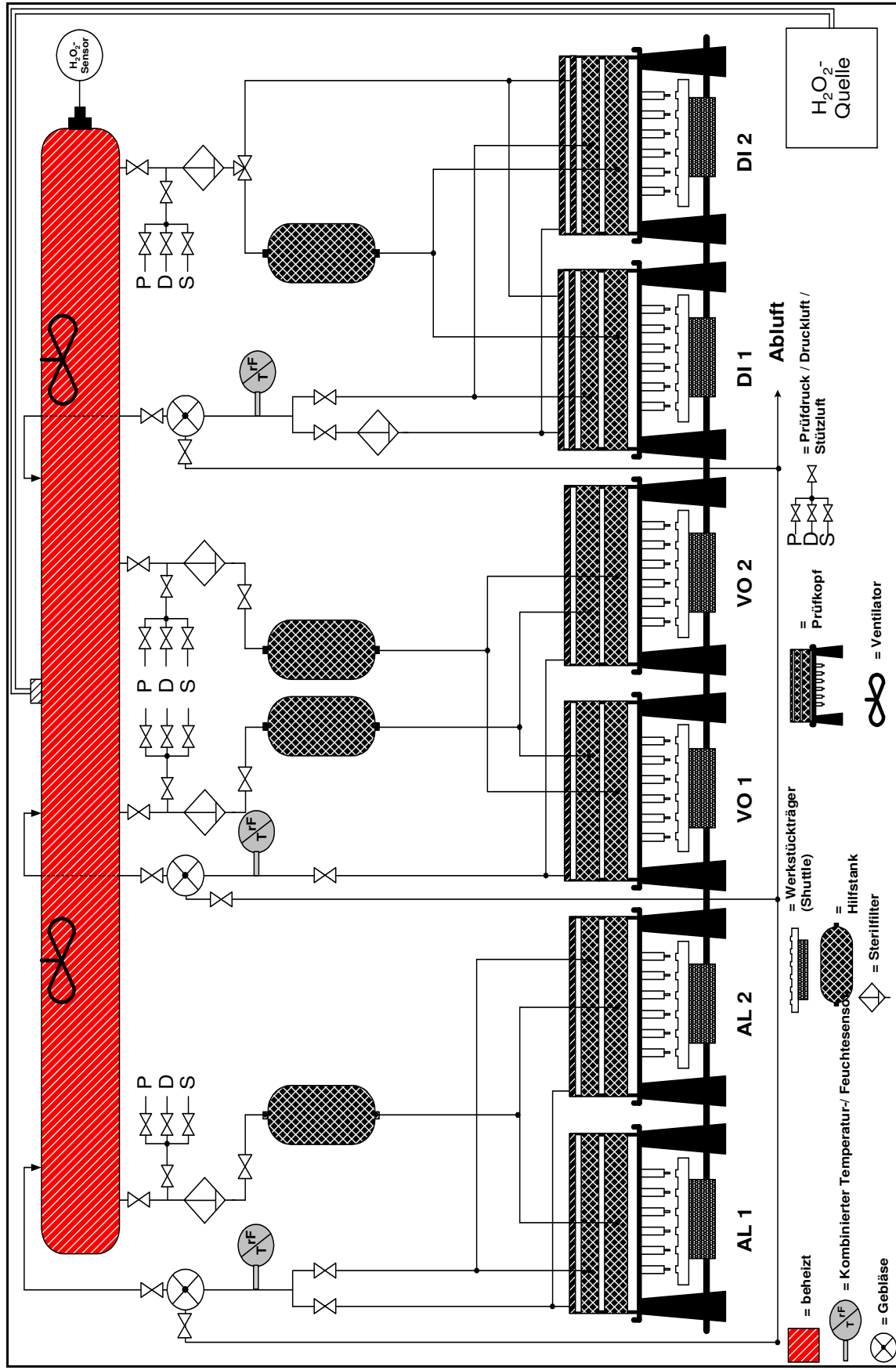





Abb. 12-7 Fließschema des optimierten Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage.

13 Reactive Pattern (Auswertung der Wachstumskontrolle)

13.1 Reactive Pattern des Entwicklungsisolators




Tab. 13-1 Reactive Pattern der BI-Charge H1071. Der D-Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	9	15	21	27	33	39	45	51	57	
1.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2,5
2.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum;  = Überlebenszeit;  = Fraktionales Feld;  = Abtötungszeit

Tab. 13-2 Reactive Pattern der BI-Charge H 3530. Der D-Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	9	15	21	27	33	39	45	51	57	
1.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2,2
2.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum;  = Überlebenszeit;  = Fraktionales Feld;  = Abtötungszeit

Tab. 13-3 Reactive Pattern der beimpften PE-Träger. Der D-Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	7	17	27	37	47	57	67	77	87	97	
1.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
2.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-4 Reactive Pattern der ersten Versuchsreihe mit beimpften PU – Träger. Der D-Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	7	17	27	37	47	57	67	77	87	97	
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	11,0
2.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-5 Reactive Pattern der beimpften PE- Träger. Der D-Wert wurde mittels LSMCP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	19										
1.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	3,0
2.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-6 Reactive Pattern der zweiten Versuchsreihe mit beimpften PU – Träger. Ein D – Wert kann nicht berechnet werden.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	13	23	33	43	53	63	73	83	93	
1.	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2.	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
3.	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

13.2 Reactive Pattern des Schlauchmodells

Tab. 13-7 Reactive Pattern des Schlauchmodells. Eingesetzt wurde die BI – Charge H 1071. Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe						D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	
	Einwirkzeit [min]						
	1	2	5	10	20	30 ^a	
1.	+	+	-	-	-	-	0,3
2.	+	-	-	-	-	-	
3.	+	-	-	-	-	-	
4.	+	-	-	-	-	-	
5.	+	-	-	-	-	-	
6.	+	-	-	-	-	-	
7.	+	-	-	-	-	-	
8.	+	-	-	-	-	-	
9.	+	-	-	-	-	-	
10.	+	-	-	-	-	-	

^a = Kondensation; + = Wachstum; - = kein Wachstum

13.3 Reactive Pattern des erweiterten Testmodells

Tab. 13-8 Reactive Pattern der BI – Charge H0610 (Pfad 1; ohne Tyvek® - Hülle). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
1.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1,6
2.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-9 Reactive Pattern der BI – Charge H1071 (Pfad 1). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
1.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	1,3
2.	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
3.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-10 Reactive Pattern der BI – Charge H3530 (Pfad 1). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
1.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1,6
2.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-11 Reactive Pattern der BI – Charge H0610 (Pfad 2). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
1.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	1,9
2.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-12 Reactive Pattern der BI – Charge H0610 (Pfad 1; mit Tyvek® – Hülle). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe										D-Wert [min]
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
	Einwirkzeit [min]										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
1.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	1,9
2.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

13.4 Reactive Pattern des Sterilisationsmoduls der DDC – Anlage

Tab. 13-13 Reactive Pattern der Ablösestationen (Pfad 1). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe																D-Wert
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
Einwirkzeit [min]	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
1.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,1
2.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-14 Reactive Pattern der Volumenkontrollstationen (Pfad 1). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe															D-Wert	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
	Einwirkzeit [min]																
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
1.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,3
2.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-15 Reactive Pattern der Dichtigkeitsprüfstationen (Pfad 1). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe															D-Wert	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
	Einwirkzeit [min]																
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
1.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3
2.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-16 Reactive Pattern der Ablösestationen (Pfad 2). Der D - Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe																D-Wert
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
Einwirkzeit [min]	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	12,9
2.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-17 Reactive Pattern der Volumenkontrollstationen (Pfad 2). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe																D-Wert
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
Einwirkzeit [min]	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
1.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,5
2.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

Tab. 13-18 Reactive Pattern der Dichtigkeitsprüfstationen (Pfad 2). Der D – Wert wurde mittels LSKP berechnet.

BI	Entnahmegruppe																D-Wert
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	[min]
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	
	Einwirkzeit [min]																
1.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,5
2.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum

14 Messdatentabellen

14.1 Abmessungen

Tab. 14-1 Abmessungen der unbehandelten und sterilisierten Kunststoffverschlüsse; [n = 30].

Merkmal	Bauteilqualität	MW	MIN	MAX	SD
Gesamthöhe [mm]	unbehandelt	19,98	19,93	20,06	0,03
	sterilisiert	19,98	19,87	20,07	0,04
Außendurchmesser Kanal unterhalb der Deckelplatte [mm]	unbehandelt	5,50	5,45	5,60	0,03
	sterilisiert	5,50	5,45	5,50	0,01
Innendurchmesser Kanal am Ausgang [mm]	unbehandelt	1,45	1,45	1,45	0,00
	sterilisiert	1,45	1,45	1,45	0,00
Innendurchmesser Kanal unterhalb der Deckelplatte [mm]	unbehandelt	11,51	11,45	11,60	0,03
	sterilisiert	11,47	11,45	11,50	0,03
Dicke der Silikondichtung [mm]	unbehandelt	1,08	1,05	1,13	0,02
	sterilisiert	1,06	1,03	1,11	0,02
Gewicht [g]	unbehandelt	0,59	0,58	0,59	0,00
	sterilisiert	0,59	0,58	0,59	0,00

Tab. 14-2 Abmessungen der unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehälter; [n = 20].

Merkmal	Bauteilqualität	Druck [mbar]			
		MW	MIN	MAX	SD
Kragenhöhe [mm]	unbehandelt	2,89	2,82	2,99	0,05
	sterilisiert	2,89	2,79	2,98	0,05
Schichtdicke des Innenbags [μm]	unbehandelt	96,00	88,50	104,00	4,78
	sterilisiert	101,70	92,00	110,00	5,38
Behälterlänge [mm]	unbehandelt	44,82	44,70	44,90	0,05
	sterilisiert	44,81	44,70	44,85	0,04
Behälterdurchmesser [mm]	unbehandelt	15,69	15,64	15,75	0,03
	sterilisiert	15,69	15,63	15,76	0,04
Gewicht [g]	unbehandelt	1,85	1,84	1,86	0,01
	sterilisiert	1,85	1,83	1,85	0,01

14.2 Kollabierverhalten

Tab. 14-3 Kollabierverhalten der unbehandelten und sterilisierten Kunststoffbehälter.

Kollabierart	Bauteilqualität	Druck [mbar]			
		MW	MIN	MAX	SD
Trockenkollabierung	unbehandelt	60	37	88	9,73
	sterilisiert	57	31	95	10,09
Nasskollabierung	unbehandelt	35	12	162	16,21
	sterilisiert	35	8	9	12,75

14.3 Kräftemessungen

Tab. 14-4 Aufschnappkräfte, Durchstechkräfte und axiale Steifigkeit der unbehandelten und sterilisierten Bauteile; [n = 10].

Kraftart	Bauteil	Bauteilqualität	Kraft [mbar]			
			MW	MIN	MAX	SD
Aufschnappkraft mit Behältern	Kunststoffverschluss	unbehandelt	233,2	212,6	249,6	13,1
		ethylenoxidst.	245,6	202,5	258,7	13,3
		dampfst.	287,5	268,7	304,2	10,8
		plasmast.	281,0	248,3	315,3	23,0
		strahlenst.	205,6	172,8	231,4	19,9
Aufschnappkraft mit Dummy	Kunststoffverschluss	unbehandelt	226,8	216,2	232,8	4,6
		ethylenoxidst.	237,1	231,1	242,0	3,3
		dampfst.	254,8	245,4	266,0	5,9
		plasmast.	212,0	203,3	222,9	4,7
		strahlenst.	210,2	201,2	216,6	4,8
Durchstechkraft	Kunststoffverschluss	unbehandelt	68,1	60,0	75,1	8,0
		ethylenoxidst.	72,7	65,5	78,6	3,4
		dampfst.	84,2	77,1	92,2	4,2
		plasmast.	80,0	70,6	93,7	8,0
		strahlenst.	73,56	62,1	80,6	5,1
Axiale Steifigkeit	Kunststoffbehälter	unbehandelt	328,0	306,0	347,0	9,2
		ethylenoxidst.	329,0	314,0	347,0	7,4

14.4 Dichtigkeitsprüfung im Lagertest

Tab. 14-5 Massenverlust im Lagertest; [n = 1000].

Prüfung	Bauteilqualität		Massenverlust [g]			
	Behälter	Verschluss	MW	MIN	MAX	SD
Dichtigkeit	unbehandelt	unbehandelt	4,41	2,92	40,57	3,63
	sterilisiert	sterilisiert	4,56	1,12	41,44	3,35

14.5 Extractables

Tab. 14-6 Extractablesgehalt im Kunststoffverschluss [142].

Bauteilqualität	Extractables – Kunststoffverschluss [µg/g]		
	Verschluss		Dichtung
	Irganox 1010	Irganox 1076	Polydimethylsiloxane
unbehandelt	423,9	n.n.	3820
ethylenoxidsterilisiert	375,5	n.n.	3928
plasmasterilisiert	269,8	n.n.	4159
strahlensterilisiert	26,6	n.n.	4536

n.n. = nicht nachweisbar

Tab. 14-7 Extractablesgehalt im Kunststoffbehälter [159].

Bauteilqualität	Extractables – Kunststoffbehälter [µg/g]			
	Außenbag		Innenbag	
	Irganox 1010	Irganox 1010 – OH	Irganox 1010	Irganox 1010 – OH
unbehandelt	254	36	93	10
ethylenoxidsterilisiert	245	35	92	10

14.6 Wirkstoffgehalt

Tab. 14-8 Wirkstoffgehalt der Inhalationslösungen A bis C [156].

Inhalationslösung	Wirkstoff	Bauteilqualität	Wirkstoffgehalt [mg/100ml]			
			Lagerzeit [Monate]			
			0	1	3	6
Inhalationslösung A	Ipratropium	unbehandelt	181,8	177,8	181,4	174,6
		sterilisiert		178,6	179,9	176,7
	Fenoterol	unbehandelt	459	442,4	449,0	435,8
		sterilisiert		444,0	446,6	442,3
Inhalationslösung B	Ipratropium	unbehandelt	355	347	351	352
		sterilisiert		347	352	353
	Salbutamol	unbehandelt	1760	1753	1725	1716
		sterilisiert		1751	1730	1721
Inhalationslösung C	Tiotropium	unbehandelt	46,27	46,07	45,86	44,75
		sterilisiert		46,20	45,80	44,76

15 Abbildungsverzeichnis

ABB. 1-1	ENTSCHEIDUNGSBAUM DER EMEA ZUR AUSWAHL EINES STERILISATIONSVERFAHRENS FÜR WÄSSRIGE FORMULIERUNGEN.	3
ABB. 1-2	ENTSCHEIDUNGSBAUM DER EMEA ZUR AUSWAHL EINES STERILISATIONSVERFAHRENS FÜR NICHT WÄSSRIGEN LÖSUNGEN, HALBFESTE UND PULVRIGE ZUBEREITUNGEN.	4
ABB. 2-1	SCHNITTDARSTELLUNG DES RESPIMAT® SOFT MIST INHALER.....	5
ABB. 2-2	ABLAUFSHEMA DER PROZESSENTWICKLUNG (VPHP – STERILISATION).	6
ABB. 2-3	ABLAUF DER PROZESSENTWICKLUNG (ETHYLENOXIDSTERILISATION).	7
ABB. 3-1	ÜBERLEBENSKURVE MIT $N_0=1 \times 10^6$ [KBE] UND $D=1$ [MIN].	10
ABB. 3-2	DIAGRAMM EINES VPHP – STERILISATIONSZYKLUS. DIE ZIFFERN A BIS E BEZIEHEN SICH AUF DIE ANGABEN IN KAP. 3.3.1	12
ABB. 3-3	DIE STRUKTUR DES H_2O_2 – MOLEKÜLS.	14
ABB. 3-4	DIAGRAMM EINES ETHYLENOXID – STERILISATIONSZYKLUS IM UNTERDRUCKVERFAHREN[.]. DIE ZIFFERN A BIS E BEZIEHEN SICH AUF DIE ANGABEN IN KAP. 3.4.1	15
ABB. 3-5	DENATURIERUNGSREAKTION VON PROTEINEN UNTER DER EINWIRKUNG VON ETHYLENOXID [67].....	16
ABB. 3-6	DIE STRUKTUR DES ETHYLENOXID – MOLEKÜLS.	17
ABB. 5-1	FUNKTIONSSHEMA DER DDC – ANLAGE.	19
ABB. 5-2	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER BEHÄLTERAUFBEREITUNG IN DER DDC – ANLAGE.	19
ABB. 5-3	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINER PRÜFFORM.....	20
ABB. 5-4	FLUSSDIAGRAMM DES AMSCO VHP 1001 GENERATORS.	21
ABB. 5-5	FLIEBSHEMA VENTURI VAKUUMPUMPE.	22
ABB. 5-6	FLUSSDIAGRAMM DES SCHLAUCHMODELLS.	22
ABB. 5-7	FLUSSDIAGRAMM DES ERWEITERTES TESTMODELLS. DIE GASFÜHRUNG ERFOLGT MITTELS ENDSTÄNDIGER VENTURI VAKUUMPUMPE.	23
ABB. 5-8	FLUSSDIAGRAMM DES ERWEITERTEN TESTMODELLS. DIE GASFÜHRUNG ERFOLGT MITTELS VORGESCHALTETEM KOMPRESSOR.	24
ABB. 5-9	AUSTRITT DER STÜTZLUFT IM BEREICH DER PRÜFFORM DER VOLUMENKONTROLLSTATION.	25
ABB. 5-10	FLUSSDIAGRAMM DES ENTWICKLUNGSISOLATORS DER FA. SKAN AG.....	25
ABB. 5-11	FLUSSDIAGRAMM DES STERILISATIONSSYSTEMS SIS 700 DER FA. SKAN AG.....	26
ABB. 5-12	FUNKTIONSSHEMA DER MESSZELLE EINES TAUSPIEGELHYGROMETERS.	28
ABB. 5-13	FUNKTIONSSHEMA EINES THERMOELEMENTS VOM TYP K.	29
ABB. 5-14	FLIEBSHEMA DES WASSERSTOFFPEROXIDSSENSORS DER FA. DRÄGER.....	30
ABB. 5-15	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINES WASSERSTOFFPEROXID – GASPRÜFRÖHRCHEN DER FA. DRÄGER.....	30
ABB. 5-16	FOTOGRAFIE DES BIOLOGICAL INDICATOR FOR GASEOUS HYDROGEN PEROXIDE (APEX LABORATORIES).	31
ABB. 5-17	STRUKTUR DES XYLENOLORANGE - MOLEKÜLS.....	32
ABB. 6-1	SCHNITTDARSTELLUNG DES RESPIMAT – PRIMÄRPACKMITTELS BESTEHEND AUS KUNSTSTOFFBEHÄLTER UND KUNSTSTOFFVERSCHLUSS.....	33
ABB. 6-2	SCHEMA DER BEHÄLTERBESTRAHLUNGSANLAGE JS 8500	35
ABB. 6-3	FOTOGRAFIE DER MESSEINHEIT ZUR BESTIMMUNG DER KRAGENHÖHE.	36

ABB. 6-4	FOTOGRAFIE DER MESSEINHEIT ZUR BESTIMMUNG DER SCHICHTDICKE.	36
ABB. 6-5	FOTOGRAFIE DER DRUCK – ZUG – PRÜFMASCHINE ERICHSEN LRX 2K5.....	37
ABB. 6-6	BENZALKONIUMCHLORID.	38
ABB. 6-7	IPRATROPIUMBROMID (1) UND FENOTEROL (2).	38
ABB. 6-8	SALBUTAMOL (1) UND TIOTROPIUMBROMID (2).	38
ABB. 7-1	POSITIONIERUNG DES DRUCKSENSORS IM LEITUNGSGEFÜGE	39
ABB. 7-2	POSITIONIERUNG DES DURCHFLUSSMESSERS AM EINGANG ZUR VERARBEITUNGSSTATION.	40
ABB. 7-3	T - ADAPTER ZUR POSITIONIERUNG DER FEUCHTESENSOREN.....	40
ABB. 7-4	MESSAUFBAU DES TAUPUNKTSPIEGELHYGROMETER AM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE.....	41
ABB. 7-5	POSITIONIERUNG DER THERMOELEMENTE: (1) IM GASSTROM; (2) AUF DER INNENFLÄCHE; (3) AUF DER AUßENFLÄCHE.....	41
ABB. 7-6	TEMPERATURMESSPUNKTE AM ERWEITERTEN TESTMODELL. DIE NUMMERIERUNG BEZIEHT SICH AUF DIE ANGABEN DER TAB. 7-2.	42
ABB. 7-7	TEMPERATURMESSPUNKTE DER DICHTIGKEITSPRÜFSTATION. DIE NUMMERIERUNG BEZIEHT SICH AUF DIE ANGABEN IN TAB. 7-2.....	43
ABB. 7-8	POSITIONIERUNG DER H ₂ O ₂ – SONDE IM LEITUNGSGEFÜGE.	44
ABB. 7-9	PROZENTUALER MESSFEHLER DER WASSERSTOFFPEROXID – SONDE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER STRÖMUNGSGESCHWINDIGKEIT.	44
ABB. 7-10	VERGLEICH ZWISCHEN ERRECHNETER UND AM ERWEITERTEN TESTMODELL GEMESSENER H ₂ O ₂ – KONZENTRATION.....	45
ABB. 7-11	H ₂ O ₂ – MESSPUNKTE MITTELS GASPRÜFRÖHRCHEN AM ERWEITERTEN TESTMODELL. DIE MESSUNGEN ERFOLGEN AM SYSTEMAUSGANG (SIEHE MARKIERUNG).	45
ABB. 7-12	H ₂ O ₂ – MESSPUNKTE MITTELS GASPRÜFRÖHRCHEN AN DER DDC – ANLAGE. DIE MESSUNGEN ERFOLGEN AM SYSTEMAUSGANG, DER RINGLEITUNG UND DEN STERILFILTERN (SIEHE MARKIERUNGEN).	46
ABB. 7-13	POSITIONIERUNG DER GASPRÜFRÖHRCHEN IM ROHRLEITUNGSSYSTEM (1) UND AM STERILFILTER (2).	46
ABB. 7-14	STRUKTUR DES EISEN (III) –XYLENOLORANGE – KOMPLEXES.	47
ABB. 7-15	FÜHRUNG DER PRÜFLUFT IM RAHMEN DER ADSORPTIONSUNTERSUCHUNG AM KUNSTSTOFFBEHÄLTER.....	48
ABB. 7-16	POSITIONEN DER BIOINDIKATOREN IM ERWEITERTEN TESTMODELL. DIE ZUORDNUNG DER ZIFFERN ENTSPRICHT DEN ANGABEN IN TAB. 7-6.	55
ABB. 7-17	POSITIONEN DER BIOINDIKATOREN AM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE. DIE ZUORDNUNG DER ZIFFERN ENTSPRICHT DEN ANGABEN IN TAB. 7-7.	56
ABB. 7-18	BIOINDIKATOR EXPONIERENDE EINHEIT VOM TYP 1.	57
ABB. 7-19	BIOINDIKATOR EXPONIERENDE EINHEIT VOM TYP 2.	57
ABB. 7-20	BIOINDIKATOR EXPONIERENDE EINHEIT VOM TYP 3.	58
ABB. 7-21	BI – HALTERUNG FÜR DIE ÜBERWACHUNG DER HILFSTANKS.	58
ABB. 7-22	BI – HALTERUNG FÜR DIE ÜBERWACHUNG DER VERTEILER. UM DIE BIOINDIKATOREN IM ENTWICKLUNGSISOLATOR ZENTRAL POSITIONIEREN ZU KÖNNEN, WERDEN DIESE AUF METALLDRAHT AUFGEFÄDELTE UND IN EINE PASSENDE HALTERUNG EINGEHÄNGT (SIEHE ABB. 7-23).	59
ABB. 7-23	POSITIONIERUNG DER BIOINDIKATOREN IM TESTISOLATOR.	59
ABB. 7-24	VERDÜNNUNGSREIHE ZUR BESTIMMUNG DER WIEDERFINDUNGSRATE.	61
ABB. 7-25	VERSUCHSANORDNUNG ZUR DICHTIGKEITSPRÜFUNG DES MESSKREISES.....	62

ABB. 8-1	POSITIONEN DER DATENLOGGER IN DER STERILISATIONSKAMMER K1.....	63
ABB. 8-2	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES DOPPELBEUTELSYSTEMS.	64
ABB. 8-3	PACKSCHEMA DER KUNSTSTOFFBEHÄLTER – PALETTEN WÄHREND DER STERILISATION IN EINEM GASSTERILISATOR.....	65
ABB. 8-4	PACKSCHEMA DER KUNSTSTOFFVERSCHLUSS – PALETTEN WÄHREND DER STERILISATION IN EINEM GASSTERILISATOR.....	65
ABB. 8-5	BIOINDIKATOR – POSITIONEN IN DER STERILISATIONSKAMMER K1.....	65
ABB. 8-6	PLATZIERUNG DER BIOINDIKATOREN IM SCHÜTTWERK.....	66
ABB. 8-7	POSITIONIERUNG DER BIOINDIKATOREN IN DEN ZWISCHENRÄUMEN VON KUNSTSTOFFBEHÄLTER (1) UND KUNSTSTOFFVERSCHLUSS (2).	66
ABB. 8-8	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES VERWENDETEN PROVOZIERENDEN PRÜFKÖRPERS.	68
ABB. 8-9	POSITIONEN DER UNTERSUCHTEN MERKMALE AM KUNSTSTOFFBEHÄLTER (1), KUNSTSTOFFVERSCHLUSS UND SILIKONDICHTUNG (2).....	69
ABB. 8-10	PRINZIPIELLER VERSUCHSAUFBAU ZUR BESTIMMUNG DER TROCKENKOLLABIERUNG.	69
ABB. 8-11	PRINZIPIELLER VERSUCHSAUFBAU ZUR BESTIMMUNG DER NASSKOLLABIERUNG. .	70
ABB. 8-12	DARSTELLUNG DES ABLAUFES DER VERSCHIEDENEN KRÄFTEMESSUNGEN: (1) SCHLIEßKRAFT (2) AXIALE STEIFIGKEIT (3) DURCHSTECKKRAFT.	70
ABB. 8-13	STRUKTURFORMELN DER REFERENZEXTRACTABLES AUS DEM KUNSTSTOFFBEHÄLTER UND DEM KUNSTSTOFFVERSCHLUSS.....	73
ABB. 8-14	HPLC – CHROMATOGRAMM DER EXTRAKTIONS-LÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER EXTRAHIERBAREN BESTANDTEILE DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS. .	74
ABB. 8-15	HPLC – CHROMATOGRAMM DER EXTRAKTIONS-LÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER EXTRAHIERBAREN BESTANDTEILE DES KUNSTSTOFFVERSCHLUSSES.....	75
ABB. 8-16	GC – CHROMATOGRAMM DER EXTRAKTIONS-LÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER EXTRAHIERBAREN BESTANDTEILE DER SILIKONDICHTUNG.....	75
ABB. 8-17	GRAFISCHE DARSTELLUNG DES VERSUCHSDESIGNS DER KOMPATIBILITÄTSSTUDIE	76
ABB. 8-18	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES AN IPRATROPIUMBROMID UND FENOTEROL IN DER INHALATIONSLÖSUNG A. IPRATROPIUMBROMID – KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG = 1,82 MG/ML. FENOTEROL – KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG = 4,5 MG/ML.....	80
ABB. 8-19	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER ZERSETZUNGSPRODUKTEN DER IN DER INHALATIONSLÖSUNG A ENTHALTENEN WIRKSTOFFE IPRATROPIUMBROMID UND FENOTEROL.	81
ABB. 8-20	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES AN IPRATROPIUMBROMID UND SALBUTAMOL IN DER INHALATIONSLÖSUNG B. IPRATROPIUMBROMID – KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG= 3,55 MG/ML. SALBUTAMOL – KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG 17,6 MG/ML.	82
ABB. 8-21	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER ZERSETZUNGSPRODUKTEN DER IN DER INHALATIONSLÖSUNG A ENTHALTENEN WIRKSTOFFE IPRATROPIUMBROMID UND SALBUTAMOL.....	83
ABB. 8-22	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES AN TIOTROPIUM IN DER INHALATIONSLÖSUNG C. TIOTROPIUM - KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG = 0,46 MG/ML.....	84

ABB. 8-23	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER ZERSETZUNGSPRODUKTEN DES IN DER INHALATIONS-LÖSUNG C ENTHALTENEN WIRKSTOFFES TIOTROPIUMBROMID.....	85
ABB. 8-24	HPLC – CHROMATOGRAMM DER PROBELÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES GEHALTES AN BENZALKONIUMCHLORID IN DER PLACEBOLÖSUNG. BENZALKONIUMCHLORID – KONZENTRATION DER PROBELÖSUNG = 0,1 MG/ML. ..	86
ABB. 8-25	GC – CHROMATOGRAMM DER KALIBRIERLÖSUNG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER LEACHABLES.	87
ABB. 8-26	POSITION DER DESORPTIONSMUSTER INNERHALB DER PACKSCHEMATA FÜR KUNSTSTOFFBEHÄLTER (1) UND KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSE (2).....	89
ABB. 8-27	ÜBERSICHT DER STERILISATIONSRÜCKSTÄNDE ETHYLENOXID, ETHYLENCHLORHYDRIN UND ETHYLENGLYKOL.	90
ABB. 8-28	SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINER BEI DER QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON ETHYLENOXID EINGESETZTEN HEADSPACE – FLASCHE [142].....	90
ABB. 8-29	GC – CHROMATOGRAMM DES WÄSSRIGEN MIGRATS ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES ETHYLENOXIDGEHALTES. DIE ETHYLENOXIDKONZENTRATION DES MIGRATS LIEGT BEI $\mu\text{G/ML}$	91
ABB. 8-30	GC – CHROMATOGRAMM DES WÄSSRIGEN MIGRATS ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES GEHALTES AN ETHYLENCHLORHYDRIN UND ETHYLENGLYKOL. DIE ETHYLENCHLORIDKONZENTRATION DES MIGRATS LIEGT BEI 9 $\mu\text{G/ML}$. DIE ETHYLENGLYKOLKONZENTRATION DES MIGRATS LIEGT BEI 13 $\mu\text{G/ML}$	91
ABB. 9-1	H_2O_2 – REFERENZZYKLUS IM ENTWICKLUNGSISOLATOR.....	93
ABB. 9-2	BERECHNETE D – WERTE \pm 95% KONFIDENZINTERVALL.	94
ABB. 9-3	DRUCKVERLAUF IM SCHLAUCHMODELL. ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 5 MIN; B = 10 MIN; INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M^3/H ..	96
ABB. 9-4	TEMPERATURVERLAUF IM SCHLAUCHMODELL. ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 5 MIN; B = 10 MIN; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M^3/H . ..	96
ABB. 9-5	FEUCHTEVERLAUF IM SCHLAUCHMODELL. ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 10 MIN; B = 10 MIN; INJEKTIONSRATE = 2,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M^3/H ..	97
ABB. 9-6	ABHÄNGIGKEIT ZWISCHEN DER RELATIVEN FEUCHTE IM SCHLAUCHMODELL UND INJEKTIONSRATEN VON 1 - 3,5 G/MIN AM VHP – GASGENERATOR.....	97
ABB. 9-7	ABHÄNGIGKEIT ZWISCHEN DER INJEKTIONSRATE AM VHP – GENERATOR UND DER H_2O_2 -GASKONZENTRATION IM SCHLAUCHMODELL.	98
ABB. 9-8	ÜBERLAGERUNG DER SPORENSUSPENSION (A.) UND SCHLAUCHVERSCHLUSS (B.).	99
ABB. 9-9	POSITIONIERUNG DER BIEE VOM TYP 1 IN DEN SCHLAUCHLEITUNGEN DES SCHLAUCHMODELLS.	100
ABB. 9-10	DRUCKVERLAUF IM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1 + 2). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 30 MIN; B = 40 MIN; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M^3/H	101
ABB. 9-11	TEMPERATURENTWICKLUNG IM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 2). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 20 MIN; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M^3/H	102
ABB. 9-12	OBERFLÄCHENTEMPERATUREN AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1); [MW \pm SD; N=3].	102
ABB. 9-13	OBERFLÄCHENTEMPERATUREN AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 2); [MW \pm SD; N=3].	103
ABB. 9-14	TEMPERATURPROFIL DES H_2O_2 – LUFTSTROMS INNERHALB DER ERWEITERTEN TESTMODELLS (PFAD 1); [MW \pm SD; N=3].	103
ABB. 9-15	TEMPERATURPROFIL DES H_2O_2 – LUFTSTROMS INNERHALB DES ERWEITERTEN TESTMODELLS (PFAD 2); [MW \pm SD N=3].....	104

ABB. 9-16	FEUCHTEVERLAUF IM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 20 MIN; INJEKTIONSRATE = 2,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.....	104
ABB. 9-17	FEUCHTEVERLAUF IM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 20 MIN; INJEKTIONSRATE = 2,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.....	105
ABB. 9-18	VERGLEICHSMESSUNG ZWISCHEN HYGROMETER M4 UND DEWPRO MMR 31 AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 10 MIN; B = 20 MIN INJEKTIONSRATE = 2,0 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H. .	105
ABB. 9-19	ANSTIEG DER RELATIVEN FEUCHTE WÄHREND DER BELÜFTUNGSPHASE AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 2). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 30 MIN INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H. .	106
ABB. 9-20	TEMPERATURABFALL WÄHREND DER BELÜFTUNGSPHASE AM STERILFILTER 1 AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 30 MIN INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.	106
ABB. 9-21	AUFTRETEN VON PUNKTUELLER OBERFLÄCHENKONDENSATION IN ABHÄNGIGKEIT VON DER INJEKTIONSRATE AN 30%IGER WÄSSRIGER WASSERSTOFFPEROXIDLÖSUNG.	107
ABB. 9-22	H ₂ O ₂ KONZENTRATION AM SYSTEMEINGANG DES ERWEITERTEN TESTMODELLS (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 30 MIN; B = 20 MIN, INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.	107
ABB. 9-23	H ₂ O ₂ KONZENTRATION AM SYSTEMAUSGANG DES ERWEITERTEN TESTMODELLS (PFAD 1); ZYKLUSPARAMETER: T = 20 MIN; S = 20 MIN; B = 20 MIN; INJEKTIONSRATE = 2,0 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.	108
ABB. 9-24	ADSORPTIONS - UND DESORPTIONSVERHALTEN VON POLYAMID -, POLYETHYLEN- UND POLYURETHANSCHLÄUCHEN AM ERWEITERTEN TESTMODELL (PFAD 1). ZYKLUSPARAMETER T = 20 MIN; S = 40 MIN; B = 100 MIN; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.	109
ABB. 9-25	POSITIONIERUNG DER BIEE IM SCHLAUCHSYSTEM DES ERWEITERTEN TESTMODELLS.	109
ABB. 9-26	GEGENÜBERSTELLUNG DER D - WERTE DES ENTWICKLUNGSISOLATORS UND DES ERWEITERTEN TESTMODELLS [MW± 95% KONFIDENZINTERVALL;N=3]......	110
ABB. 9-27	VERGLEICH DES RESISTENZVERHALTENS VON BIOINDIKATOREN MIT UND OHNE TYVEK® - HÜLLE (BI - CHARGE H0610; PFAD 1); [MW± 95% KONFIDENZINTERVALL;N=3].	110
ABB. 9-28	GEGENÜBERSTELLUNG DER D- WERTE FÜR PFAD 1 UND PFAD 2 [MW± 95%; KONFIDENZINTERVALL;N=3].	111
ABB. 9-29	ÜBERLEBENSKURVE FÜR DAS ERWEITERTE TESTMODELL (N ₀ = 1 X 10 ⁶ KBE; D - WERT = 1,7 MIN).	111
ABB. 9-30	VALIDIERTE ZYKLUSZEITEN AM ERWEITERTEN TESTMODELL; INJEKTIONSRATE 2,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE 20 M ³ /H.....	112
ABB. 9-31	ABHÄNGIGKEIT ZWISCHEN STRÖMUNGSRATEN VON 15 - 30 M ³ /H UND ERREICHTEM VAKUUM IN DER DDC - ANLAGE (PFAD 1).	113
ABB. 9-32	ABHÄNGIGKEIT ZWISCHEN STRÖMUNGSRATEN VON 15 - 30 M ³ /H UND ERREICHTEM VAKUUM IN DER DDC - ANLAGE (PFAD 2).	113
ABB. 9-33	ERGEBNISSE DER DURCHFLUSSMESSUNGEN IN DER DDC - ANLAGE (PFAD 1 + 2). 114	
ABB. 9-34	GEGENGERICHTETER „VENTURI - EFFEKT“ IM BEREICH DES EINLASS ZUR VERARBEITUNGSSTATION.	114
ABB. 9-35	TEMPERATURPROFIL DES H ₂ O ₂ - LUFTSTROMS IM STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE (PFAD 1); [MW±SD; N=3].	115
ABB. 9-36	TEMPERATURPROFIL DES H ₂ O ₂ - LUFTSTROMS IM STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE (PFAD 2); [MW±SD; N=3].	115

ABB. 9-37	FEUCHTEVERLAUF IM STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE (PFAD 1 UND 2). ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 140 MIN; B = 360 MIN; INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.	116
ABB. 9-38	SPOT - KONDENSATION INNERHALB DES STERILISATIONSMODULS DER DDC - ANLAGE; ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 25 MIN; B = 70 MIN; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.	116
ABB. 9-39	RESTFEUCHTE AUF DER FILTEROBERFLÄCHE.	117
ABB. 9-40	EINFLUSS DES FILTERTESTS AUF DIE TROCKNUNGSPHASE; RESTFEUCHTE INNERHALB DES FILTERGEHÄUSES VERHINDERT EINE EFFEKTIVE TROCKNUNG DER VERARBEITUNGSSTATION „DICHTIGKEITSPRÜFUNG“.	118
ABB. 9-41	H ₂ O ₂ KONZENTRATION INNERHALB DER RINGLEITUNG IM STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE; PFAD 1 + 2). ZYKLUSPARAMETER: T = 10 MIN; S = 140 MIN; B = 360 MIN, INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.	118
ABB. 9-42	ERGEBNISSE DER WORST - CASE STUDIE ZUR BEHÄLTERADSORPTION DURCHGEFÜHRT AM ERWEITERTEN TESTMODELL [MW; N=3]. ZYKLUSPARAMETER: T= 10 MIN; S = 140 MIN; A = 120; INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.....	119
ABB. 9-43	D - WERTE DER EINZELNEN VERARBEITUNGSSTATIONEN DER DDC - ANLAGEN (PFAD 1 UND PFAD 2) [MW; N=3; ±SD]. ZYKLUSPARAMETER: T= 10 MIN; S = 160 MIN; A = 360; INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.....	120
ABB. 9-44	GEGENÜBERSTELLUNG DER AN DEN VERSCHIEDENEN STERILISATION - EINRICHTUNGEN BEOBACHTETEN MITTLEREN D - WERTE UND DER BEOBACHTETEN DURCHSCHNITTlichen SYSTEMFEUCHTEN.	121
ABB. 9-45	ÜBERLEBENSKURVEN AM STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE.	121
ABB. 9-46	VALIDIERTE ZYKLUSZEITEN: STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE; INJEKTIONSRATE 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE 15 M ³ /H.....	122
ABB. 9-47	REM - AUFNAHMEN DER PRÜFFORMDICHTUNG AUS BUNA®: 1. UNBEHANDELT (500 µM), 2. UNBEHANDELT (5 µM), 3. GESTRESST (500 µM) UND 4. GESTRESST (5 µM). DIE PFEILE MARKIEREN DIE RISSE IN DER DICHTUNGSOBERFLÄCHE.	122
ABB. 9-48	REM - AUFNAHMEN DER VENTILSITZDICHTUNG AUS BUNA®: 1. UNBEHANDELT (1 MM), 2. UNBEHANDELT (500 µM), 3. GESTRESST (1 MM) UND 4. GESTRESST (500 µM). DER PFEIL MARKIERT DEN RISS IN DER DICHTUNGSBOHRUNG.....	123
ABB. 9-49	REM - AUFNAHMEN DER ZYLINDERDICHTUNG AUS BUNA®): 1. UNBEHANDELT (1 MM), 2. UNBEHANDELT (5 µM), 3. GESTRESST (1 MM) UND 4. GESTRESST (200 µM). DIE PFEILE MARKIEREN DIE ABLAGERUNGEN UND RISSE AUF BZW. IN DER DICHTUNGSOBERFLÄCHE.	123
ABB. 9-50	UNDICHTIGKEITEN EINZELNER PRÜFKREISE BEOBACHTET AN DEN VERARBEITUNGSSTATIONEN „DICHTIGKEITSPRÜFUNG“ (MW; N = 7); DIE ROTE LINIE ZEIGT DEN DIFFERENZDRUCK AN, AB DEM EIN PRÜFKREIS ALS UNDICHT CHARAKTERISIERT WIRD.	124
ABB. 9-51	REM - AUFNAHMEN DER BEHÄLTERDICHTUNG AUS SILIKON: 1. UNBEHANDELT (500 µM), 2. UNBEHANDELT (20 µM), 3. GESTRESST (500 µM) UND 4. GESTRESST (20 µM). DIE OBERFLÄCHEN LASSEN KEINE VERÄNDERUNGEN DURCH GASEINWIRKUNG ERKENNEN.	124
ABB. 9-52	SIMULIERTE ZYKLUSZEITEN: OPTIMIERTES STERILISATIONSMODUL DER DDC - ANLAGE	125
ABB. 10-1	VERGLEICH DER GESAMTHÖHE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW ± SD; N = 30].....	127
ABB. 10-2	VERGLEICH DER AUßENDURCHMESSER DES KANALS UNTERHALB DER DECKELPLATTE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW ± SD; N = 30].....	128
ABB. 10-3	VERGLEICH DER INNENDURCHMESSER DES KANALS AM AUSGANG VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW; N = 30].	128

ABB. 10-4	VERGLEICH DER INNENDURCHMESSER UNTERHALB DER DECKELPLATTE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW ± SD; N = 30].	128
ABB. 10-5	VERGLEICH DER DICKE DER DER SILIKONDICHTUNG VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW ± SD; N = 30].	129
ABB. 10-6	VERGLEICH DER GEWICHTE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN [MW; N = 30].	129
ABB. 10-7	VERGLEICH DER KRAGENHÖHE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN: [MW ± SD; N = 20].	129
ABB. 10-8	VERGLEICH DER SCHICHTDICKE DES INNENBEHÄLTERS VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN [MW ± SD; N = 20].	130
ABB. 10-9	VERGLEICH DER BEHÄLTERLÄNGE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN [MW ± SD; N = 20].	130
ABB. 10-10	VERGLEICH DER DURCHMESSER VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN [MW ± SD; N = 20].	130
ABB. 10-11	VERGLEICH DER GEWICHTE VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN [MW ± SD; N = 20].	131
ABB. 10-12	DIAGRAMM DES DRUCKVERLAUFS DER TROCKENKOLLABIERUNG FÜR UNBEHANDELTE UND ETHYLENOXIDSTERILISIERTE KUNSTSTOFFBEHÄLTER; [MW ± SD; N= 64]. BEIDE BEHÄLTERQUALITÄTEN ZEIGEN DEN GLEICHEN VERLAUF.	131
ABB. 10-13	DIAGRAMM DES DRUCKVERLAUFS DER NASSKOLLABIERUNG VON UNBEHANDELTEN UND ETHYLENOXIDSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN; [MW± SD; N= 684]. BEIDE BEHÄLTERQUALITÄTEN ZEIGEN DEN GLEICHEN VERLAUF.	132
ABB. 10-14	AUFSCHNAPPKRAFT GEMESSEN MIT UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN GEGEN KUNSTSTOFFBEHÄLTER UND METALLDUMMY (SIEHE KAP. 8.5.1); [MW ± SD; N = 10].	132
ABB. 10-15	DURCHSTECHKRÄFTE GEMESSEN MIT UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN; [MW ± SD; N = 10].	133
ABB. 10-16	AXIALE BEHÄLTERSTEIFIGKEIT GEMESSEN MIT UNBEHANDELTEN UND ETHYLENOXIDSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN; [MW ± SD; N = 10].	133
ABB. 10-17	KRAFT – WEG – DIAGRAMM DER AUFSCHNAPPKRÄFTE VON UNBEHANDELTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN (1) UND DAMPFSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN. DER IM VERGLEICH ZU DEN UNBEHANDELTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN ABWEICHENDE KURVENVERLAUF WÄHREND AUFSCHNAPPPHASE IST DURCH EINEN ROTEN RAHMEN GEKENNZEICHNET.	134
ABB. 10-18	BESCHÄDIGUNG DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS IN FOLGE DER ERHÖHTEN AUFSCHNAPPKRÄFTE BEI DER VERARBEITUNG VON DAMPFSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN.	134
ABB. 10-19	KRAFT – WEG- DIAGRAMM DER AUFSCHNAPPKRÄFTE VON STRAHLENSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN (1)UND PLASMASTERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN (2). DIE ROTEN RAHMEN MARKIEREN DEN IM VERGLEICH ZU DEN UNBEHANDELTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSEN ABWEICHENDEN KURVENVERLAUF (SIEHE ABB. 10-17).	135
ABB. 10-20	REM- AUFNAHMEN DES KUNSTSTOFFVERSCHLUSSES UND DER SILIKONDICHTUNG: (1) KUNSTSTOFFVERSCHLUSS (UNBEHANDELT); (2) SILIKONDICHTUNG (UNBEHANDELT); (3) KUNSTSTOFFVERSCHLUSS (ETHYLENOXIDSTERILISIERT); (4) SILIKONDICHTUNG (ETHYLENOXIDSTERILISIERT).	136
ABB. 10-21	REM- AUFNAHMEN DES KUNSTSTOFFVERSCHLUSSES UND DER SILIKONDICHTUNG: (1) KUNSTSTOFFVERSCHLUSS (DAMPFSTERILISIERT); (2) SILIKONDICHTUNG (DAMPFSTERILISIERT); (3) KUNSTSTOFFVERSCHLUSS (PLASMASTERILISIERT); (4) SILIKONDICHTUNG (PLASMASTERILISIERT). DER ROTE PFEIL KENNZEICHNET DEN BEREICH DER SCHNITTLAMELLEN.	136
ABB. 10-22	LICHTMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN DES INNENBAGS: (1) INNENBAG (UNBEHANDELT); (2) INNENBAG (DAMPFSTERILISIERT).	137

ABB. 10-23	ERGEBNIS DER AUFBEREITUNG VON UNBEHANDELTEN UND DAMPFSTERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTERN DURCH DIE DDC – ANLAGE.	137
ABB. 10-24	VERGLEICH DER HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DES MASSENVERLUSTES VON UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN BAUTEILEN; [N = 1000]. EIN MASSEVERLUST > 6 MG/TAG ENTSpricht EINEM FEINLECK. EIN MASSEVERLUST > 30 MG/TAG ENTSpricht EINEM GROBLECK.	138
ABB. 10-25	KONZENTRATION AN IRGANOX 1010 IM POLYPROPYLENVERSCHLUSS.	139
ABB. 10-26	KONZENTRATION AN IRGANOX 1010 UND IRGANOX 1010 – OH IM AUßEN- UND INNENBAG DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS	140
ABB. 10-27	KONZENTRATION AN POLYDIMETHYLSILOXANEN IM SILIKON – DICHRING.....	140
ABB. 10-28	ENTWICKLUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES VON IPRATROPIUM UND FENOTEROL IN DER INHALATIONSLÖSUNG A WÄHREND DER SECHSMONATIGEN STRESSLAGERUNG.	143
ABB. 10-29	ENTWICKLUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES VON IPRATROPIUM UND SALBUTAMOL IN DER INHALATIONSLÖSUNG B WÄHREND DER SECHSMONATIGEN STRESSLAGERUNG.	143
ABB. 10-30	ENTWICKLUNG DES WIRKSTOFFGEHALTES VON TIOTROPIUM IN DER INHALATIONSLÖSUNG C WÄHREND DER SECHSMONATIGEN STRESSLAGERUNG.	144
ABB. 10-31	SIMULIERTE ABTÖTUNGSKINETIKEN FÜR KUNSTSTOFFBEHÄLTER UND KUNSTSTOFFVERSCHLUSS IM STANDARDZYKLUS. DIE SIMULATION BASIERT AUF DEN ERGEBNISSEN DER KEIMZAHLBESTIMMUNG NACH EINSTÜNDIGER EINWIRKZEIT (SIEHE TAB. 10-15).....	149
ABB. 10-32	MAXIMALE ETHYLENOXIDKONZENTRATION IM PROVOZIERENDEN PRÜFKÖRPER DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS BEI UNTERSCHIEDLICHEN ETO – KONZENTRATIONEN INNERHALB DER STERILISIERKAMMER.	150
ABB. 10-33	PROZENTUALE VERTEILUNG DER ADSORBIERTEN ETHYLENOXIDMENGE BEIM KUNSTSTOFFVERSCHLUSS NACH VIERSTÜNDIGER BEAUFSCHLAGUNG MIT ETHYLENOXID.....	150
ABB. 10-34	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER SCHICHTDICKE DER PE – DIFFUSIONSMEMBRAN UND DER MAXIMALEN ETHYLENOXID KONZENTRATION IM PE – PRÜFKÖRPER. ETO – KONZENTRATION IN DER STERILISIERKAMMER LIEGT BEI 840 MG/L. DIE EINWIRKZEIT DES GASES BETRÄGT VIER STUNDEN.....	151
ABB. 10-35	DARSTELLUNG DESORPTIONSKINETIK DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS; [MW±SD; N = 3].	155
ABB. 10-36	DESORPTIONSKINETIK DES KUNSTSTOFFVERSCHLUSSES; [MW ± SD; N = 3]. ...	155
ABB. 12-1	FLIEBSHEMA DER DDC – ANLAGE.	160
ABB. 12-2	FLIEBSHEMA DES STERILISATIONSMODULS DER DDC – ANLAGE.	161
ABB. 12-3	R&I SCHEMA DES ERWEITERTEN TESTMODELLS.	162
ABB. 12-4	R&I SCHEMA DER VERARBEITUNGSSTATION ABLÖSEN.	163
ABB. 12-5	R&I SCHEMA DER VERARBEITUNGSSTATION VOLUMENKONTROLLE.....	164
ABB. 12-6	R&I SCHEMA DER VERARBEITUNGSSTATION DICHTIGKEITSPRÜFUNG.	165
ABB. 12-7	FLIEBSHEMA DES OPTIMIERTEN STERILISATIONSMODULS DER DDC – ANLAGE.	166

16 Tabellenverzeichnis

TAB. 1-1	ABKÜRZUNGEN	IV
TAB. 1-2	SYMBOLS	VI
TAB. 1-1	ANFORDERUNGEN AN EIN IDEALES STERILISATIONSVERFAHREN.	2
TAB. 3-1	EINTEILUNG DER STERILISATIONSVERFAHREN.....	8
TAB. 3-2	STANDARDBEDINGUNGEN DER REFERENZVERFAHREN	9
TAB. 3-3	RESTGASKONZENTRATIONEN FÜR ETHYLENOXID UND ETHYLENCHLORHYDRIN DEFINIERT VON DER EMEA.....	16
TAB. 4-1	TESTKEIME DES EUROPÄISCHEN UND AMERIKANISCHEN ARZNEIBUCHES.	18
TAB. 5-1	PARAMETER DES AMSCO VHP 1001 GENERATORS.	21
TAB. 5-2	ÜBERSICHT DER IM RAHMEN DER VERSUCHE AN DEN VERSCHIEDENEN STERILISATIONSEINRICHTUNGEN EINGESETZTEN SENSOREN.....	27
TAB. 5-3	KENNDATEN DER EINGESETZTEN BIOINDIKATOR-CHARGEN.	31
TAB. 5-4	SUBSTANZEN FÜR DIE PHOTOMETRISCHE H ₂ O ₂ KONZENTRATIONSBESTIMMUNG. .	32
TAB. 6-1	ÜBERSICHT DER IM RAHMEN DER VERSUCHE EINGESETZTEN STERILISATIONSKAMMERN.....	33
TAB. 6-2	KENNDATEN DER EINGESETZTEN BIOINDIKATOR-CHARGEN.	35
TAB. 6-3	ÜBERSICHT DER IN DEN UNTERSUCHTEN INHALATIONSLÖSUNGEN ENTHALTENEN WIRKSTOFFE.	37
TAB. 7-1	ÜBERSICHT DER DRUCKMESSPUNKTE IN DEN MODELLEN SOWIE DEM STERILISATIONSMODUL.....	39
TAB. 7-2	ÜBERSICHT DER TEMPERATURMESSPUNKTE AM ERWEITERTEN TESTMODELL.....	42
TAB. 7-3	ÜBERSICHT DER TEMPERATURMESSPUNKT AM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE.	43
TAB. 7-4	KORREKTURFAKTOR K FÜR GRUPPEN MIT N < 10.....	50
TAB. 7-5	BEISPIEL EINES „REACTIVE PATTERN“ (N ₀ = 2,1 X 10 ⁶ KBE).	51
TAB. 7-6	ÜBERSICHT DER POSITIONEN DER BIOINDIKATOREN IM ERWEITERTEN TESTMODELL.	55
TAB. 7-7	ÜBERSICHT DER POSITIONEN DER BIOINDIKATOREN IM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE.....	56
TAB. 7-8	ÜBERSICHT DER IN DER DDC – ANLAGE EINGESETZTEN DICHTUNGSMATERIALIEN.	61
TAB. 8-1	NORMATIVE MINDESTMENGE AN BIOINDIKATOREN FÜR DIE VERWENDETEN STERILISIERKAMMERN.....	67
TAB. 8-2	ÜBERSICHT DER UNTERSUCHTEN MERKMALE AM KUNSTSTOFFBEHÄLTER UND AM KUNSTSTOFFVERSCHLUSS.	68
TAB. 8-3	MESSPARAMETER ZUR BESTIMMUNG DER AUFSCHNAPPKRÄFTE.	71
TAB. 8-4	MESSPARAMETER ZUR BESTIMMUNG DER DURCHSTECHEKRÄFTE.....	71
TAB. 8-5	EINWAAGEN DER PACKMITTEL FÜR DIE ERSCHÖPFENDEN EXTRAKTIONEN.	72
TAB. 8-6	ÜBERSICHT DER EINGESETZTEN REFERENZSUBSTANZEN.	72
TAB. 8-7	ANGEWENDETE STERILISATIONSVERFAHREN UND DER PARAMETER.	77
TAB. 8-8	PH – WERTE DER INHALATIONSLÖSUNGEN.	77
TAB. 8-9	MENGENVERHÄLTNISSE ZWISCHEN DEN BAUTEILEN UND DEN INHALATIONSLÖSUNGEN.	78
TAB. 8-10	MENGENVERHÄLTNISSE BEI DER HERSTELLUNG DER REFERENZSUSPENSIONEN. ...	79
TAB. 8-11	ÜBERSICHT DER POTENTIELLEN LEACHABLES.	86

TAB. 9-1	ÜBERLEBENSRATE VERSCHIEDENER MIKROORGANISMEN IN ABHÄNGIGKEIT ZUR DAUER DER EINWIRKUNG VON GASFÖRMIGEN H ₂ O ₂ AUF VERSCHIEDENE MIKROORGANISMEN	92
TAB. 9-2	ERGEBNISSE DER KEIMZAHLBESTIMMUNG BEI VERSCHIEDENEN BIOINDIKATORCHARGEN.	92
TAB. 9-3	REPRÄSENTATIVE EIGENSCHAFTEN VON KOMMERZIELLEN BIOINDIKATOR SYSTEMEN.....	95
TAB. 9-4	ERGEBNISSE DER STERILISATIONSBLÄUFE 1 – 3 BEI DIREKTER BI – POSITIONIERUNG INNERHALB DER SCHLAUHLUMINA.	99
TAB. 9-5	ERGEBNIS DER EVALUIERUNG DER BELÜFTUNGSDAUER AM ERWEITERTEN TESTMODELL. ZYKLUSPARAMETER: T= 20 MIN; S = 30 MIN; A = 110; INJEKTIONSRATE = 3,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 20 M ³ /H.	108
TAB. 9-6	PHASENBEZOGENE FEUCHTEGRENZWERTE ZUR ÜBERWACHUNG DES STERILISATIONSPROZESSES AM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE. ..	117
TAB. 9-7	VALIDIERUNG DER BELÜFTUNGSDAUER IM STERILISATIONSMODUL DER DDC – ANLAGE. ZYKLUSPARAMETER: T= 10 MIN; S = 140 MIN; A = 360; INJEKTIONSRATE = 1,5 G/MIN; STRÖMUNGSRATE = 15 M ³ /H.....	119
TAB. 10-1	STERILISATIONSPARAMETER DES VON DER FA. ROSE VERWENDETEN STANDARD – HALBZYKLUS A 01.	126
TAB. 10-2	QUALITATIVE AUSWERTUNG DER BIOINDIKATOREN AUS STERILISATIONSBLAUFE 1 UND 2.....	127
TAB. 10-3	BEWERTUNG DER ERGEBNISSE AUS DER MATERIALPRÜFUNG	139
TAB. 10-4	FARBE DER PLACEBO – UND INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	141
TAB. 10-5	KLARHEIT DER PLACEBO – UND INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	142
TAB. 10-6	PH – WERT DER PLACEBO – UND INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	142
TAB. 10-7	WIRKSTOFFZERSETZUNG INNERHALB DER INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	144
TAB. 10-8	GEHALT AN BENZALKONIUMCHLORID IN DEN PLACEBO- UND INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	145
TAB. 10-9	GEHALT AN NATRIUMEDETAT IN DEN PLACEBO- UND INHALATIONSBLÖSUNGEN A BIS C (SIEHE KAP. 6.9) NACH STRESSLAGERUNG	145
TAB. 10-10	GEHALT AN LEACHABLES(SIEHE KAP. 8.9.13) IN DER PLACEBOBLÖSUNG NACH STRESSEINLAGERUNG	146
TAB. 10-11	ÜBERSICHT DER FÜR DIE DIFFUSIONSMEMBRAN IM PROVOZIERENDEN PRÜFKÖRPER VERWENDETE MATERIALIEN.	147
TAB. 10-12	ERGEBNISSE DES BI - WACHSTUMSTEST NACH ETHYLENOXIDSTERILISATION DER KUNSTSTOFFBAUTEILE IM HALBZYKLUS MIT ZWEISTÜNDIGER EINWIRKZEIT.	147
TAB. 10-13	ERGEBNISSE DES BI - WACHSTUMSTEST NACH ETHYLENOXIDSTERILISATION DER KUNSTSTOFFBEHÄLTER IM VOLLZYKLUS MIT VIERSTÜNDIGER EINWIRKZEIT.....	148
TAB. 10-14	ERGEBNISSE DES BI - WACHSTUMSTEST NACH ETHYLENOXIDSTERILISATION DER KUNSTSTOFFBEHÄLTER IM VOLLZYKLUS MIT VIERSTÜNDIGER EINWIRKZEIT UND UNTER AUSNUTZUNG DES „POST CYCLE“ - EFFEKTES. DIE BIOINDIKATOREN WERDEN IN PROVOZIERENDEN PRÜFKÖRPERN EINGEBRACHT. DIE PRÜFKÖRPER WERDEN ANTEILIG NACH STERILISATION BZW. NACHKONDITIONIERUNG ENTNOMMEN.	148

TAB. 10-15	ERGEBNISSE DER KEIMZAHLBESTIMMUNG NACH EINSTÜNDIGER ETHYLENOXIDSTERILISATION DER PROVOZIERENDE PRÜFKÖRPER DES KUNSTSTOFFVERSCHLUSSES UND DES KUNSTSTOFFBEHÄLTERS. DIE AUSGANGSKEIMZAHL DER EINGESETZTEN BIOINDIKATOREN LIEGT BEI $1,0 \times 10^6$ KBE.	149
TAB. 10-16	ERGEBNISSE DES BI - WACHSTUMSTEST NACH ETHYLENOXIDSTERILISATION DER KUNSTSTOFFBEHÄLTER IM STERILISATIONSZYKLUS MIT FÜNFSTÜNDIGER EINWIRKZEIT UND UNTER AUSNUTZUNG DES „POST CYCLE“ - EFFEKTES. ES WERDEN PROVOZIERENDE PRÜFKÖRPER MIT DIFFUSIONSMEMBRANEN UNTERSCHIEDLICHER SCHICHTDICKE EINGESETZT.	152
TAB. 10-17	STERILISATIONSPARAMETER DES FÜR DIE KUNSTSTOFFBEHÄLTER DEFINIERTEN HALBZYKLUS.	152
TAB. 10-18	ERGEBNIS DER PHYSIKALISCHEN LEISTUNGSBEURTEILUNG DES STERILISATIONSZYKLUS FÜR DIE KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSE.....	153
TAB. 10-19	ERGEBNIS DER MIKROBIOLOGISCHEN LEISTUNGSBEURTEILUNG DES STERILISATIONSZYKLUS FÜR DEN KUNSTSTOFFVERSCHLUSS; EINWIRKZEIT = 2 H; ETO - KONZ. = 500 MG/L; AUSGANGSKEIMZAHL DER EINGESETZTEN BIOINDIKATOREN = 1×10^6 KBE.	154
TAB. 11-1	GERÄTE.....	159
TAB. 13-1	REACTIVE PATTERN DER BI-CHARGE H1071. DER D-WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	167
TAB. 13-2	REACTIVE PATTERN DER BI-CHARGE H 3530. DER D-WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	167
TAB. 13-3	REACTIVE PATTERN DER BEIMPFTEN PE-TRÄGER. DER D-WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	167
TAB. 13-4	REACTIVE PATTERN DER ERSTEN VERSUCHSREIHE MIT BEIMPFTEN PU - TRÄGER. DER D-WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	168
TAB. 13-5	REACTIVE PATTERN DER BEIMPFTEN PE- TRÄGER. DER D-WERT WURDE MITTELS LSMCP BERECHNET.....	168
TAB. 13-6	REACTIVE PATTERN DER ZWEITEN VERSUCHSREIHE MIT BEIMPFTEN PU - TRÄGER. EIN D - WERT KANN NICHT BERECHNET WERDEN.....	168
TAB. 13-7	REACTIVE PATTERN DES SCHLAUCHMODELLS. EINGESETZT WURDE DIE BI - CHARGE H 1071. DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	169
TAB. 13-8	REACTIVE PATTERN DER BI - CHARGE H0610 (PFAD 1; OHNE TYVEK® - HÜLLE). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	169
TAB. 13-9	REACTIVE PATTERN DER BI - CHARGE H1071 (PFAD 1). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	170
TAB. 13-10	REACTIVE PATTERN DER BI - CHARGE H3530 (PFAD 1). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	170
TAB. 13-11	REACTIVE PATTERN DER BI - CHARGE H0610 (PFAD 2). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	170
TAB. 13-12	REACTIVE PATTERN DER BI - CHARGE H0610 (PFAD 1; MIT TYVEK® - HÜLLE). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	171
TAB. 13-13	REACTIVE PATTERN DER ABLÖSESTATIONEN (PFAD 1). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	172
TAB. 13-14	REACTIVE PATTERN DER VOLUMENKONTROLLSTATIONEN (PFAD 1). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	173
TAB. 13-15	REACTIVE PATTERN DER DICHTIGKEITSPRÜFSTATIONEN (PFAD 1). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	174
TAB. 13-16	REACTIVE PATTERN DER ABLÖSESTATIONEN (PFAD 2). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.....	175
TAB. 13-17	REACTIVE PATTERN DER VOLUMENKONTROLLSTATIONEN (PFAD 2). DER D - WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	176

TAB. 13-18	REACTIVE PATTERN DER DICHTIGKEITSPRÜFSTATIONEN (PFAD 2). DER D – WERT WURDE MITTELS LSKP BERECHNET.	177
TAB. 14-1	ABMESSUNGEN DER UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFVERSCHLÜSSE; [N = 30].	178
TAB. 14-2	ABMESSUNGEN DER UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTER; [N = 20].	179
TAB. 14-3	KOLLABIERVERHALTEN DER UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN KUNSTSTOFFBEHÄLTER.	179
TAB. 14-4	AUFSCHNAPPKRÄFTE, DURCHSTECKKRÄFTE UND AXIALE STEIFIGKEIT DER UNBEHANDELTEN UND STERILISIERTEN BAUTEILE; [N = 10]	180
TAB. 14-5	MASSENVERLUST IM LAGERTEST; [N = 1000].	181
TAB. 14-6	EXTRACTABLESGEHALT IM KUNSTSTOFFVERSCHLUSS.	181
TAB. 14-7	EXTRACTABLESGEHALT IM KUNSTSTOFFBEHÄLTER.	181
TAB. 14-8	WIRKSTOFFGEHALT DER INHALATIONSLÖSUNGEN A BIS C.	182

17 Gleichungsverzeichnis

FORM. 3-1	INAKTIVIERUNGSKINETIK VON MIRKOORGANISMEN (EXPONENTIALFUNKTION). ..	9
FORM. 3-2	INAKTIVIERUNGSKINETIK VON MIKROORGANISMEN (ÜBERLEBENSZEITMODELL).	9
FORM. 3-3	INAKTIVIERUNGSKINETIK VON MIKROORGANISMEN (LOGARITHMISCHE DARSTELLUNG).	10
FORM. 3-4	DEFINITION DER SURVIVAL TIME.	10
FORM. 3-5	DEFINITION DER KILL TIME.	10
FORM. 3-6	WAHRSCHEINLICHKEITSVERTEILUNG VON POSITIVEN UND NEGATIVEN RESULTATEN.	11
FORM. 3-7	WIRKSAMKEIT EINES STERILISATIONSVERFAHRENS.	11
FORM. 3-8	OXIDATION DER SH- GRUPPEN.	13
FORM. 5-1	FORMEL ZUR BERECHNUNG DER KAPAZITÄT.	27
FORM. 5-2	OXIDATIONSREAKTION AN DER MESSELEKTRODE.	29
FORM. 5-3	REDUKTIONSREAKTION AN DER BEZUGSELEKTRODE.	29
FORM. 5-4	FARBUMSCHLAGSREAKTION BEIM WASSERSTOFFPEROXID – GASPRÜFRÖHRCHEN DER FA. DRÄGER.	30
FORM. 7-1	REDOXREAKTION.	47
FORM. 7-2	KOMPLEXBILDUNGSREAKTION.	47
FORM. 7-3	MITTLERE EINWIRKZEIT BIS ZUR STERILITÄT (LSKP ABGESCHÄTZT).	49
FORM. 7-4	D – WERT (LSKP ABGESCHÄTZT).	50
FORM. 7-5	STANDARDABWEICHUNG VON USK.	50
FORM. 7-6	95 % KONFIDENZINTERVALL DES D – WERTES (LSKP ABGESCHÄTZT).	50
FORM. 7-7	95 % KONFIDENZINTERVALL DES D – WERTES (LSKP ABGESCHÄTZT) BEI $N < 10$. ..	50
FORM. 7-8	DURCHSCHNITTLICHE EINWIRKZEIT BIS ZUR STERILITÄT.	52
FORM. 7-9	ZWISCHENRECHNUNG FÜR DIE BERECHNUNG VON μ	52
FORM. 7-10	MITTLERER D – WERT (HSKP ABGESCHÄTZT).	52
FORM. 7-11	95% KONFIDENZINTERVALL DES D – WERTES (HSKP ABGESCHÄTZT).	53
FORM. 7-12	BERECHNUNG DER VARIANZ.	53
FORM. 7-13	ZWISCHENRECHNUNG ZUR BERECHNUNG DER VARIANZ.	53
FORM. 7-14	D – WERT (LSMCP ABGESCHÄTZT).	53
FORM. 7-15	ZWISCHENRECHNUNG FÜR DIE BERECHNUNG DES KONFIDENZINTERVALLS.	53
FORM. 7-16	95 %IGER KONFIDENZINTERVALL DES D-WERTES (LSMCP ABGESCHÄTZT).	54
FORM. 7-17	VORAUSSETZUNG FÜR DIE BERECHNUNG DES 95 %IGEN KONFIDENZINTERVALLS.	54
FORM. 7-18	BERECHNUNG DER SPORENAHL PRO TRÄGER.	60
FORM. 7-19	BERECHNUNG DER PROZENTUALEN WIEDERFINDUNGSRATE.	60
FORM. 10-1	ETHOXYLIERUNGSREAKTION (33) UND BILDUNG VON ETHYLENGLYKOL (33) UND (34)	146

18 Literaturverzeichnis

- [1] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, Dosage forms / Parenteral Preparations, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [2] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, Dosage forms / Eye Preparations, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [3] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, Dosage forms / Preparations for Irrigation, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [4] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, Dosage forms / Liquid Preparation for Cutaneous Application / Semi-Solid Preparations for Cutaneous Application / Powder, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [5] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Sterility requirements for inhalation solution drug products, Federal Register, Vol. 62, No. 184, § 200.51, (1997)
- [6] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Nasal Spray and Inhalation Solution, Suspension, and Spray Drug Products, Guidance for Industry, (2002)
- [7] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, <5.1.1.> Methods of Preparation of Sterile Products, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [8] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Committee for Proprietary Products: Note for Guidance on Manufacture of the Finished Dosage Form, London, (1996)
- [9] Deutsches Arzneibuch: 10. Auflage IX.1 Sterilisationsmethoden, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, (1991)
- [10] European Pharmacopoeia: 4th edition 2002, <2.6.1 Sterility>, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [11] U.S. Pharmacopoeia: USP 27, <1211> Sterilization and Sterility Assurance of Compendial Articles, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD, (2003)
- [12] Haberer, K.: Kommentar zur PH.EUR. 1997, <5.1.1> Methoden zur Herstellung steriler Zubereitungen, 10 Lieferung, (1999)
- [13] Hrsg. Auterhoff, G.: EG – Leitfaden einer Guten Herstellpraxis für Arzneimittel, Editio – Cantor – Verlag, (1998)
- [14] Sordellini, P. J., Lang, M.: Investigating and Preventing BI Sterility Failures, Medical Device & Diagnostic Industry Magazine, August, 78, (1996)
- [15] Europäische Komitee für Normung: EN 556 „Sterilisation von Medizinprodukten – Anforderungen für in der Endverpackung zu sterilisierende Medizinprodukte, die als „Steril“ gekennzeichnet werden, Brüssel, (1994)
- [16] Schneider, P.M.: Low-temperature sterilization alternatives in the 1990s, Tappi Journal, 115-119, (1994)
- [17] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Committee for Proprietary Products: Note for Guidance on Parametric Release, London, (2001)
- [18] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Committee for Proprietary Products: Decision Trees for the Selection of Sterilisation Methods – Annex to Note for Guidance on Development Pharmaceuticals, London, (2000)

- [19] Wallhäußer, K.H.: Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, 5. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York, 297, (1995)
- [20] Spicher, G.: Möglichkeiten und Grenzen der Sterilisation mit Gasen und ionisierenden Strahlen im Vergleich mit den klassischen Sterilisationsverfahren, Pharma Technologie Journal Nr. 4, Concept Heidelberg, 50 - 56, (1990)
- [21] United Nations Organization, United Nations Environment Programme: Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, Montreal, (1987)
- [22] Berklan, J.: For sterilization, EtO holding line, Healthcare Purchasing News, March, (2000)
- [23] Scholla, M.; Wells M.: Tracking Trends in Industrial Sterilization, Medical Device & Diagnostic Industry Magazine, September, 92, (1997)
- [24] Europäische Komitee für Normung: EN 550 „Sterilisation von Medizinprodukten – Validierung und Routineüberwachung für die Sterilisation mit Ethylenoxid“, Brüssel, (1994)
- [25] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG: <http://www.respimat.com>, Eintrag Stand 01.07.2004
- [26] Grützmann, R.; Schmidt, P.C.: Pulverinhalatoren und Dosieraerosole richtig anwenden, Pharmazeutische Zeitung., Nr. 24, 16 – 23, Juni, (2004)
- [27] Schlenger, R.: Inhalatoren und Aerosoltherapie, Deutsche Apotheker Zeitung, Nr. 23, 39 -46, Juni, (2004)
- [28] Martindale – The Extra Pharmacopoeia: Thirty first Edition, Ethylene Oxide (2244-b), The Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, London, (1996)
- [29] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics, Guidance for Industry, (1999)
- [30] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Committee for Proprietary Products: Guideline On Plastic Primary Packaging Materials, London, (2004)
- [31] Voigt, R.: Pharmazeutische Technologie, 9. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 549, (2000)
- [32] Koppensteiner, G.: Die Anwendung von Kaltsterilisationsverfahren bei der Herstellung von Arzneimitteln und Medizinprodukten, Pharma Technologie Journal Nr. 5, Concept Heidelberg, 3 - 6, (1985)
- [33] Parenteral Drug Association, Inc.: Validation of Dry Heat Processes Used for Sterilization and Depyrogenation, PDA Technical Report, No. 3, (1981)
- [34] Sigwarth, V.; Mirandat, C: Development and Qualification of H₂O₂ Decontamination Cycles, PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology, Vol. 54, 286 – 304, (2000)
- [35] Bliem, R.; Nowak W. G.: Inaktivierung von Mikroorganismen durch Sterilisation, Desinfektion oder Pasteurisierung, Pharm. Ind., 66, Nr. 4, 470-477, (2004)
- [36] Shirtz, J.,: F, D, and Z Values, in Validation of Pharmaceutical Processes – Sterile Products, Second Edition, Marcel Dekker Verlag, New York, 381 – 411, (1998)
- [37] Shinto, H.; Tahiti T.; Hatakeyama K., Takahashi M. Ishii K., Hayashi H., Comparison of D₁₀-Value by the Limited Spearman – Karber Procedure (LSKP), the Stumbo – Murphy – Cochran Procedure (SMCP), and the Survival – Curve Method (EN), Biomedical Instrumentation & Technology, March/April, 113 – 124, (1995)

- [38] Holcomb, R.G.; Pflug I.J.: The Spearman-Kärber method of Analyzing Quantal Assay Microbial Destruction Data, Selected Papers on the Microbiology and Engineering of Sterilization Processes, Environmental Sterilization Laboratory, Minneapolis, 83-100, (1988)
- [39] Pflug, I.J.: Sterilization of Space Hardware, Environmental Biology and Medicine, Vol. 1, 63-81, (1971)
- [40] Europäische Komitee für Normung: EN ISO 14161 - Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge - Leitfaden für die Auswahl, Verwendung und Interpretation von Ergebnissen, Brüssel, (2000)
- [41] Manzati C.: Sterilizzazione con perossido di idrogeno in fase gassosa: una nuova tecnologia a disposizione dell'industria farmaceutica, Boll. Chim. Farmaceutico, 413-430, (1995)
- [42] United States Environmental Protection Agency, Vaporized Hydrogen Peroxide, http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals/vhp_factsheet.htm, Eintrag Stand 05.09.2004
- [43] Weiße, T.: VHP® Sterilisationstechnologie für unterschiedlichste Anwendungen in Pharmaindustrie und Gesundheitswesen, Tettmanger Pharma Symposium, (2001)
- [44] Lauth, G.: Bio-Dekontamination mit Wasserstoffperoxid aus der Sicht des Geräteherstellers, Process, 2, 36-38, (2002)
- [45] Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Sterilisation von Oberflächen unter Einsatz von Wasserstoffperoxid in der Dampfphase; Pharm. Ind. 63, 11, 1191 - 1196, (2001)
- [46] Bässler, H. J.: Die Biodekontamination von Isolatoren in der pharmazeutischen Produktion mit Wasserstoffperoxid - Dampf in niedriger Konzentration, Swiss Pharma 17, 10, 5 - 12, (1995)
- [47] Lauth G.: H₂O₂ aus Sicht des Begasungsherstellers, Concept Heidelberg Seminar: H₂O₂-Sterilisation - gasförmige Sterilisationsverfahren in der pharmazeutischen Industrie, Mannheim, (2001)
- [48] Rickloff, J. R.: Key Aspects of Validating Hydrogen Peroxide Gas Cycles in Isolators Systems, Journal of Validation Technology, 61-71, (1998)
- [49] Schneider, C: H₂O₂-Sterilisation von Isolatoren und Anlagenteilen zur Herstellung von Parenteralia , Concept Heidelberg Seminar: H₂O₂-Sterilisation - gasförmige Sterilisationsverfahren in der pharmazeutischen Industrie, Mannheim, (2001)
- [50] M. Jahnke, G. Lauth: Biodekontamination eines großvolumigen Abfüllraumes mit Wasserstoffperoxid, Pharm. Ind. 58, 1037 - 1042, (1996)
- [51] Werner, U. J.: H₂O₂ - Sterilisation / DDC - Wilcomat, Respimat Symposium der Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Heidesheim, (1999)
- [52] Kudernatsch, Heinz,ACHEMA 2000 Teil I „Injektabilia, Liquida, Wasseraufbereitung, Herstellenanlagen, Abfülltechnik, Reinraumtechnik, Pharm. Ind. 62, 627, (2000)
- [53] Groß, Ralph: H₂O₂-Dampfsterilisation im Vakuum, ein alternatives Verfahren zur Sterilisation von pharmazeutischen Anlagen und Materialien; Tettmanger Pharma Symposium, (2001)
- [54] Johnson, J. W.; Arnold, J. F.; Nail, S. L. ; Renzi, E.: Vaporized Hydrogen Peroxide Sterilization of Freeze Dryers, Journal of Parenteral Science & Technology Vol. 46, No. 6, November - December, 215 -225, (1992)

- [55] Riedesel, H., Bio – Dekontamination mit gasförmigem Wasserstoffperoxid in der Versuchstierhaltung – praktische Erfahrungen, Concept Seminar: H₂O₂-Sterilisation - gasförmige Sterilisationsverfahren in der pharmazeutischen Industrie, Mannheim, (2001)
- [56] Engelhard P: Einsatz von Wasserstoffperoxid in der Lebensmittelindustrie – Stand der Technik und neue Entwicklungen, Tettmanger Pharma Symposium, (2003)
- [57] Rickloff, J.R.; Orelski P.A.: Resistance of various microorganisms to vaporized hydrogen peroxide in a prototype table top sterilizer, 89th Annual Meeting of the American Society for Microbiology, (1989)
- [58] Alfa, M.J.; DeGagne P.; Olson N.; Puchalski T.: Comparison of ion plasma, vaporized hydrogen peroxide, and 100% ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer, Inspection control and hospital epidemiology, 2, 92-100, (1996)
- [59] Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.: Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update, FEBS Letters, 307 (1), 108 – 112, (1992)
- [60] European Pharmacopoeia, 3rd edition 1997, <396> Hydrogenii peroxidum 30 per centum, <395> Hydrogenii peroxidum 3 per centum, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (1996)
- [61] Technische Regel für Gefahrstoffe, TRGS 900 – Grenzwerte in der Luft am Arbeitsplatz „Luftgrenzwerte“, Oktober, (2000)
- [62] Nobis, U.: Schlagartige katalytische Zersetzung von Wasserstoffperoxid, Process, Nr. 11, (1998)
- [63] Gefahrstoffverordnung, § 3 Abs. 5, BGB1. I, (1999)
- [64] Heckert R. A.; Best M.; Jordan L. T, Dulas G. C., Eddington D. L. and Sterrit, W. G.: Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses, Applied And Environmental Microbiology, October, 3916-3918, (1997)
- [65] Pfeiffer, M., Validierung von Sterilisationsverfahren mit Ethylenoxid, Concept Heidelberg Seminar – Gasförmige Sterilisations- und Dekontaminationsverfahren, Darmstadt, (1996)
- [66] Simmons, A.: Sterilisation of Medical Devices, Business Briefing: Medical Device Manufacturing & Technology, (2004]
- [67] Sucker, H.; Fuchs, P. und Speiser, P.: Pharmazeutische Technologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Stuttgart, 227, (1978).
- [68] Universitätsklinikum Ulm: Hygieneplan des Universitätsklinikums Ulm / Begriffserklärungen / Sterilisation / Gassterilisation / Ethylenoxid – Sterilisation, <http://www.uni-ulm.de/klinik/imi/mikrobio/hygiene/Beginn.html>, Eintrag Stand 26.06.2004
- [69] Schuster, J.: Validierung von Sterilisationsverfahren mit Ethylenoxid, Concept Symposium – Kaltsterilisationsverfahren, Bad Nauheim, (1985)
- [70] Schuster J.: Die Praxis der betrieblichen Ethylenoxidsterilisation und Versuche zu ihrer Optimierung, Concept Symposium – „Sterilisation mit Gasen und Strahlen“, Karlsruhe, (1990)
- [71] Bekus, D. F.,: Validation of Gas Sterilization, in Validation of Pharmaceutical Processes – Sterile Products, Second Edition, Marcel Dekker Verlag, New York, 527 – 539, (1998)

- [72] Koppensteiner, G; Pfeiffer, M.: Sterilisationsverfahren und deren kunststoffgerechte Anwendung. In: Planck, H. (Hrsg.): Kunststoffe und Elastomere in der Medizin, Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart, Berlin, Köln, 355 - 371 (1993)
- [73] BGA: Empfehlung zur Verwendung von Ethylenoxid, Bundesgesundheitsblatt, 29, (1986)
- [74] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – Committee for Proprietary Products: Note for Guidance on Limitation to the Use of Ethylene Oxide in the Manufacture of Medicinal Products, London, 353 – 380, (2001)
- [75] Leahy, T. J.; Roche, K. L.; Christopher, M. R.: Microbiology of sterilization Processes, in Validation of Pharmaceutical Processes – Sterile Products, Second Edition, Marcel Dekker Verlag, New York, (1998)
- [76] Umweltlexikon-Online, Ethylenoxid, <http://www.umweltlexikon-online.de>, Eintrag Stand 11.03.2003
- [77] Gefahrstoffverordnung, § 3 Abs. 7, BGB1. I, (1999)
- [78] Haberer, K.: Biological Indicators: Standards and Pharmacopoeial Requirements, European Conference – Use of Bioindicators in Europe; Underestimated Tools of Validation?, Kopenhagen, (2002)
- [79] Seyfarth, H. und Häusler, H.: Qualitätskontrolle von Bioindikatoren, Pharm. Ind. 58, 1023-1029, (1996)
- [80] Haberer, K.: Use and Evaluation of Biological Indicators, European Conference – Use of Bioindicators in Europe; Underestimated Tools of Validation?, Kopenhagen, (2002)
- [81] Sigwarth, V.: Eignung von Bioindikatoren für die H₂O₂ Dekontamination, Tettmanger Pharma Symposium, (2003)
- [82] European Pharmacopoeia, 4th edition, 5.1.2 Biological Indicators for Sterilisation, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [83] U.S. Pharmacopoeia, USP 27, <1035> Biological Indicators for sterilization, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, (2003)
- [84] Koch, R.: Dichtheitsprüfanlagen zur integralen Messung an trocken oder flüssig befüllten Gebinden, Pharmazeutische Industrie 63, Nr. 10, 1104 – 1108; (2001)
- [85] Steris Corporation, VHP® 1001 VHP® M 1000 Bio – Dekontaminationssysteme, Technische Beschreibung, Mentor OH 44060-1834, USA
- [86] Grignol, G.; Eddington D., Karle, D. and Rickloff, J.: Chemical and biological aspects of hydrogen peroxide gas, Proceedings of the ISPE Barrier Isolation Technology Conference, (2000)
- [87] Piab Vakuum GmbH, Piab Classic Vakuumpumpe, Technisches Datenblatt, Friedberg, Deutschland
- [88] Technetics, Druckmessung mit Edelstahlsensoren der Serie PE; Technisches Datenblatt, Freiburg, Deutschland
- [89] Erweka GmbH, Digitaler Durchflussmesser DFM, Technische Angaben, Düsseldorf, Deutschland
- [90] Gascha H., Physik – Formeln & Gesetze, Buch und Zeit Verlagsgesellschaft mbH, Köln, (2000)

- [91] General Eastern, Dewpro MMR 31, Technisches Datenblatt, Haan, Deutschland
- [92] General Eastern, Hygromer Model M4 / Sensor SIM-12H, Technisches Datenblatt, Haan, Deutschland
- [93] Schröter W.; Lautenschläger K.-H.; Bibrack H.: Taschenbuch der Chemie, 14. Auflage, Verlag Harri Deutsch, Thun und Frankfurt/M, (1990)
- [94] Kaye Instruments GmbH, Thermoelement Typ T Premium, Technisches Datenblatt, Pforzheim, Deutschland
- [95] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG / A USI, Kalibrierprotokoll Thermoelement Typ T/ Eurotherm – Schreiber, Ingelheim, Deutschland
- [96] Testo AG, Testo 950 - Oberflächenfühler mit federndem Thermoelementband, Technisches Datenblatt, Lenzkirch, Deutschland
- [97] European Pharmacopoeia, 4th edition, 2.6.1 Sterility, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [98] U.S. Pharmacopoeia, USP 24, <71> Sterility Tests, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, (2000)
- [99] European Pharmacopoeia, 4th edition, 396 Hydrogenii peroxidum 30 per centum, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [100] Boddenberg, A.: Entwicklung neuer Nachsäulenreaktionssysteme zur UV/VIS – Detektion von Hydroperoxiden in der HPLC, Dissertation an der Bergischen Universität – Gesamthochschule Wuppertal im Fachbereich Chemie, Wuppertal, (1998)
- [101] F.&M. Lautenschläger, Wissenswertes über die Dampfsterilisation im Gesundheitswesen, 6. Auflage, Köln, (1997)
- [102] Geiss, H.K.; Heid, H.; Hirth, R. und Sonntag, H.G.: Plasmasterilisation – ein alternatives Niedertemperatur-Sterilisationsverfahren, 2. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene, Erfurt, (1993)
- [103] Jacobs, P. T.: Sterrad 100S Sterilization System, Irvine CA 92618, USA, (1999)
- [104] Advanced Sterilization Products, Sterrad 100S Sterilization System, Technisches Datenblatt, Irvine CA 92618, USA (2000)
- [105] Spry, C.: Low – Temperature Sterilization, Infection Control Today, 5, (2001)
- [106] Peter, K.H.: Anwendung der Strahlensterilisation bei der Herstellung medizinischer Artikel, Pharma Technologie Journal Nr. 5, Concept Heidelberg, 13 - 16, (1985)
- [107] Bernkopf, M.: Bestrahlungsanlage und Bestrahlungsverfahren, Fa. Rüsck, Kernen, (2002)
- [108] Jaeger, S.: Technologie der industriellen Sterilisation mit ionisierenden Strahlen, Pharma Technologie Journal Nr. 5, Concept Heidelberg, 7 - 12, (1985)
- [109] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Herstellvorschrift B 0931-10-2, Ingelheim, (2002)
- [110] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Herstellvorschrift B 0011-07-01, Ingelheim, (2002)
- [111] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Herstellvorschrift B 2007-09-02, Ingelheim, (2002)
- [112] Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer – Korting, M.: Mutschler Arzneimittelwirkungen, 8. Auflage, Wiss. Verl. – Ges., Stuttgart, (2001)

- [113] Wittich, M.; Doriath C.: Measured Value vs. Flow Rate, Fa. Draeger, (1998)
- [114] Steris Corporation, Amsco® VHP™ 1000 Biodecontamination System – Cycle Development Guide, Rev. 1, Mentor OH 44060-1834, USA, (1998)
- [115] Steris Corporation, Validation Manual – VHP 1000 Biodekontaminationsystem, Mentor OH 44060-1834, USA, (1998)
- [116] Gupta B. L., Microdetermination techniques for H₂O₂ in irradiated solutions, Microchemical Journal, 18, (1973)
- [117] Michaels H. B.; Hunt J. W.: Determination of peroxides and hydroperoxides in irradiated solutions of nucleic acid constituents and DNA, Anal. Biochem., 87, (1978)
- [118] Kaufhold; Minke; Troll: Seminar der quantitativen chemischen Analytik II, 2. Auflage, Fachschaft Pharmazie an der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt a. M., Frankfurt
- [119] Europäisches Komitee für Normung, EN ISO 14161 - Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge – Biologische Indikatoren – Leitfaden für die Auswahl, Verwendung und Interpretation von Ergebnissen, Brüssel, (2000)
- [120] International Organization for Standardization, ISO 11138-1 „Sterilization of health care products – Biological Indicators – Part 1: General“, Genf, (1994)
- [121] U.S. Pharmacopoeia, USP 27, <55> Biological Indicators – Resistance Performance Tests, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, (2003)
- [122] Puhani, J.: Statistik – Einführung mit praktischen Beispielen, 9. Auflage, Lexika Verlag, Krick Fachmedien GmbH + Co. KG, Würzburg, (2001)
- [123] Skan AG, Verfahrensweisung, Mikrobiologische Absterbekinetik – Grundlagen zu Abschätzung, Allschwill, (2002)
- [124] U.S. Pharmacopoeia: USP 27, <55> Biological Indicators – Resistance Performance Test – Total Viable Spore Count, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, (2003)
- [125] U.S. Pharmacopoeia: USP 27, <55> Biological Indicators – Resistance Performance Test – Recovery, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD (2003)
- [126] Römpp Lexikon Chemie – Version 2.0, Georg Thieme Verlag; Stuttgart / New York, (1999)
- [127] U.S. Pharmacopoeia: USP 27, <55> Biological Indicators – Resistance Performance Test – Recovery, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD (2003)
- [128] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Arbeitanweisung Bestimmung des Masseverlustes von RespiMAT – Kartuschen im Lagertest, Ingelheim, (2002)
- [129] Affolter, S.; Ritter A.; Schmid M.: Langzeitbeständigkeit von Kunststoffen – chemisch analytisch erfasst,
http://www.skz.de/DEU/pdfs/Beitrag/Alterung_SKZ_2005_Textversion.pdf,
Eintrag Stand 23.07.2006
- [130] Fay, J.J.; Fagouri C.: Additive Advances, Tappi 2003 Place Conference and Global Hot Melts Symposium, (2003)
- [131] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 0000470 – 008C - 01, Ingelheim, (2002)

- [132] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 154 0107 999 - 04, Ingelheim, (2002)
- [133] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 154 0107 999 - 03, Ingelheim, (2002)
- [134] Rücker, G; Neugebauer, M., Willems, G.G.: Instrumentelle pharmazeutische Analytik, 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, (1992)
- [135] Schmelzer C.: Standard – Programm zur Kompatibilitätsprüfung mit Packmitteln und Gerätebestandteilen, Entwicklungsrichtlinie der Abteilung Drug Deliver der Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Ingelheim, (1997)
- [136] Schmelzer C.: Materialauswahl bei Packmitteln und Devicebauteilen nur mit Kompatibilitätsprüfung, Präsentation der Abteilung Drug Deliver der Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Ingelheim, (2002)
- [137] European Pharmacopoeia, 4th edition 2002, 2.2.2. Degree of Coloration of Liquids, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [138] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 151 0395 999 02, Ingelheim, (2002)
- [139] European Pharmacopoeia, 4th edition 2002, 2.2.1. Clarity and Opalescence of Liquids, Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, (2001)
- [140] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 0000626 – 001 - 01, Ingelheim, (2002)
- [141] Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co KG, Prüfungsvorschrift 152 0231 999 03, Ingelheim, (2002)
- [142] Nowak M., ADD Report 050 – Compatibility of Inhalation Solutions with sterilised plastic caps including sealing ring, Boehringer Ingelheim Report Study ADD 050, Ingelheim, (2002)
- [143] International Organization for Standardization, ISO 10993-7.3 - Biological evaluation of medical devices – Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals, Genf, (1995)
- [144] Institut Fresenius Chemische und Biologische Laboratorien AG, SOP M 192.6 Bestimmung von Ethylenoxid – Sterilisationsrückständen in Medizinprodukten, Taunusstein, (2002)
- [145] Sigwarth, V.; Stärk A.: Effect of Carrier Materials on the Resistance of Spores of *Bacillus stearothermophilus* to Gaseous Hydrogen Peroxide, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 57, 3-11, (2003)
- [146] Seyfarth, H.; Häusler, H.: Qualitätskontrolle von Bioindikatoren, Pharm. Ind. 58, 11, 1023 – 1029, (2001)
- [147] Lewerenz, P.; Ruepp, J.; Huber, T.; Burmeister, J.; Versuche am Schlauchmodell, Ingelheim, Zwischenbericht der Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim, (1999)
- [148] Werner, U.: Teststerilisation von DDC – Wilcomat – Prüfsystemen mit gasförmigem Wasserstoffperoxid, Versuchsbericht der Fa. Diessel, Wohlen, (1998)
- [149] Mau, T.; Hartmann V.; Burmeister J.; Langguth, P.; Häusler, H.: Development of a Sterilize In Place Application for a Production Machine Using Vaporized Hydrogen Peroxide, Pharmaceutical Science and Technology, 58, 130 – 146, (2004)

- [150] Booth, A. F.: Sterilization Validation of an Isolator System, Medical Device & Diagnostic Industry Magazine, May, (1999)
- [151] Hunter, D.: Water Intrusion Test – Testing Methodology; Technical Information Sheet; Durham, (2002)
- [152] Sigwarth, V.: H₂O₂ Decontamination at Skan AG – Basis Development to Routine Application, Skan Meeting, Switzerland, (2002)
- [153] Haas, P. J.: Engineering Design Considerations for Barrier Isolation Systems, Pharmaceutical Technology, Februar, 26 – 38, (1995)
- [154] Geser, J; Gleissner S.; Welzel S.: - ETO – Sterilisierungsversuch – Messung Aufschnappräfte und axiale Steifigkeit, Trocken- und Nasskolabierung, Boehringer Ingelheim Versuch: E 10-0242, Ingelheim, (2002)
- [155] Kladders, H.; Gleissner S.: Messungen Durchstech- und Schliesskräfte von Kunststoffverschlüssen - Original, Plasmasterilisierte, Dampfsterilisierte, Ethylenoxidsterilisierte, Boehringer Ingelheim Versuch: E 10-0009, Ingelheim, (2000)
- [156] Heller, K.; Geib, B.; Waffenschmidt, J; Niebergall, P.: Ergebnisbericht zur Kompatibilitätsprüfung zwischen dem ethylenoxidsterilisierten Respimat®-Kunststoffbehälter und den Respimat®-Zubereitungen, Boehringer Ingelheim Ergebnisbericht 50.4.1, Ingelheim, (2003)
- [157] Steinführer, T.; Donath, B.: Untersuchung Leachables aus Alternativ – PP, Untersuchung des Boehringer Ingelheim Labors AD 11, Ingelheim, (2002)
- [158] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Ethylene Oxide, Ethylene Chlorhydrin, and Ethylene Glycol – Proposed Maximum Residue Limits and maximum Levels of Exposure, Federal Register, Vol. 43, No. 122, § 211.70 and § 821.100, Juni, (1997)
- [159] Jung, D.; Koch, M.: Extractables – Untersuchung des Respimat Kunststoffbehälters, Boehringer – Ingelheim Project PHNFF_Respimat_TMAU_030502, Ingelheim, (2002)

Veröffentlichungen

Artikel

1. Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Sterilisation von Oberflächen unter Einsatz von Wasserstoffperoxid in der Dampfphase; Pharm. Ind. 63, 11, 1191 - 1196 (2001)
2. Mau, T.; Hartmann V.; Burmeister J.; Langguth, P.; Häusler, H.: Development of a Sterilize In Place Application for a Production Machine Using Vaporized Hydrogen Peroxide, Pharmaceutical Science and Technology, 58, 130 - 146, (2004)

Posterpräsentation

1. Mau, T.; Hartmann, V.; Burmeister J.; Langguth, P.; Häusler, H.: Sterilisation of a plastic container closure system by ethylene oxide; 1st European Congress on Life Science Process Technology, 11 to 13 October, Nuremberg (2005)

Vorträge

1. Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Entwicklung eine SIP - Applikation, Tettmanger Pharma Symposium: H₂O₂-Sterilisationstechnologie, 5 Juli Tettmang, (2001)
2. Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Sterilisation of a production machine by vaporized hydrogen peroxide, 4th World Meeting on Pharmaceutics , Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8 to 11 April, Florence, (2002)
3. Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Anwendung der H₂O₂ - Oberflächensterilisation in einem Leitungssystem, Tettmanger Pharma Symposium: H₂O₂-Sterilisationstechnologie, 1 Juli, Tettmang, (2003)
4. Mau, T.; Hartmann, V.; Langguth, P.; Häusler, H.: Entwicklung eine SIP - Applikation auf Basis der VHP - Technologie, Tettmanger Pharma Symposium: H₂O₂-Sterilisationstechnologie, 30 Juni, Tettmang, (2005)