

Bio-Dekontamination mit Wasserstoffperoxid

Anwendung in einem vollautomatischen System in der Pharmaproduktion

Maria Jasmin Müller • IDT Biologika GmbH, Dessau-Roßlau
Matthias Buttazoni • Ortner Reinraumtechnik GmbH, Villach (Österreich)

Korrespondenz: Maria Jasmin Müller, IDT Biologika GmbH, Am Pharmapark, 06861 Dessau-Roßlau; **E-Mail:** MariaJasmin.Mueller@idt-biologika.de



► Zusammenfassung

Die Produktion von Arzneimitteln gemäß Good Manufacturing Practice (GMP) muss unter definierten und kontrollierten Produktionsbedingungen erfolgen. Um diese hohen Qualitätsstandards zu gewährleisten, sind wirksame und geprüfte Desinfektionsmittel und -verfahren notwendig, um die mikrobielle Belastung (Bioburden) aller Oberflächen zu minimieren. Die Dekontamination von Reinräumen mit vaporisiertem Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist dabei eine vorteilhafte Ergänzung zur Sprüh- und Wischdesinfektion. Neben dem Vorteil des umweltfreundlichen Zerfalls in Wasser und Sauerstoff ist die Effektivität der Begasung aber von zahlreichen Variablen abhängig, die im Zuge der Zyklusentwicklung berücksichtigt werden müssen. Besonders die zentralen Prozessparameter der relativen Feuchtigkeit, Sättigung, Temperatur und H_2O_2 -Gaskonzentration beeinflussen die Inaktivierungseffektivität unmittelbar. So erfolgt der Wirksamkeitsnachweis des Verfahrens sowohl durch chemische als auch biologische Indikatoren, meist Sporenplättchen des Bakteriums *Geobacillus stearothermophilus*. Mithilfe der umfassenden Analyse der Einflussfaktoren und deren Effekt auf die Bioburden-Abreicherung erfolgt die Entwicklung eines sicheren und reproduzierbaren Dekontaminationsprozesses.

► Key Words

- H_2O_2 -Dekontamination
- Zyklusentwicklung
- Multiparametrischer Prozess
- Bioindikatoren

Einleitung

Die Umstellung manueller Desinfektionsmethoden auf automatisierte Raumdesinfektionssysteme findet in der pharmazeutischen Industrie zunehmend Anklang. Besonders die Innovationstechnologie mit vaporisiertem Wasserstoffperoxid (H_2O_2) erweist sich bei der richtigen Anwendung als effektiv. Deren Akzeptanz nimmt aufgrund der zahlreichen Vorteile stetig gegenüber alternativen Begasungsgenozien zu.

H_2O_2 ist ein starkes Oxidationsmittel und Biozid – aufgrund der Bildung reaktiver Hydroxyradikale, welche die Inaktivierung eines breiten Spektrums an Mikroorganismen bewirken. So ist es gegen grampositive und gramnegative vegetative

Bakterien, deren Endosporen, Mykobakterien, Mykoplasmen, Pilze, Hefen und Protozoen wirksam. Zudem können durch das oxidative Potenzial des H_2O_2 erfolgreich sowohl DNA- und RNA-Viren als auch Prionen inaktiviert werden. Für den Anwender ist außerdem das geringe Explosionsrisiko und die Umweltfreundlichkeit des Agens von Vorteil: H_2O_2 zerfällt nach der Reaktion rückstandsfrei in die Komponenten Wasser und Sauerstoff und weist zusätzlich eine geringere Karzinogenität und Toxizität als andere Begasungsmittel (wie Formaldehyd und Peressigsäure) auf.

Bei der Anwendung muss trotzdem beachtet werden, dass die Desinfektion je nach Konzentration potenziell materialschädigend ist und

für stark poröse, katalytisch wirkende und adsorbierende Materialien nicht geeignet sein kann. Dies kann die Wirksamkeit des Verfahrens beeinflussen. Als vergleichsweise moderne Begasungstechnologie muss zusätzlich berücksichtigt werden, dass die H_2O_2 -Dekontamination ein Multiparameter-Problem ist und verschiedene Ansätze zur Begasung existieren, die je nach Anwendungsfall betrachtet werden sollten.

Grundlagen der H_2O_2 -Begasung

Die manuelle Desinfektion von Oberflächen ist ein arbeitsintensiver und begrenzt reproduzierbarer Prozess in Abhängigkeit sowohl des Anwenders als auch der Verteilung und

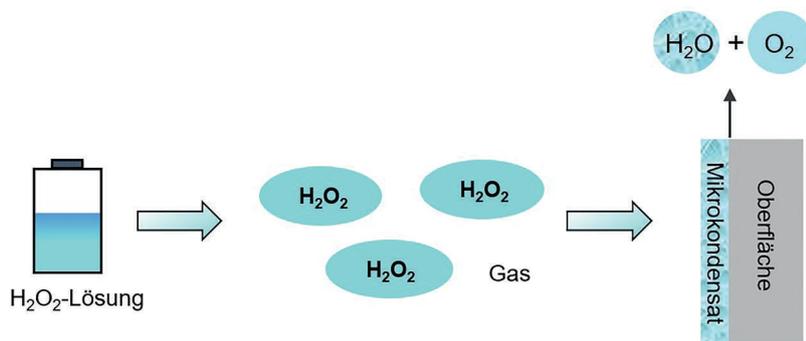


Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung des Wirkmechanismus der H₂O₂-Dekontamination (Wet Process) (Quelle aller Abbildungen: IDT Biologika).

Kontaktzeit des Desinfektionsmittels. So erfolgt zunehmend die Ergänzung durch automatisierte Raumdekontaminationssysteme, um eine unzureichende Sprüh- und Wischdesinfektion zu verhindern und durch ein zweistufiges Verfahren mit Rehydrierung auch viruskontaminierte Oberflächen sicher desinfizieren zu können.

Für etablierte Begasungsagenten wie Formaldehyd, Peressigsäure oder Chlordioxid werden Alternativen gesucht, die gleichermaßen wirksam, aber weniger gesundheitsschädigend sind. Die Formaldehydbegasung weist zwar ein breites Wirkungsspektrum auf, ist aber als karzinogen (Kategorie 1B) und mutagen (Kategorie 2) eingestuft [1]. Als Innovativmethode wurde die H₂O₂-Begasung 1970 entwickelt [2] und in den frühen 1990er-Jahren kommerzialisiert. Sie wird u. a. zur Desinfektion von Reinräumen, Isolatoren, Lyophilisatoren, Tierräumen, Krankenhäusern, Krankenwagen, Laboreinrichtungen und Räumen der Lebensmittelindustrie verwendet. Abbildung 1 kann der Wirkmechanismus des Begasungsagens im Wet Process entnommen werden.

Zu Beginn des Prozesses wird die H₂O₂-Lösung verdampft, über einen Luftstrom in den Raum eingebracht und über Düsen verteilt. Das H₂O₂-Luftgemisch setzt sich anschließend auf den Oberflächen ab und bildet einen Mikrokondensatfilm, der in

der vollständigen Inaktivierung potenzieller Mikroorganismen resultiert. Die biozide Wirkung des Oxidationsmittels beruht dabei auf der Bildung von Hydroxylradikalen. Nach der Reaktion zerfällt das H₂O₂ rückstandslos in die umweltfreundlichen Einzelkomponenten Wasser und Sauerstoff.

Der H₂O₂-Begasungsprozess selbst kann in 5 zentrale Phasen untergliedert werden, deren Dauer und Notwendigkeit im Voraus durch den Betreiber festgelegt wird (Abb. 2). Der Parameter der relativen Feuchtigkeit [%] gibt dabei die temperaturabhän-

gige Kapazität der Luft mit Wasserdampf an. Die relative Sättigung [%] gilt als Maß für den Kondensations-eintritt unter Berücksichtigung des Sättigungsdampfdruckes des H₂O₂-Wasser-Gas-Gemisches. Wenn die Luft vollständig mit H₂O₂ und Wasser gesättigt ist (100 % RS), ist der Taupunkt erreicht, und die sichtbare Kondensation tritt ein.

1. Phase – Vorkonditionierung/ Vorbereitung (PC)

Im Rahmen der ersten Phase werden die angestrebten Ausgangsbedingungen der relativen Feuchtigkeit und Temperatur durch externe oder maschinell integrierte Klimaanlage initiiert. Zudem werden die Verdampferheizplatte zur Verdampfung der injizierten H₂O₂-Lösung sowie Rohrleitungen erhitzt, um die Kondensation des Agens innerhalb der zum Raum führenden Verrohrungen zu vermeiden.

2. Phase – Konditionierung (C)

Nach dem Erreichen der gewünschten Raumkonditionen strömt das vaporisierte H₂O₂-Gemisch mit einer

Autoren



Maria Jasmin Müller

Zurzeit studiert Maria Jasmin Müller im Master Biotechnologie an der Hochschule Anhalt in Köthen, nachdem sie 2022 ihren Bachelor of Science in Biotechnologie absolviert hat. Neben dem Studium arbeitet sie als Werkstudentin bei IDT Biologika GmbH. Ihr Schwerpunkt dabei ist die H₂O₂-Dekontamination und deren Optimierung sowie die technische Umsetzung in der Impfstoffproduktion der IDT Biologika.



Matthias Buttazoni

Als diplomierter Verfahrenstechniker verantwortet Matthias Buttazoni die technischen Bereiche der Ortner Reinraumtechnik von der Projektleitung über die Planung und Elektrotechnik bis hin zur Installation, Inbetriebnahme und Qualifizierung komplexer Anlagen und Geräte für die Pharma- und Life-Science-Branchen. Der Verfahrenstechnik und dem Apparatebau gehört seine besondere Leidenschaft. Unter seiner Feder wurden mehrere chemische und technische Entwicklungen erfolgreich umgesetzt. Die Reinraumtechnik spielte in seinem gesamten beruflichen Werdegang eine wichtige Rolle.

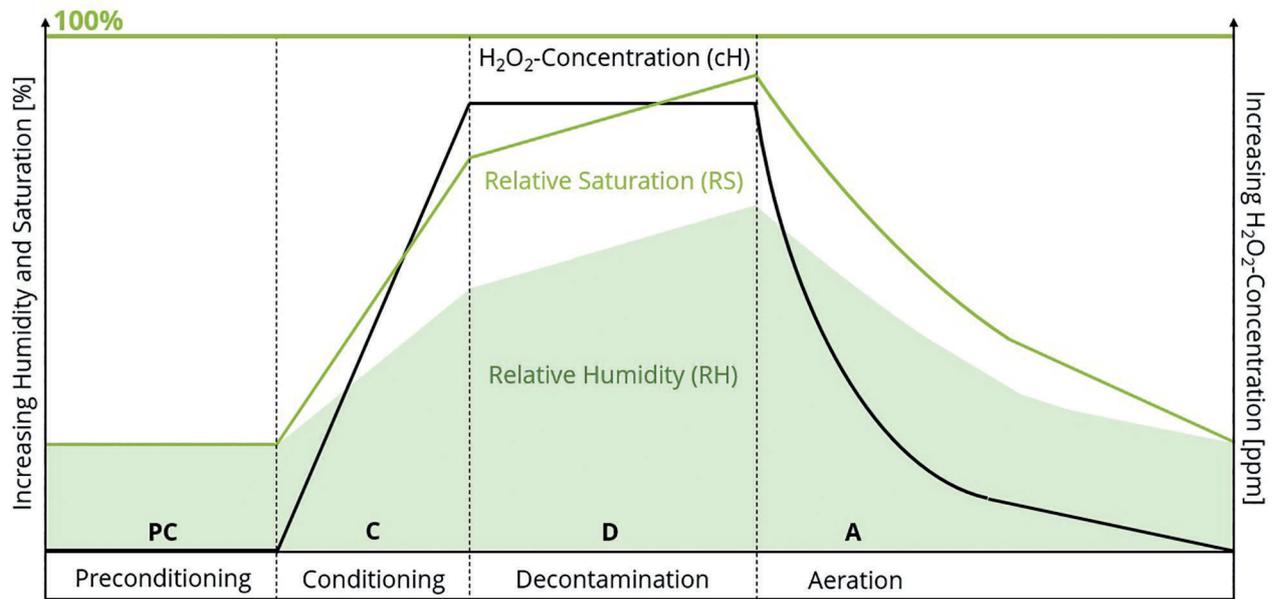


Abbildung 2: Beispielhafter Verlauf der H₂O₂-Dekontamination.

benutzerdefinierten Einspritzrate in den Raum und wird über Düsen- und Ventilationssysteme homogen verteilt. Die Zustandsgrößen der relativen Feuchtigkeit, Sättigung und H₂O₂-Konzentration nehmen bis zum Erzielen der gewünschten Werte zu, wodurch der Dekontaminationseffekt auf die Mikroorganismen langsam aufgebaut wird.

3. Phase – Dekontamination (D)

In der Dekontaminationsphase werden die vorliegenden Werte für eine nachweislich wirksame Zeit konstant aufrechterhalten, um die Inaktivierung potenzieller Kontaminanten zu erreichen.

4. Phase – Nachwirkzeit

Die optionale Phase der Nachwirkzeit, in der keine H₂O₂-Zugabe mehr erfolgt, dient der verlängerten Verweilzeit des Gasgemisches auf den Oberflächen. Aus dieser Verlängerung des thermodynamischen Gleichgewichts zwischen Gas- und Flüssigphase im Mikrocondensat resultiert eine Intensivierung des Dekontaminationseffekts

und effektivere Abreicherung der Keimbelastung.

5. Phase – Belüftung (A)

In der Belüftungsphase wird der Raum bis zum Erreichen des vorgeschriebenen Wertes der Maximalen Arbeitsplatzkonzentration (MAK) mit Luft durchströmt. Die Belüftungsphase ist i. d. R. die zeitintensivste Phase und kann in Abhängigkeit der Raumgröße, Raumladung und/oder Katalysatoren im Lüftungssystem die Gesamtprozesszeit signifikant beeinflussen. So können katalytische Stoffe wie Metalle die Prozesszeit verkürzen. Die Ab- oder Adsorption von H₂O₂-Molekülen auf den Grenzflächen von Materialien wie PU und PVC können aber die Belüftungsphase verlängern. Eine Lösung zur Reduktion der Zeit ist die Verwendung katalytischer Entgasungssysteme. Diese profitieren von der beschleunigten Zersetzung des H₂O₂ durch Edelmetalle, Metalloxide oder Aktivkohle.

Aufgrund der Komplexität der Begasung ist ein stationäres automatisiertes H₂O₂-System von Vorteil in der Routine (Abb. 3). Als zentrale

Steuereinheit unterliegt das System zwar einer komplexen Installation und Planung – es verringert aber auch den Personalbedarf und ermöglicht effizientere Produktionsprozesse. Zudem ergeben sich ideale Bedingungen für die (Re-)Validierung durch eine erhöhte Reproduzierbarkeit.

Die Dekontamination als multiparametrischer Prozess

In der gegenwärtigen Literatur wird der Prozess der Raumdesinfektion mit H₂O₂ zunehmend als „Multiparameter-Problem“ verstanden, da die Effektivität von einer Vielzahl an Prozessparametern signifikant beeinflusst wird. Abbildung 4 gibt einen Überblick der zu betrachtenden Variablen, wie den Raumkonditionen, Zustandsgrößen und Prozessparametern.

Die Konditionen des Raums sollten in jedem Fall während der Zyklusentwicklung betrachtet werden, da Größen wie die Luftwechselrate, Strömungsverhältnisse, Raumgeometrie und Temperaturdifferenzen die zentralen Prozessparameter und

demzufolge die Inaktivierungseffektivität beeinflussen. Mögliche Temperaturdifferenzen müssen – in Hinblick auf das erhöhte Risiko der sichtbaren Kondensation an kühlen Stellen im Raum – in einem Mapping identifiziert und evaluiert werden. Der Effekt des Parameters der Kondensation auf die Dekontamination ist noch unklar, da für deren Notwendigkeit 2 widersprüchliche Theorien existieren, die des Dry und des Wet Process. Der wesentliche Unterschied der Interpretationen des Begasungsprozesses als Dry und Wet besteht in der Priorisierung der Mikrocondensation des H₂O₂-Gemisches auf den Oberflächen, d. h. die für das menschliche Auge unsichtbare Kondensation mit einer Schichtdicke von 1–6 µm.

Für den Dry Process ist die Kondensation nicht notwendig oder gewünscht, weshalb die Kondensationsgeschwindigkeit des Reaktionsgemischs durch niedrige Ausgangswerte der relativen Feuchtigkeit minimal gehalten wird. Im Wet Process beruht die Inaktivierung auf der Bildung des Mikrocondensat-Films und dem damit verbesserten Kontakt zwischen Wirkstoff und Mikroorganismus. Die trockene Verteilung von H₂O₂ erfolgt i. d. R. homogener, durch die niedrigen Feuchtigkeiten öffnen sich aber möglicherweise die Kanäle der Zellmembranen nicht ausreichend zur H₂O₂-Penetration und anschließenden Inaktivierung des Organismus. Aus beiden

Theorien resultiert, dass die molekulare Verteilung des Gemischs aus Wasser und H₂O₂ auf den kontaminierten Oberflächen der ausschlaggebende Punkt für die erfolgreiche Dekontamination ist.

Beide Systeme weisen dennoch Unterschiede in der antimikrobiel-

len Wirksamkeit, der Materialkompatibilität und den Sicherheitsaspekten auf. So sollte die relative Feuchtigkeit und Sättigung während der Begasung beobachtet werden, da der Punkt, an dem die sichtbare Kondensation an den Oberflächen auftritt (der sog. Taupunkt) vermie-

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



„MEHR TUN, ALS MAN TUN MUSS“ lautet unser Credo.

Aus tiefster Überzeugung!

Cleanliness
made in Austria

Die Erde ist erschöpft und das Klima im Wandel.

Als innovatives und zukunftsorientiertes Unternehmen setzen wir Maßnahmen, um Gegenzusteuern. Umweltschutz, regionale Wertschöpfung und Nachhaltigkeit sind fest in unseren Prozessen verankert. Von der Herstellung, über den Produktlebenszyklus, bis hin zur Nutzung und Entsorgung. Achtsamkeit und soziale Verantwortung bestimmen ebenso unser tägliches Handeln, wie die Forschung und Entwicklung alternativer Dekontaminationstechniken.

UNSER ZIEL Schnelle, sichere und zuverlässige Reinraumprozesse, um unseren Planeten und alles Leben vor Kontaminationsquellen zu schützen.



www.ortner-group.at



Abbildung 3: Stationäre H₂O₂-Anlage zur Dekontamination der Produktionsräume der Drug Substance.

den werden muss, um Equipment-Schäden und eine verringerte Wirksamkeit auszuschließen.

Die zentralen Zustandsgrößen, wie die relative Feuchtigkeit und Sättigung, H₂O₂-Gaskonzentration, Temperatur und Expositionszeiten, sollten im besten Fall mit einem Sensor detektiert und überwacht werden, da sie direkten Einfluss auf die Inaktivierungseffektivität der Dekontamination nehmen. Abhängig der Anwendung sollten konkrete Werte für die erforderliche H₂O₂-Konzentration, relative Feuchtigkeit und Sättigung definiert werden, die eine Abreicherung des Bioburdens um die gewünschten Logstufen absichern. Die Beladung, Geometrie und Materialbeschaffenheit der Dekontaminationsumgebung limitieren dabei die Menge an verdampften H₂O₂, um Raumschäden zu vermeiden.

Parameter wie die Konzentration der verwendeten H₂O₂-Lösung, die Injektionsrate und die Zeiten der Prozessphasen sind definierte Vorgaben des Anwenders, die je nach

Zielsetzung variiert werden können und direkten Einfluss auf den Prozess haben. Bei der Forderung niedriger Konzentrationen aufgrund empfindlichen Equipments können diese z. B. durch verlängerte Prozesszeiten kompensiert werden, mit dennoch vergleichbarem Inaktivierungseffekt.

Die Entwicklung mathematischer Modelle der Begasung unter Berücksichtigung chemischer und physikalischer Einflüsse erweitert das Prozessverständnis und kann die Zyklusentwicklung optimieren. Je größer die Expertise ist, umso kleiner kann der Zeitrahmen für die Festlegung der Parameter und dementsprechend der Abschluss der Qualifizierung kalkuliert werden.

Evaluation des Begasungsprozesses

Basierend auf diesen Einflussfaktoren und deren Wechselwirkungen sollte die Entwicklung eines sicheren, reproduzierbaren und effektiven Dekontaminationszyklus unter

Verwendung chemischer und biologischer Indikatoren erfolgen.

Aufgrund der fehlenden charakteristischen Korrelation zwischen den physikalischen Parametern und der erreichten Inaktivierung sind biologische Indikatoren (BI) geeignete lokale Prozesskontrollen innerhalb der Zyklusentwicklung und (Re-)Validierung des Begasungsprozesses. Die Positionen der BI im Raum werden dabei vorab im Rahmen einer umfassenden Risikoanalyse bestimmt, welche die vom Begasungs-Agens am schwierigsten erreichbaren Stellen im prozessnahen und prozessfernen Bereich (Worst Case) identifiziert. Dafür sind bakterielle Endosporen als BI optimal geeignet, da sie gegen eine Vielzahl von Behandlungen wie Hitze, Trocknung, Strahlung, Druck und Chemikalien beständig sind. Das ubiquitäre Stäbchenbakterium *Geobacillus stearothermophilus* weist eine besonders hohe Resistenz gegenüber H₂O₂ auf, weshalb es als internationaler Standardindikator für die H₂O₂-Dekontamination verwendet wird [3].

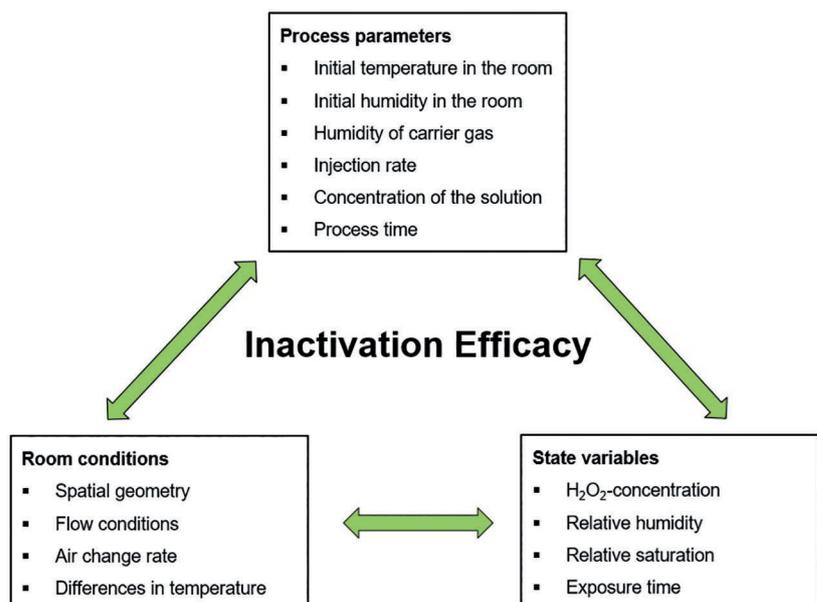


Abbildung 4: Übersicht der Einflussfaktoren auf die Inaktivierungseffektivität der H₂O₂-Dekontamination.

Fazit

Die Biodekontamination von Reinräumen mit H_2O_2 ersetzt als Innovativmethode zunehmend integrierte Begasungsverfahren mit Formaldehyd oder Ethylenoxid. Der rückstandlose Zerfall des H_2O_2 bringt dem Anwender den Vorteil der verringerten Umwelt- und Gesundheitsbelastung, ist gleichzeitig aber gegen zahlreiche Mikroorganismen effektiv. Die Wirksamkeit des Verfahrens wird in der Praxis durch biologische Indikatoren nachgewiesen, meist mit Sporen des thermophilen Bakteriums *Geobacillus stearothermophilus* (aufgrund dessen erhöhter Resistenz gegenüber H_2O_2).

Die erfolgreiche Inaktivierung ist dabei von zahlreichen Variablen abhängig, die innerhalb der Zyklusentwicklung berücksichtigt werden müssen, um z. B. Materialschäden oder eine unzureichende Bioburden-Abreicherung zu vermeiden. Die Raumkonditionen und Prozessparameter haben dabei direkten Einfluss auf die Zustandsgrößen der relativen Feuchtigkeit, Sättigung und H_2O_2 -Konzentration und dementsprechend die Inaktivierungseffektivität. Diese multiparametrischen Abhängigkeiten zeigen die Komplexität des Dekontaminationsprozesses und die Notwendigkeit der umfassenden Betrachtung jeglicher Einflussfaktoren auf.

Literatur

- [1] D. Reichenbacher, M. Thanheiser, und D. Krüger, „Aktueller Stand zur Raumdekontamination mit gasförmigem Wasserstoffperoxid“, Juni 2010. <https://edoc.rki.de/handle/176904/991>
- [2] F. C. Moore und L. R. Perkinson, „Hydrogen peroxide vapor sterilization method“, US4169123A, 25. Sept. 1979. <https://patents.google.com/patent/US4169123A/en>
- [3] W. L. Nicholson, N. Munakata, G. Horneck, H. J. Melosh, und P. Setlow, „Resistance of Bacillus Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments“, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Bd. 64, Nr. 3, S. 548–572, Sept. 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99004/>

Die Links wurden zuletzt abgerufen am 17.10.2023.