

Workshop Microbiologie PUOZ LabDag 2016

Erik Wilms

Claudia Wever

Augustus 2016



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Evaluatie Lab Dag 2015

wens voor microbiologie – toepassing – steriliteitstesten, kiemgetal bepalingen, plaatjes, wat doen, hoe bijhouden/monitoren, valideren etc,



Inhoud

- Steriliteitstest
- Environmental monitoring
- Kiemgetalbepaling



Workshop





Steriliteits-test

of

parametrische vrijgifte



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Uitslag steriliteitstest: groei!

en nu?

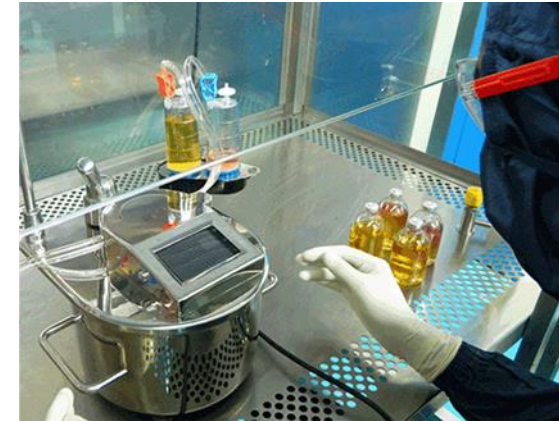
- Welke acties, vervolgonderzoek
 - Onderzoekend laboratorium
 - Producerende afdeling



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Steriliteitstest

- Uitvoeren onder dezelfde condities als het product is bereid
 - Training aseptisch werken
 - Environmental monitoring uitvoeren
 - Kwalificatie medewerkers
- 2 methodes
- Membraanfiltratie
- Directe inoculatie
 - Alleen toegestaan indien membraanfiltratie technisch niet mogelijk is



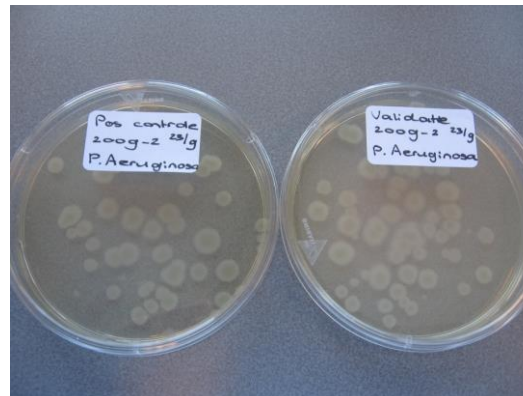
Steriliteitstest

- Evt voorbereiding monster
- Filtratie over twee 0,45 µm membranen, met gesloten systeem
 - Micro-organismen blijven op membranen achter
- Spoelen membraan
 - Wegspoelen product i.v.m. groeiremming
- Media
 - Incubatie minimaal 14 dagen met voorgeschreven media bij voorgeschreven temperatuur
 - Trypticase Soy Broth (TSB) 20-25 °C
 - Fluid Thioglycollate Medium (FTM) 30-35°C
- Incubatie
- Beoordeling



Steriliteitstest, validatie

- Test valideren voor elke samenstelling
 - Afhankelijk van hoeveelheid grondstof over membraan
 - Zowel werkzame stof als hulpstoffen
 - Ph.Eur. § 2.6.1
1. Keuzes maken (techniek, spoelmiddel, membraan e.d.)
 2. Monster zo nodig voorbereiden en verdelen
 3. Spoelvloeistof beënten met micro-organismen (5 verschillende)
 4. Blanco medium beënten met micro-organismen
 5. Enten inoculum op platen (min. in duplo)



Steriliteitstest, validatie

6. Steriliteitstest uitvoeren, laatste spoelstap met beënt spoelmiddel
7. Incuberen
8. Beoordelen
 1. Groei binnen gestelde tijd (5 dagen)
 2. Groei in monster vergelijkbaar met groei in blanco
 3. Inoculum < 100 KVE
9. Documenteren en autoriseren



Uitslag steriliteitstest: groei!

en nu?

- Welke acties, vervolgonderzoek
 - Onderzoekend laboratorium
 - Producerende afdeling



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Case steriliteitstest

- Product niet steriel of besmetting bij uitvoeren test
- Investigation!
 - Uitvoer test: monitoring at rest ruimte, monitoring in operation, negatieve controle, typering MO, bijzonderheden bij uitvoering, kwalificatie en resultaten medewerker
 - Test alleen bij duidelijke oorzaak te invalideren
 - Product verpakking: schade door autoclaveren, etiketteren, verpakken, transport, felsen, closure integrity
 - Product autoclaveren: validatie en parameters autoclaveerproces, vocht op septum



Steriliteitstest

- In geval van positief resultaat: afkeur!
- Test invalideren: alleen als aan specifieke voorwaarden is voldaan:
 - Fout gemaakt bij uitvoeren test
 - Monitoring ruimte toont afwijking
 - Monitoring in operation besmetting met hetzelfde micro-organisme als in het steriliteitstestmonster (determinatie tot DNA niveau)
 - ???

Environmental monitoring

- Monitoring at rest
 - Kwalificatie van de ruimte
 - Geen activiteit, geen mensen in de ruimte aanwezig tijdens metingen
 - ISO 14644
 - Meestal eenmaal per jaar volledige kwalificatie
 - Gecertificeerd bedrijf
 - Rapport reviewen, ruimte vrijgeven
- Periodieke beperkte herkwalificatie (zelf uitvoeren)
 - Geen productie, geen mensen in de ruimte aanwezig tijdens metingen
 - Maandelijks alle locaties (AHZ)
 - Resultaten vastleggen en beoordelen
 - Autorisatie rapportage en ruimte vrijgeven

Environmental monitoring

- Monitoring in operation (AHZ)
 - Bereidingslocatie en uitvullocatie
 - Daar waar het product bloot staat aan de “buitenlucht”, bereiding, infuuslijn, ampulmachine, handmatig uitvullen e.d.
 - Sedimentatieplaten kritieke plek(ken)
 - Contactafdrukken handen / werkplek(ken)
 - Luchtkiemgetal
 - Deeltjestelling
 - Simulatie (i.g.v. aseptische handelingen)
 - Achtergrondruimte
 - Sedimentatieplaten
 - Contactafdrukken werkplek



Environmental monitoring

- SOP's opstellen:
 - Werkwijze (hoe, wat)
 - Locaties (foto)
 - Frequentie
 - Eisen (alert/action limit)
 - Acties bij individuele overschrijdingen
 - Verantwoordelijkheden
- Kwalificatie medewerkers voor uitvoeren monitoring
- Inkeuren media
- Registratie resultaten op formulieren en in Excel (trendanalyse)
- Periodiek trend / resultaten beoordelen en vaststellen
- Acties n.a.v. trend / resultaten



Environmental monitoring



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Monitoring periodiek overzicht

Locatie: AHZ Voorraadproductie
Periode: jan t/m aug 2016

Resultaten beoordeeld d.d. 19-9-2016

Dijzonderheden / acties

Monitoring in operation

Plenum sterilisatie 2: 1x actie I met 2KVE op tactafdruk werkblad en verschillende keren op: limiet. 1 positieve simulatie in maart. Medewerker gediskwalificeerd hertraind en opnieuw gekwalificeerd.

Monitoring at rest:

Alle metingen voldoen behalve:

Plenum sterilisatie 2: 1x action limiet (8 KVE, locatie 1.2 luchtkiemstrip)

Vanaf juni 2016 geen aseptische handelingen meer onder plenum sterilisatie 2

Plenum groot op sterilisatie 1: 1x action limiet (8 KVE, locatie 4.3 luchtkiemstrip)

Plenum klein sterilisatie 1: 3 opeenvolgende alerts (3x1 KVE, locatie 6.2 luchtkiemstrip)

Onderzoek bemonstering luchtkiemgetalmeting en eventueel hertraining. (CAPA)

Vastgesteld door wij Monitoring o.d. 19/9/16
20/09/16

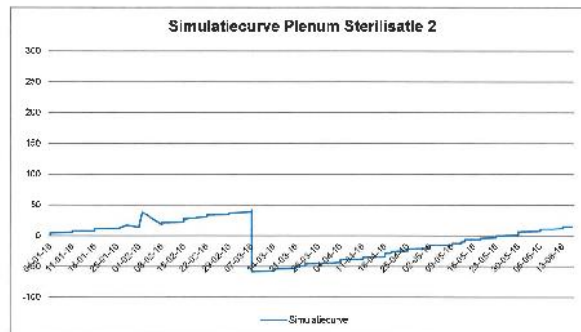
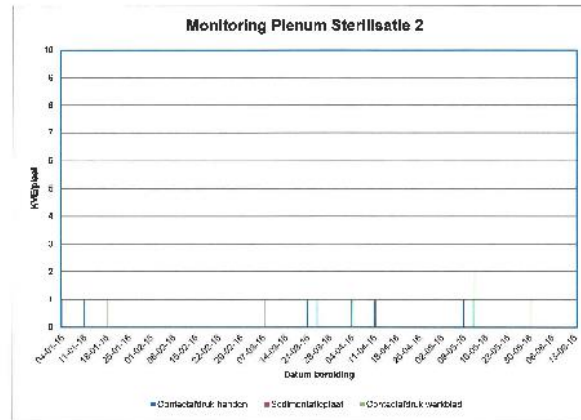
	Datum	Paraf
Apotheker laboratorium	20/09/16	<i>[Handwritten Signature]</i>
Apotheker productie	20/09/16	<i>[Handwritten Signature]</i>
QP	20/09/16	<i>[Handwritten Signature]</i>

Pagina 1 van 9

Monitoring in operation

Locatie: Plenum sterilisatie 2
Periode: jan t/m aug 2016

Alert limiet: >0 KVE/plaat
Action II mit: >2 KVE/plaat



Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg

Environmental monitoring

Monitoring in operation

Locatie: Plenum sterilisatie 2
Periode: jan tm aug 2016

Frequentie-distributie contactafruk handen

Uitslag KVE/plaat	Aantal	Totaal aantal KVE	% positief
0	121	0	53,1%
1	9	9	6,9%
2	0	0	0,0%
3	0	0	0,0%
4	0	0	0,0%
5	0	0	0,0%
6	0	0	0,0%
7	0	0	0,0%
8	0	0	0,0%
9	0	0	0,0%
10	0	0	0,0%
>10	0	0	0,0%
TOTAAL	130	9	100,0%

KVE/100 platen	% positief totaal
7	6,9%

Frequentie-distributie sedimentatieplaat

Uitslag KVE/plaat	Aantal	Totaal aantal KVE	% positief
0	277	0	100,0%
1	0	0	0,0%
2	0	0	0,0%
3	0	0	0,0%
4	0	0	0,0%
5	0	0	0,0%
6	0	0	0,0%
7	0	0	0,0%
8	0	0	0,0%
9	0	0	0,0%
10	0	0	0,0%
>10	0	0	0,0%
TOTAAL	277	0	100,0%

KVE/100 platen	% positief totaal
0	0,0%

Frequentie-distributie contactafruk werkblad

Uitslag KVE/plaat	Aantal	Totaal aantal KVE	% positief
0	120	0	96,2%
1	5	5	4,0%
2	1	2	0,8%
3	0	0	0,0%
4	0	0	0,0%
5	0	0	0,0%
6	0	0	0,0%
7	0	0	0,0%
8	0	0	0,0%
9	0	0	0,0%
10	0	0	0,0%
>10	0	0	0,0%
TOTAAL	126	7	100,0%

KVE/100 platen	% positief totaal
8	4,8%

Frequentie-distributie luchtkiemgetal

Uitslag KVE/plaat	Aantal	Totaal aantal KVE	% positief
0	137	0	92,0%
1	7	7	4,7%
2	1	2	0,7%
3	1	3	0,7%
4	0	0	0,0%
5	1	5	0,7%
6	0	0	0,0%
7	1	7	0,7%
8	0	0	0,0%
9	0	0	0,0%
10	0	0	0,0%
>10	0	0	0,0%
TOTAAL	148	24	100,0%

KVE/100 platen	% positief totaal
16	7,4%

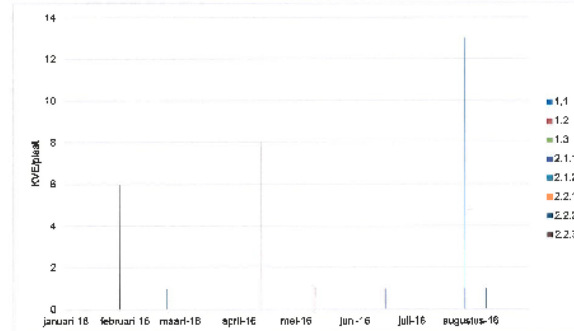
Frequentie-distributie simulatie

Uitslag	Aantal	% positief totaal
Geen groei	115	0,0%
Groei	1	
TOTAAL	116	

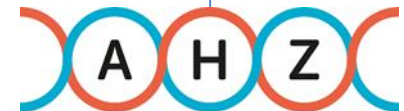
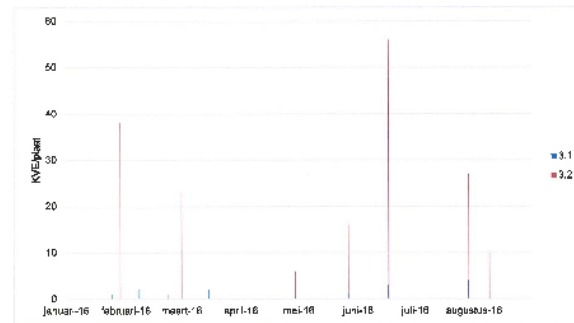
Eis: <1% (1 groei in 300 monsters)
(LNA-procedure)

Monitoring at rest

Locatie: Sterilisatie 2 Uitvlruimte
Periode: jan tm aug 2016



Locatie: Sterilisatie 2 Weegruimte
Periode: jan tm aug 2016



Kwalificatie en validatie

- Procesvalidatie
 - Simulatie proces met medium, media fill (TSB o.i.d.)
 - Validatie aseptische werkwijze
 - continue monsternamen
- Persoonsgebonden kwalificatie personeel
 - Simulatie diverse processen met medium (TSB o.i.d.)



Monitoring vs kwalificatie/validatie

- **Monitoring:** bepaalde parameters regelmatig meten (maandelijks, dagelijks) en beoordelen in relatie tot eerdere resultaten.
- Zegt iets over de omstandigheden waaronder een productieproces plaatsvindt en veranderingen daarin.
- **Kwalificatie/validatie**
 - Testen staan los van elkaar
 - Resultaat: goedgekeurd of afgekeurd
- Periodiek vaststellen dat
 - een **medewerker** bekwaam is voor het uitvoeren van die bepaalde taak (persoonsgebonden kwalificatie)
 - een **ruimte** aan gestelde specificaties voldoet (kwalificatie ruimten)
 - een **productieproces** een kwalitatief goed product oplevert (procesvalidatie)



Case environmental monitoring

- Waardoor wordt contaminatie veroorzaakt?
- Acties bij overschrijdingen?



Case environmental monitoring

- Acties bij overschrijdingen
- Vaste media
 - Terugkoppelen medewerker
 - Hertraining aseptisch werken
 - Hertraining desinfectie oppervlakken en materialen
 - Aanvullende schoonmaak/desinfectie LAF
- Vloerbare media (simulatie)
 - Diskwalificatie medewerker / stoppen proces
 - Terugkoppelen medewerker
 - Hertraining aseptisch werken/desinfectie
 - Herkwalificatie / hervalidatie proces
 - Bij herhaald positief geschiktheid beoordelen



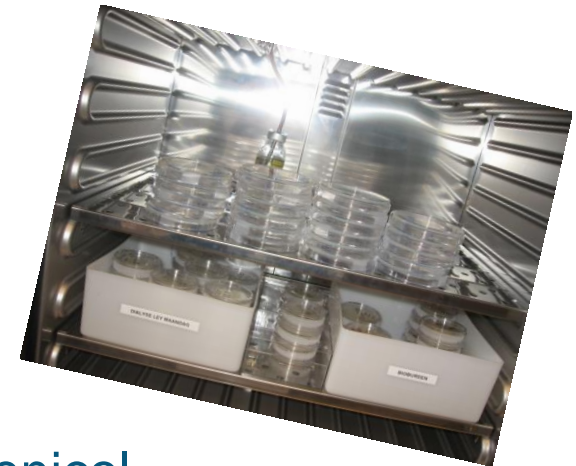
Kiemgetalbepaling

- In proces test steriele preparaten
 - Voor laatste kiemreducerende stap (= bioburden / uitgangsccontaminatie)
 - Volume afhankelijk van verwachte contaminatie
- Controle contaminatie van demiwater en WFI (als grondstof)
 - Volume afhankelijk van verwachte contaminatie
- Deel eindcontrole niet-steriele preparaten



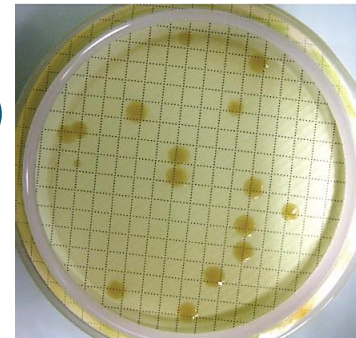
Kiemgetalbepaling

- Evt voorbereiding monster
- Filtratie over twee 0,45 µm membranen
 - Micro-organismen blijven op membranen achter
- Spoelen membranen
 - Wegspoelen product i.v.m. groeiremming
- Media
 - Incubatie op voorgeschreven media bij voorgeschreven temperatuur
 - Trypticase Soy Agar (TSA) 30-35 °C
 - Sabouraud Dextrose Agar evt. met chlooramfenicol (SDA(C)) 20-25°C
 - R2a (alleen water)
- Incubatie
- Beoordeling



Kiemgetalbepaling, validatie

- Test valideren voor elke samenstelling
 - Afhankelijk van hoeveelheid grondstof over membraan
 - Zowel werkzame stof als hulpstoffen
 - Ph.Eur. § 2.6.12
 - Ph.Eur. § 2.6.13 (specified micro-organisms)
1. Keuzes maken (techniek, spoelmiddel, membraan e.d.)
 2. Monster zo nodig voorbereiden en verdelen
 3. Monster beënten met micro-organismen (5 verschillende)
 4. Referentie (NaCl 0,9%) beënten met micro-organismen
 5. Bioburdentest uitvoeren
 6. Incuberen
 7. Beoordelen (recovery 50-200% t.o.v. referentie)
 8. Documenteren en autoriseren



Case kiemgetalbepaling, validatie

- Recovery < 50%. Wat nu?



Case kiemgetalbepaling, validatie

- Recovery < 50%. Wat nu?
- Niet aan eis voldaan; uitvoering test aanpassen.
 - Meer spoelstappen
 - Ander spoelmiddel
 - Verdunnen
 - Kleiner volume





Apotheek Haagse Ziekenhuizen
Samen voor betere farmaceutische zorg