

Inhaltsverzeichnis

Geleitwort V

Vorwort XV

Abkürzungen XVII

1	Einführung in die Mikrobiologie	1
1.1	Historisches	3
1.2	Bedeutung	4
1.3	Mikroorganismengruppen	5
1.4	Die Bakterienzelle	10
1.4.1	Bakterienmorphologie	12
1.4.2	Bakterienphysiologie	13
1.4.2.1	Ernährung und Stoffwechsel	14
1.4.2.2	Umgebungsbedingungen	15
1.5	Taxonomie der Mikroorganismen	17
1.5.1	Klassifikation	18
1.5.2	Nomenklatur	21
1.6	Medizinische Mikrobiologie	22
1.6.1	Infektionsrouten	22
1.6.1.1	Direkt	22
1.6.1.2	Indirekt	23
1.6.1.3	Nosokomiale Erkrankungen	24
1.6.1.4	Zoonosen	24
2	Rahmenbedingungen für den Betrieb mikrobiologischer Laboratorien	29
2.1	Gesetze und technische Regelwerke	29
2.2	Medizinische Betreuung der Mitarbeiter	34
2.3	Betriebsbeschreibung für mikrobiologische Laboratorien	36
2.4	Einrichtung mikrobiologischer Labore	37
2.4.1	Benötigte Geräte/Ausrüstung	37
2.5	Nährmedien	39
2.5.1	Flüssige Nährmedien (Bouillons)	40
2.5.2	Feste Nährböden	41

Pharmazeutische Mikrobiologie – Qualitätssicherung, Monitoring, Betriebshygiene, 1. Auflage. Michael Rieth.
© 2012 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Published 2012 by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

2.5.3	Selektive Nährmedien	42
2.5.4	Nährmedien mit chromogenen Substraten	43
2.6	Rezepturen	47
2.6.1	Eigene Herstellung	75
2.6.2	Einkauf	75
3	Kalibrierung und Qualifizierung der Geräte	77
3.1	Waagen	80
3.2	pH-Meter	80
3.3	Kolbenhubpipetten	80
3.4	Stoppuhren	81
3.5	Geräte zur Erreichung bestimmter Temperaturen	82
3.5.1	Thermometer	83
3.5.2	Brutschränke	83
3.5.3	Kühlschränke/Kühltruhen	84
3.5.4	Heißluftsterilisatoren	85
3.5.5	Autoklaven	85
3.6	Clean Bench	86
3.7	Air Sampler	88
3.8	Partikelzähler	89
3.9	Messgerät zur Bestimmung der Wasseraktivität	89
3.10	Photometer/Reader	90
3.11	Tube Reader für Endotoxinbestimmungen	90
4	Stammhaltung	93
4.1	Bezug	96
4.2	Versand	97
4.3	Lagerung	97
4.4	Kultivierung	98
5	Betriebshygiene	101
5.1	Hygiene	101
5.1.1	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung	102
5.1.2	Was ist das Ziel der Betriebshygiene?	103
5.1.3	Personalhygiene	103
5.1.4	Aufnahme eines Hygienekatasters	103
5.2	Mikrobiologische Grundlagen zur Hygiene	104
5.2.1	Kontaminationsquellen während der Herstellung	105
5.2.2	Einflussfaktoren der mikrobiellen Reinheit	105
5.3	Hygienemaßnahmen	107
5.4	Sterilisation, Desinfektion und aseptische Herstellung	116
5.4.1	Sterilisation	116
5.4.1.1	Sterilisationsverfahren	116
5.4.2	Desinfektion	117
5.4.3	Asepsis	122

- 5.4.4 Entwesung 122
- 5.4.5 Pasteurisierung 123
- 5.4.6 Konservierung 123
- 5.5 Hygieneplan für mikrobiologische Laboratorien 123
- 5.6 Ungezieferbekämpfung (Pest Control) 126
- 5.7 Hygienebeauftragte 129
- 5.8 Durchführung von Hygieneschulungen 129
- 6 Umgebungsmonitoring 135**
 - 6.1 Methoden 135
 - 6.1.1 Prüfung der Raumluft 135
 - 6.1.2 Prüfung von Oberflächen 136
 - 6.1.3 Prüfung der Mitarbeiter 136
 - 6.2 Mikrobiologisches Monitoring im Sterilitätstest-Isolator 138
 - 6.2.1 Beispiel für einen Isolator 138
 - 6.3 Physikalischer Betrieb 143
 - 6.3.1 Physikalisches Monitoring in der Sterilproduktion 144
 - 6.4 Auswertung der Mikroorganismen 146
 - 6.5 Register der Mikroorganismen 147
 - 6.5.1 Gram(+) Bakterien 147
 - 6.5.1.1 Staphylokokken 147
 - 6.5.1.2 Streptokokken 148
 - 6.5.1.3 Enterokokken 148
 - 6.5.1.4 Mikrokokken 149
 - 6.5.1.5 Corynebakterien 149
 - 6.5.1.6 Propionibacteriaceen 149
 - 6.5.1.7 Bacillus 150
 - 6.5.1.8 Paenibacillus 150
 - 6.5.2 Gram(-) Bakterien 150
 - 6.5.2.1 Enterobacteriaceen 150
 - 6.5.2.2 Pseudomonaden 151
 - 6.5.3 Partiiell säurefeste Stäbchen 153
 - 6.5.4 Hefen 154
 - 6.5.5 Pilze 154
- 7 Qualitätskontrolle 157**
 - 7.1 Arzneibuch-Methoden (compendial methods) 157
 - 7.1.1 Bestimmung von TAMC/TYMC und spezifizierten Mikroorganismen 159
 - 7.1.1.1 Akzeptanzkriterien für die mikrobiologische Qualität nicht steriler Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung 160
 - 7.1.2 Prüfung auf Sterilität 161
 - 7.1.3 Nachweis von fiebererzeugenden Substanzen 163
 - 7.1.3.1 Historisches 167
 - 7.1.3.2 Bestimmungsmethoden 168

7.1.3.3	Endotoxin-Standardreihen	168
7.1.3.4	Referenzstandards BRP-4.x und EC-6	168
7.1.3.5	Kontrollstandard NP-4 und <i>Escherichia coli</i> -Standards	169
7.1.3.6	Kontrollen während des Tests	170
7.1.3.7	Bestätigung der Lysatempfindlichkeit durch das Labor	170
7.1.3.8	Prüfung eines Produkts	171
7.1.3.9	Alternativverfahren	178
7.1.4	Prüfung auf ausreichende Konservierung	180
7.1.5	Bestimmung von Antibiotika-Aktivitäten	183
7.1.6	Bestimmung von Mykoplasmen	184
7.1.7	Prüfung auf Mykobakterien	186
7.1.8	Auswertung von Bioindikatoren	187
7.1.8.1	Bestimmung der Sporenzahl auf Sporenstreifen	188
7.1.8.2	Bestimmung der Sporenzahl in Fertigampullen wie Sterikon® plus	188
7.1.8.3	Auswertung von Bioindikatoren nach einem Autoklaven-Lauf	189
7.2	Nicht-Arzneibuchmethoden (non compendial methods)	190
7.2.1	Bestimmung von Vitaminkonzentrationen	190
7.2.1.1	Bedienung der Schwingmühle	190
7.2.1.2	Beispiel zur Bestimmung von Cyanocobalamin in vitaminisierten Gummi-Bonbons	191
7.2.1.3	Bestimmung von Cyanocobalamin	192
7.2.2	Bestimmung von 1,3- β -D-Glucanen	195
7.2.3	Prüfung von Packmitteln	197
7.2.3.1	Prüfung von Flaschen, Vials, Ampullen	198
7.2.3.2	Prüfung von Pipettierern	198
7.2.3.3	Prüfung von Stopfen, Tropfern, kleinen Deckeln	198
7.2.3.4	Große Deckel	198
7.2.3.5	Blisterpackungen	199
7.2.3.6	Große Container	199
7.2.4	Nachweis probiotischer Bakterien	200
7.2.4.1	Bestimmung der Gesamtkeimzahl (TAMC) mittels Plattengussverfahren	201
7.2.5	Mikroskopische Zellgrößenmessung	202
7.2.6	Bioburden-Bestimmung von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln	203
7.2.6.1	Mikrobiologische Untersuchung der Reinigungs- und Desinfektionsmittel auf Gesamtkeimzahl und Keimart	203
7.2.7	Inokulationsversuche	204
7.3	Tests unter Verwendung von Tiermodellen	205
7.3.1	Kaninchen: Prüfung auf Pyrogene – Ph. Eur. 2.6.8	207
7.3.2	Ratte: Allen-Doisy-Test	208
7.3.3	Maus (<i>Mus musculus</i>): Prüfung auf anormale Toxizität – Ph. Eur. 2.6.9	208

7.3.4	Meerschweinchen (<i>Cavia aperea</i>): Prüfung auf Histamin – Ph. Eur. 2.6.10	208
7.4	Zellkulturmethoden	209
7.4.1	Betriebsbeschreibung eines Zellkulturlabors	209
7.4.1.1	Sicherheitshinweise	210
7.4.2	Passagierung von Zellen	211
7.4.3	Bestimmung der Gesamtzellzahl und der Lebendzellzahl in der Zählkammer	212
7.5	Validierung der Arzneibuch-Methoden	213
7.5.1	Prüfung auf Sterilität	214
7.5.1.1	Beschreibung der Durchführung am Beispiel der Membranfiltration	214
7.5.2	Prüfung auf TAMC/TYMC und spezifizierte Mikroorganismen	216
7.5.3	Prüfung auf Endotoxine	224
7.5.3.1	Test auf Hemmung und Verstärkung	225
7.5.3.2	Festlegung des Endotoxingrenzwerts	225
7.5.3.3	Zusammenfassung	234
7.5.4	Bestimmung von Antibiotika-Konzentrationen	234
7.5.4.1	Bestimmung der Gentamicin-Aktivität mit der turbidimetrischen Methode	235
7.5.4.2	Zusammenfassung	238
8	Prozess-Validierungen	243
8.1	Nährmedienabfüllung (media fill)	243
8.1.1	Media fill fail	247
8.2	Entpyrogenisierung	248
8.2.1	Entpyrogenisierungstunnel	250
8.3	Validierung der Sterilisation mit trockener Hitze	251
8.4	Validierung der Sterilisation mittels feuchter Hitze (Autoklav)	253
8.5	Validierung der Sterilfiltration	254
8.5.1	Validierung des Filtertyps	254
8.5.2	Validierung des Filtrationssystems	255
8.5.2.1	Produktbezogene Validierung	255
8.5.2.2	Verfahrensbezogene Validierung	255
8.5.3	Integritätsprüfung von Membranfiltern	255
8.5.3.1	Bubble-Point-Test (Blasendrucktest)	255
8.6	Container Closure Integrity Test	256
8.7	Reinigungsvalidierung	260
8.7.1	Mikrobiologische Methoden in der Reinigungsvalidierung	261
8.7.1.1	Nachweis von Endotoxinen auf produktberührenden Oberflächen	261

9	Mikrobiologische Untersuchung von Wasser	265
9.1	Probennahme	267
9.2	Probentransport	268
9.3	Verwendung der verschiedenen Wasserqualitäten	272
9.4	Gereinigtes Wasser (Aqua purificata, AP)	272
9.5	Hochgereinigtes Wasser (HPW)	273
9.6	Wasser für Injektionszwecke (Wfi)	273
9.6.1	Rouging	274
9.7	Wasser zum Verdünnen konzentrierter Hämodialyselösungen	275
9.8	Trinkwasser	275
9.9	Legionellen	276
10	Mikrobiologische Schnellmethoden (<i>rapid microbiological methods</i>)	279
10.1	Bestimmung über den ATP-Gehalt	279
10.2	Bestimmung über den Einbau von Fluoreszenzmarkern	282
10.2.1	Scan RDI™ (AES-Chemunex-bioMerieux)	282
10.2.2	Quantum (Merck-Millipore)	283
10.3	Durchflusscytometrie	283
11	Automation im mikrobiologischen Labor	287
11.1	Färbeautomaten	287
11.2	Geräte zur Zählung der Kolonien (KBE)	288
11.3	Nährmedien-Abfüllautomat	288
11.4	Automation des Endotoxintests	289
12	Qualitätssicherung	291
12.1	Aufbau eines SOP-Systems	291
12.2	Schulungen	293
12.3	Audits und Inspektionen	294
12.3.1	Verhalten bei Audits	295
12.3.1.1	Vor dem Audit	295
12.3.1.2	Während des Audits	295
12.3.1.3	Nach dem Audit	296
12.3.2	Selbstinspektionen	296
12.3.3	Behörden-Audits	297
12.3.4	Kunden-Audits	299
12.3.5	Lieferanten-Audits	299
12.3.6	Weitere Audits	299
12.4	Vorgehensweise bei OOS- und OOE-Ergebnissen	300
12.4.1	Prüfung auf Endotoxine	303
12.4.2	Prüfung auf TAMC und TYMC	304
12.4.3	Prüfung auf Sterilität	305
12.4.4	Prüfung auf Pyrogene	306

13	Identifizierung von Mikroorganismen	309
13.1	Wachstumskurve	309
13.2	Generationszeit	310
13.3	Herstellung von Reinkulturen	310
13.4	Sensorische und makroskopische Merkmale	310
13.5	Mikroskopische Untersuchung	311
13.5.1	Mikroskope	311
13.5.1.1	Hellfeldmikroskop	312
13.5.1.2	Phasenkontrastmikroskop	312
13.5.1.3	Dunkelfeldmikroskop	313
13.5.1.4	Fluoreszenzmikroskop	313
13.5.2	Mikroskopische Präparate	313
13.6	Färbungen	315
13.6.1	Farblösungen und Färbungen	315
13.7	Prinzip der „Bunten Reihe“	318
13.8	Immunologische Verfahren	319
13.9	PCR	320
13.10	Gaschromatografie (FAME)	321
13.11	FT-IR-Spektroskopie	321
13.12	MALDI-TOF	322
14	Reinigung, Sterilisation, Dekontamination und Entsorgung	325
14.1	Reinigung	325
14.2	Sterilisation	325
14.2.1	Trockene Hitze (Heißluftsterilisator)	325
14.2.2	Feuchte Hitze (Autoklav)	325
14.2.3	Strahlung	327
14.2.4	Gase	327
14.2.5	Kinetik der Keimtötung	328
14.2.6	Bowie-Dick-Test	328
14.2.7	Risikoanalyse für Autoklaven	329
14.2.7.1	Bedienung des Autoklaven	329
14.3	Laborreinigung und -desinfektion	331
14.3.1	Qualifizierung einer Laborspülmaschine	332
14.3.1.1	Desinfektionsprogramm	332
14.3.1.2	Validierung	332
14.4	Entsorgung infektiösen Abfalls	333
14.5	Desinfektionsmaßnahmen bei Havarien	333

15	Prüfungen im Lohnauftrag (<i>outsourcing</i>)	335
16	Mikrobiologische Netzwerke	337
16.1	CPM	
16.2	VAAM-Fachgruppe „Diagnostik und Qualitätssicherung“	
16.3	Unterausschuss Mikrobiologie im VfA	
16.4	DGHM	
17	Adressen	341
	Glossar	349
	Fachliteratur	353
	Index	361