

# Zkušenosti s mikrobiologickým monitorováním čistých prostor pro přípravu radiofarmak ve FN Brno

Jiří Štěpán

KRNM FN Brno a LF MU

ONM Uherskohradištská nemocnice a. s.

39. Pracovní dny radiofarmaceutické sekce, 31. 5. - 2. 6. 2017 - Kroměříž

# Úvod

## Čistý prostor/zóna

- prostor, v němž je řízena koncentrace částic ve vznosu a který je konstruován a využíván takovým způsobem, aby to minimalizovalo zanesení, generování a zadržování částic uvnitř prostoru/zóny a v němž jsou řízeny ostatní relevantní parametry, např. teplota, vlhkost a tlak

## Důvod používání čistých prostorů

- zajištění kvality produktu (zajištění sterility a zabránění kontaminaci částicemi, křížové a mikroorganismy)

# Úvod

- V biočistých prostorech, jako například farmaceutických se musí kontrolovat mikrobiální populace a stejně tak prachové částice, protože prostor prostý bakterií není to samé jako prostor prostý částic.
- Lidé pohybující se ve špatných oděvech pro čisté prostory, jako například pracovní haleny nebo laboratorní pláště vytvářejí průměrně okolo  $2 \times 10^6$  částic  $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{min}$ , okolo 300000 částic  $\geq 5,0 \mu\text{m}/\text{min}$  a okolo 160 částic nesoucích bakterie za minutu.
- Pokud lidé nosí oděvy navržené pro čisté prostory vyrobené z neprodyšné bezprašné látky bude snížení počtu částic  $\geq 0,5 \mu\text{m}$  o 50 %,  $\geq 5,0 \mu\text{m}$  o 88 % a nesoucích bakterie o 92 %.

# Klasifikace čistých prostor

(podle maximálních dovolených počtů částic o uvedené velikosti nebo větších na m<sup>3</sup>)

Třída čistoty	VYR-36, LEK-17	ISO 14644-1 (třída) počet	VYR-36, LEK-17	ISO 14644-1
	Za klidu			
	0,5 μm		5,0 μm	
A	3520	(5) 3520	20	(4,8) 20
B	3520	(5) 3520	29	(5) 29
C	352000	(7) 352000	2900	(7) 2930
D	3520000	(8) 3520000	29000	(8) 29300
Za provozu				
A	3520	(5) 3520	20	(4,8) 20
B	352000	(7) 352000	2900	(7) 2930
C	3520000	(8) 3520000	29000	(8) 29300
D	nedefinováno		nedefinováno	

- VYR-36 Čisté prostory, LEK-17 Příprava sterilních léčivých přípravků v lékárně a zdravotnických zařízeních (pokyny SÚKLu)
- ČSN EN ISO 14644 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí (tech. norma)

# Limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu „za provozu“

Doporuč. limity pro mikrobiologickou kontaminaci (průměrné hodnoty) – VYR-36, LEK-17				
Třída	Vzorkování vzduchu CFU/m <sup>3</sup>	Petriho miska (průměr 90 mm) CFU/4 h (spadové misky mohou být exponovány méně než 4 h)	Kontaktní desky (průměr 55 mm) CFU/deska	Otisk rukavice 5 prstů CFU/rukavice
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

- CFU = Colony Forming Units, česky KTJ = kolonie tvořící jednotky

Srovnáním tabulek vyplývá:

prostory třídy A – aseptické za klidu i za provozu

prostory třídy B – aseptické pouze za klidu, za provozu nejsou aseptické

prostory třídy C – nejsou aseptické ani za klidu

prostory třídy D – nejsou aseptické

# Požadavky na oděvy do čistých prostor

Pokyn pro přípravu LEK-17 má přísnější požadavky než pokyn pro výrobu VYR-32, doplněk 1, verze 1

**Popis oblečení pro jednotlivé třídy čistoty** (VYR-32, doplněk 1, verze 1  
Výroba sterilních léčivých přípravků, LEK-17 Příprava sterilních léčivých přípravků v lékárně a zdravotnických zařízeních)

- **Třída D:** Vlasy a kde je to potřebné i vousy mají být zakryty. Má se používat běžný ochranný oděv a vhodná obuv nebo návleky. Mají být přijata vhodná opatření k vyloučení vnášení kontaminace z vnějšku do čistých prostor.
- **Třída C:** Vlasy a kde je to potřebné i vousy mají být zakryty. Oblečení se sestává z krátkého kabátku a kalhot, nebo z kombinézy, rukávy mají být na zápěstí staženy, kabátek má mít vysoký límec, a na nohou mají být vhodné boty nebo návleky. **VYR-32:** Z oblečení se nemají uvolňovat prakticky žádná vlákna nebo částice. **LEK-17:** Z oblečení se nemají uvolňovat žádná vlákna nebo částice.

# Požadavky na oděvy do čistých prostor

Pokyn pro přípravu LEK-17 má přísnější požadavky než pokyn pro výrobu VYR-32, doplněk 1, verze 1

- **Třída A/B:** Pokrývka hlavy (kukla) má dokonale zakrývat vlasy a kde je to potřebné i vousy a má být zasunuta pod límec kombinézy. Přes tvář má být nasazena maska, bránící uvolňování kapiček. Na ruku mají mít pracovníci vysterilizované, nepráškové gumové nebo plastové rukavice, a na nohou vysterilizovanou nebo vydezinfikovanou obuv nebo návleky. Spodní konce kalhot mají být zasunuty do obuvi nebo návleků a rukávy kombinézy mají být zasunuty do rukavic. Ochranný oblek nemá prakticky uvolňovat žádná vlákna a částice a má zachycovat částice odloučené z povrchu těla.

# Požadavky na oděvy do čistých prostor

Pokyn pro přípravu LEK-17 má přísnější požadavky než pokyn pro výrobu VYR-32, doplněk 1, verze 1

- **VYR-32:** Vnější oblečení nemá být vnášeno do personálních propustí vedoucích do prostor třídy B a C. Pro každého pracovníka v prostorech třídy A/B má být zajištěn čistý sterilní ochranný oděv (sterilizovaný nebo odpovídajícím způsobem sanitovaný) pro každý jednotlivý pracovní vstup do příslušných prostor. Rukavice se mají pravidelně dezinfikovat během pracovní činnosti. Obličejové roušky a rukavice se mají měnit alespoň po každém přerušení pracovního cyklu.
- **LEK-17:** Do personálních propustí vedoucích do třídy čistoty B a C by se nemělo vnášet venkovní oblečení. Pro každého pracovníka má být zajištěn čistý sterilní ochranný oděv pro každý jednotlivý pracovní vstup do těchto prostor. Rukavice se mají pravidelně dezinfikovat během pracovní činnosti. Obličejové roušky a rukavice se mají měnit alespoň při každém přerušení pracovního cyklu.



# Požadavky na oděvy do čistých prostor

Pokyn pro přípravu LEK-17 má přísnější požadavky než pokyn pro výrobu VYR-32, doplněk 1, verze 1

- **Pozn.** LEK-17 vyžaduje použití sterilních oděvů i do nesterilních čistých prostor (C, D) a současně si protiřečí, když tvrdí, že do čistých třídy D má být běžný ochranný oděv a vhodná obuv nebo návleky (které nejsou sterilní) a následně vyžaduje sterilitu bez ohledu na třídu čistoty a totéž se týká frekvence výměny oděvů, kde nerozlišuje pro kterou třídu čistoty je oblek určený a vyžaduje na rozdíl od mezinárodního doporučení, viz dále pro každý vstup nový oblek (VYR-32 jen pro třídu A/B).

# Požadavky na oděvy do čistých prostor

Pokyn pro přípravu LEK-17 má přísnější požadavky než pokyn pro výrobu VYR-32, doplněk 1, verze 1

## Doporučená frekvence výměny oděvů podle IEST-RP-CC-003.3

Třída prostoru	ISO 7 a 8 (C a D)	ISO 6	ISO 5	ISO 5 aseptický (A/B)	ISO 4	ISO 3	ISO 1 a 2
Navržená frekvence výměny	<b>2× týdně</b>	3× týdně	denně	každý vstup	každý vstup	každý vstup	každý vstup

- IEST = Institute of Environmental Sciences and Technology (US-IL), Institut pro environmentální vědy a technologie

# Doporučená četnost mikrobiologického monitoringu

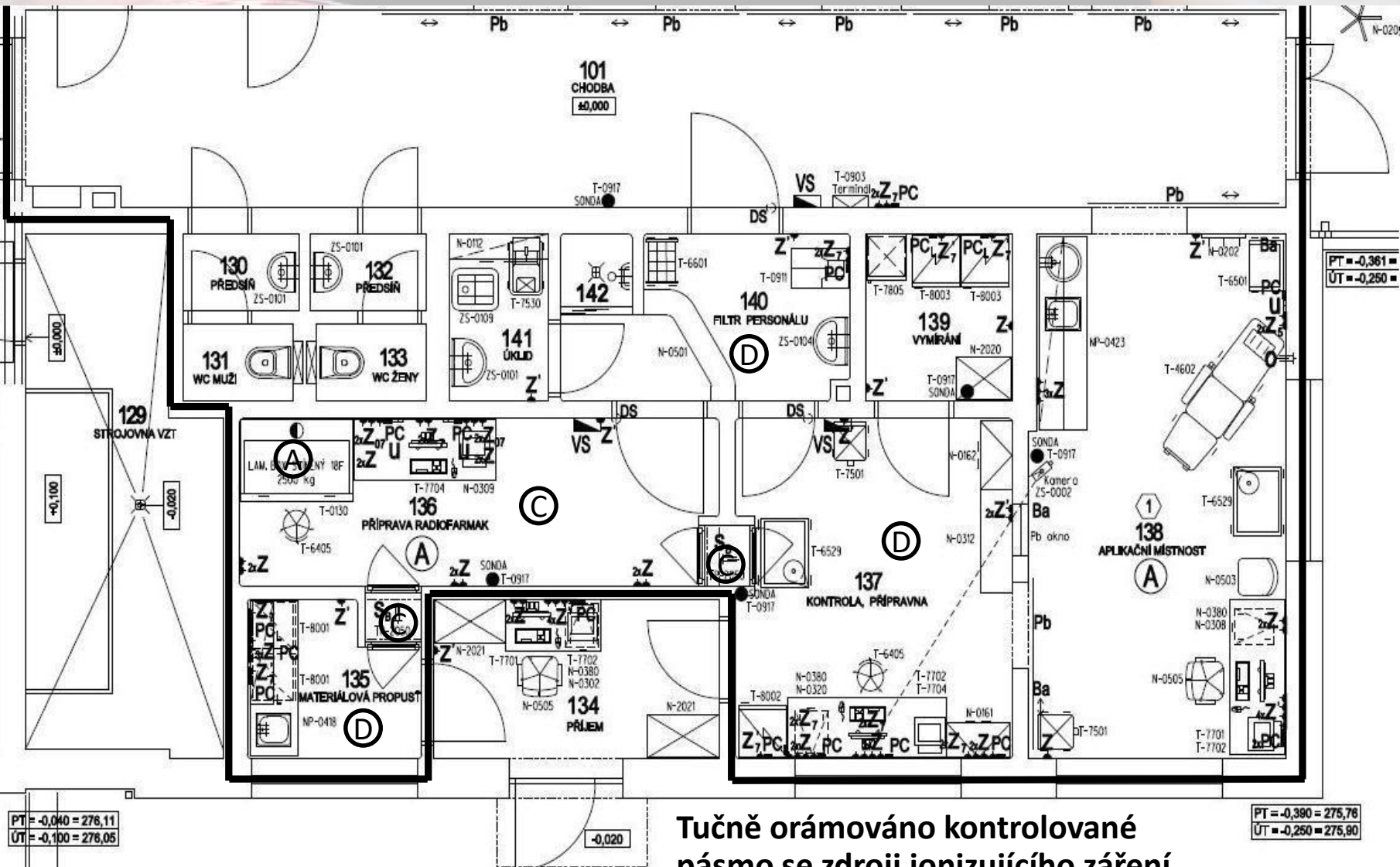
## Doporučená četnost mikrobiologického monitoringu (LEK-17)

	Pracovní prostředí třídy čistoty A	Okolní prostředí
Spadové misky	Při každém pracovním cyklu	1× týdně
Otisky prstů z rukavic	Na konci každého pracovního cyklu	Na konci každého pracovního cyklu
Vzorky z povrchů (tampóny nebo kontaktní destičky)	1× týdně	1× měsíčně
Vzorky aktivního vzduchu	1× za čtvrtletí	1× za čtvrtletí

- Vzhledem k tomu, že se standardně neprovádí zkoušky na mikrobiologickou čistotu konečného léčivého přípravku nebo, že se léčivý přípravek používá ještě dříve, než jsou známy výsledky zkoušek, je mimořádně důležité provádět mikrobiologický monitoring. Jde o potvrzení, že léčivý přípravek pravděpodobně není kontaminován.
- Postupy pro kontrolu přípravy by měly zahrnovat provádění zkoušek sterility konečných produktů ve stanovených intervalech v závislosti na rozsahu a četnosti přípravy.



# Pracoviště přípravy radiofarmak ve FN Brno (Klinika radiologie a nukleární medicíny - KRNM)



KRNM - pracoviště PET-MR - úsek přípravy RF

Tučně orámováno kontrolované pásmo se zdroji ionizujícího záření (nezobrazena patientská část v KP)

# Prováděné mikrobiologické monitorování

## Pracoviště nukleární medicíny

- Spadové misky na 14 vzorkovaných místech 1× za 2 měsíce bez ohledu na třídu čistého prostoru.
- Vzorky z povrchů (tampóny) na několika namátkově zvolených vzorkovacích místech 1× ročně.

## Pracoviště PET-MR

- Spadové misky na 7 vzorkovaných místech 1× za 2 měsíce bez ohledu na třídu čistého prostoru.
- Nové pracoviště, vzorky z povrchů budou zavedeny obdobně jako na pracovišti nukleární medicíny.

# Prováděné mikrobiologické monitorování (ukázka výsledků pro pracoviště nukleární medicíny)

Vzorkované místo	Číslo misky	Třída čistého prostoru	Limit CFU/4 h na Petriho misce o průměru 90 mm	Doba expozice v hodinách	Nalezený počet kolonií	Přepočet na dobu expozice 4 h	Vyhovující výsledek
Mat. propust' do apl. místnosti	M1	C	50	2	1	2	PRAVDA
Stůl naproti LFC Tema Sinergie	M2	C	50	2	1	2	PRAVDA
Pojízdný stolek s detektorem radiace	M3	C	50	2	0	0	PRAVDA
Stůl vedle LFC Labox	M4	C	50	2	0	0	PRAVDA
Mat. propust' do kontrolní lab.	M5	C	50	2	0	0	PRAVDA
LFC Tema Sinergie	M6	A	0	2	0	0	PRAVDA
LFC Labox	M7	A	0	2	0	0	PRAVDA
Mat. propust' do úklidové místnosti	M8	C	50	2	0	0	PRAVDA
Mat. propust' do pomocné místnosti	M9	C	50	2	2	4	PRAVDA
Mat. propust' na chodbu	M10	D	100	2	9	18	PRAVDA
Pomocná místnost	M11	D	100	2	2	4	PRAVDA
Personální propust'	M12	C/D	50	2	9	18	PRAVDA
Úklidová místnost	M13	D	100	2	0	0	PRAVDA
Kontrolní laboratoř	M14	D	100	2	1	2	PRAVDA

- vše vyhovuje (vyhovující výsledek = PRAVDA na všech vzorkovaných místech)

# Prováděné mikrobiologické monitorování (ukázka výsledků pro pracoviště PET-MR)

Vzorkované místo	Číslo misky	Třída čistého prostoru dle projektu	Limit CFU/4 h na Petriho misce o průměru 90 mm	Doba expozice v hodinách	Nalezený počet kolonií	Přepočtená na dobu expozice 4 h	Vyhovující výsledek
M1 – materiálová propust' (135 – plánek, B.Q.1.76 – na dveřích)	M1	D	100	2	2	4	PRAVDA
M2 – materiálová propust' do přípravy radiofarmak	M2	C	50	2	0	0	PRAVDA
M3 – stůl vedle laminárního boxu (136 – plánek, B.Q.1.75 – na dveřích)	M3	C	50	2	1	2	PRAVDA
M4 – laminární box v přípravě radiofarmak	M4	A	0	2	1	2	NEPRAVDA
M5 – materiálová propust' do místností Kontrola, přípravna	M5	C	50	2	0	0	PRAVDA
M6 – místnost Kontrola, přípravna (137 – plánek, B.Q.1.78 – na dveřích)	M6	D	100	2	26	52	PRAVDA
M7 – filtr personálu (140 – plánek, B.Q.1.72 – na dveřích)	M7	D	100	2	6	12	PRAVDA

- 1 místo nevyhovující = NEPRAVDA – pro toto místo se provede v nejbližším možném termínu opravné vzorkování, viz níže, kde už je vyhovující výsledek = PRAVDA

Vzorkované místo	Číslo misky	Třída čistého prostoru dle projektu	Limit CFU/4 h na Petriho misce o průměru 90 mm	Doba expozice v hodinách	Nalezený počet kolonií	Přepočtená na dobu expozice 4 h	Vyhovující výsledek
M4 – laminární box v přípravě radiofarmak	M4	A	0	2	0	0	PRAVDA



# Zkušenosti s dlouhodobým mikrobiologickým monitorováním

## Pracoviště nukleární medicíny

- Provádí se od února 2011 po zbudování čistých prostor.
- Z celkem 37 vzorkování po 14 miskách (518 vzorků) nevyhovělo 8 vzorků (1,5 %, jednalo se o vzorky z laminárních boxů).
- Opakované odběry vždy vyšly v pořádku vyhovující. Patrně mohlo dojít k chybě při odběru, popř. při zpracování vzorku, protože naopak vycházely sterilní misky i v prostorech třídy čistoty C.

# Zkušenosti s dlouhodobým mikrobiologickým monitorováním

- Oddělení kontroly infekcí a nemocniční hygieny FN Brno provádí 1× ročně odběry vzorků před zahájením provozu, stěrovou metodou s kvalitativním hodnocením nálezů – uvede buď „bez nálezu“ nebo příslušný mikroorganismus např. *Micrococcus luteus*, ale bez uvedení počtu.
- Namátkově provádí odběry na celém pracovišti (nejen přípravy radiofarmak).
- Nejdůležitější jsou výsledky ve 2 laminárních boxech, které byly za několik posledních let bez nálezů.
- Všechny odběry byly hodnoceny (i s případným výskytem mikroorganismu) s ohledem na místo odběru jako vyhovující.

# Zkušenosti s dlouhodobým mikrobiologickým monitorováním

## Pracoviště PET-MR

- Provádí se od ledna 2017 po rozběhnutí provozu nového pracoviště.
- Z celkem 2 vzorkování po 7 miskách (14 vzorků) nevyhověly 2 vzorky (14 %, jednalo se o vzorky z laminárního boxu).
- Opakované odběry vždy vyšly v pořádku vyhovující. Patrně mohlo dojít k chybě při odběru, popř. při zpracování vzorku, protože vycházely sterilní misky i v prostorech třídy čistoty C.
- Odběry vzorků stěrovou metodou budou zavedeny.

# Závěr

- Dlouhodobé výsledky pro pracoviště nukleární medicíny ukazují, že vzhledem k téměř 100% úspěšnosti není důvod frekvenci provádění vzdušného odkryvu (spadové misky) 1× za 2 měsíce měnit.
- Dlouhodobé výsledky pro pracoviště PET-MR zatím nejsou k dispozici a po roce se bude moci hodnotit statisticky významný soubor.
- Bude vhodné zavést zkoušky sterility konečných produktů (radiofarmak) rovněž ve 2měsíčních intervalech, např. 3 vzorky z pracoviště nukleární medicíny a 1 vzorek z pracoviště PET-MR.