

Bakterienrückhalt – Schutzkleidungsmaterialien für die Zytostatika-Zubereitung im Test

Von Lena Jedamski, Maike Dieckhoff und Michael Klein, Elmshorn

► Einleitung

Schutzkleidung für die aseptische Zubereitung von Zytostatika und anderen CMR-Arzneimitteln muss einer Vielzahl von Anforderungen gerecht werden. Die wichtigsten sind ihre Funktion als persönliche Schutzausrüstung (Arbeitsschutz) sowie die Reinhaltung des Produktes und des umgebenden Herstellungsbereichs (Produktschutz). Vor allem Keime, die – an Partikeln haftend – in großer Menge vom Träger abgegeben werden, müssen durch das Schutzkleidungsmaterial sicher zurückgehalten werden.

Als Maß für die Penetrationsfestigkeit kann die sogenannte *bakterielle Filterleistung* (*Bacterial Filtration Efficiency, BFE*) dienen, die als prozentualer Anteil an zurückgehaltenen Testkeimen definiert ist. Das Verfahren zur Ermittlung dieses Wertes wird in internationalen Normen beschrieben [1, 2]. Die Umsetzung erfordert einen hohen apparativen Aufwand sowie den Einsatz von Mikroorganismen der Risikogruppe 2, weshalb entsprechende Tests nur in spezialisierten Laboratorien durchgeführt werden können.

Wir haben versucht, die Prüfbedingungen soweit zu vereinfachen, dass sich auch mit üblicher Laborausrüstung und nicht-pathogenen Prüfkeimen aussagekräftige Ergebnisse zum Bakterienrückhalt erzielen lassen. Ziel war es außerdem, unterschiedlich ausgestattete Bereiche von häufig in der Zytostatika-Zubereitung eingesetzten Schutzkleidungsstücken sowie Ein- und Mehrweg-Schutzbekleidung exemplarisch zu vergleichen.

► Prüfprinzip

Das Prinzip der normgerechten BFE-Prüfung beruht darauf, in reproduzierbarer Weise eine Suspension mit definierter Testkeimkonzentration (*bakterielle Belastungssubstanz*) zu vernebeln und als Aerosol auf das Schutzmaterial (*Probekörper*) einwirken zu lassen. Koloniebildende Einheiten (*KBE*), die das Material durchdringen, gelangen auf Nährböden, die anschließend bebrütet und ausgezählt werden. Indem die so ermittelte Zahl zur

Anzahl der in positiven Kontrollläufen (ohne Prüfkörper) ermittelten KBE ins Verhältnis gesetzt wird, lässt sich der jeweilige BFE-Wert berechnen.

Als mikrobieller Probenehmer ist bei normgerechter Durchführung ein sechsstufiges Kaskaden-Aufprallgerät (Andersen-Kaskadensammler) vorgesehen, das es

ermöglicht, die penetrierten Partikel entsprechend ihrer Größe zu fraktionieren.

Für die Bestimmung des BFE-Wertes kann diese Eigenschaft jedoch unberücksichtigt bleiben, da nur die mittlere Gesamtzahl an abgeschiedenen KBE in die Berechnung eingeht. Es liegt also nahe, das Verfahren an dieser Stelle zu vereinfachen, ohne das Prüfprinzip zu verletzen. Auch ein Austausch der pathogenen Prüfkeime gegen solche ohne Gefährdungspotenzial sollte im Rahmen einer rein vergleichenden Untersuchung keinen Einfluss haben, sofern die Größe der eingesetzten Mikroorganismen im repräsentativen Bereich von ca. 0,2–2 µm liegt.

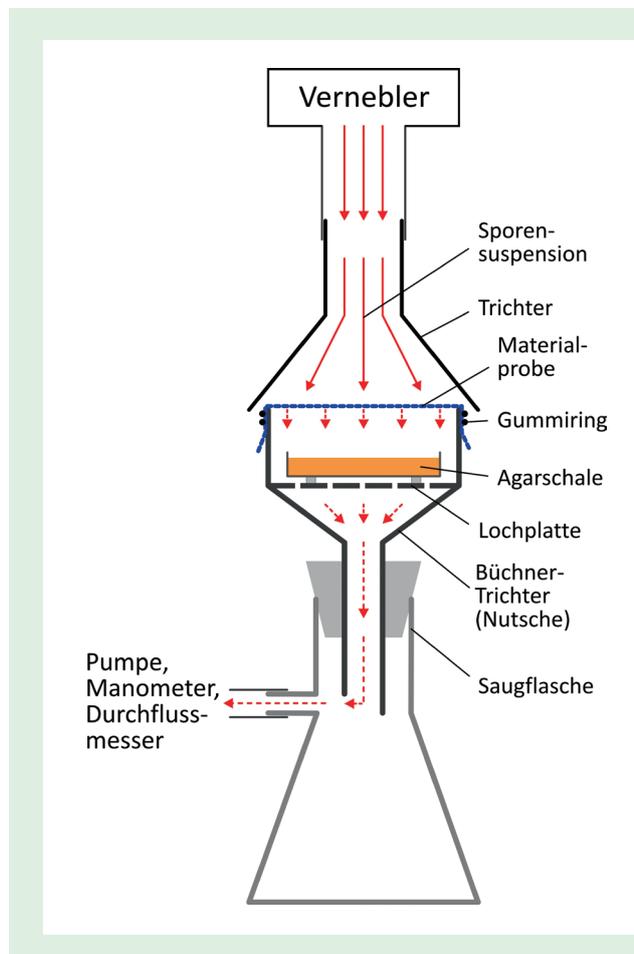


Abb. 1:
Schematischer Aufbau der Prüfeinrichtung



Abb. 2: Prüfeinrichtung mit Vernebler, Büchner-Trichter und Saugflasche

► Materialien und Prüfaufbau

Als bakterielle Belastungssubstanz kamen Suspensionen mit Sporen von *Bacillus subtilis* zum Einsatz. Um die Bedingungen für eine möglichst klare Differenzierung zwischen verschiedenen Materialproben zu ermitteln, benutzten wir zwei Sporensuspensionen mit unterschiedlichen Konzentrationen (SpoSu 1: $6,2 \times 10^3$ KBE/ml, SpoSu 2: $4,6 \times 10^5$ KBE/ml).

Zur Erzeugung eines Aerosols aus diesen Suspensionen wurde ein Collision-Vernebler eingesetzt (6-Jet-Modell, Luft-Flussrate: 10,6 l/min). Die mit diesem Gerät erzeugte mittlere Teilchengröße (MMAD) liegt mit $2,5 \mu\text{m}$ etwas unterhalb der normativen Anforderung ($3,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$). Penetrierte Keime wurden auf TSA-Nährböden gesammelt.

Unter unseren Testbedingungen konnte für luftdurchlässiges Material eine gleichbleibende Luftdurchflussrate erzielt werden ($1,1 \pm 0,2$ l/min). Mit luftundurchlässigen Materialien konnten wir keinen Durchfluss

registrieren, so dass ein leckagefreier Sitz der Materialproben angenommen werden konnte.

Ein Belastungszyklus bestand aus einer einminütigen Verneblungsphase und einer anschließenden ebenfalls einminütigen Ruhephase, in der bei anhaltendem Unterdruck (15 mbar) keine weiteren Keime freigesetzt wurden (Versuchsreihen 1 und 3). Für den Vergleich von Ein- und Mehrweg-Schutzmaterialien wurde darüber hinaus unter Nutzung von SpoSu 1 die Verneblungsdauer auf insgesamt 10 min (2 x 5min mit dazwischenliegender einminütiger Pause) erhöht (Versuchsreihe 2). Die bakterielle Belastung bei unserer Vernebelungsrate lag im Bereich der normativen Anforderungen ($2,2 \pm 0,5 \times 10^3$ KBE) bzw. um etwa ein oder zwei Größenordnungen darüber.

Mithilfe des beschriebenen Prüfaufbaus (Abb. 1–3) wurden verschiedene Probekörper aus beschichtetem und unbeschichtetem Einwegmaterial (Armstulpen, Kittel und Overalls aus mit PE-Folie beschichtetem

PP-Vlies und eine Kopfhaube aus PE-Vlies) sowie Mehrweg-Schutzkleidung (Überstiefel aus unbeschichtetem Polyestergerewebe) hinsichtlich ihrer bakteriellen Filterleistung untersucht.

Entsprechend dem Schutzziel – nämlich dem Rückhalt der vom Träger freigesetzten Keime – wurde die Innenseite des Schutzmaterials dem Prüfaerosol zugewandt. Allerdings konnte in Vorversuchen gezeigt werden, dass die Ausrichtung des verwendeten Materials keinen Einfluss auf die Durchdringung hatte. Sofern die Einwegkleidung unterschiedlich ausgerüstete Bereiche aufwies (mit und ohne Kunststoffbeschichtung), wurden alle Bereiche getestet. Die Prüfungen erfolgten mit doppelter Wiederholung ($n=3$), wobei Proben aus Einwegkleidung unterschiedlichen Mustern entnommen wurden. Proben aus Mehrwegmaterial wurden vor der Untersuchung bei 121°C autoklaviert. Zur Validierung des Verfahrens wurden Prüfzyklen mit undurchlässiger Kunststoffolie (Negativ-Kontrolle) bzw. ohne Probekörper (Positiv-Kontrolle) durchgeführt ($n \geq 3$). Um mikrobielle Fremdeinflüsse zu minimieren, aber auch um die während eines Verneblungszyklus austretenden Keime aufzufangen, erfolgte der Versuchsaufbau unter einer Sicherheitswerkbank.

Die Nährböden wurden nach dem Test über 24–28 h bei 37°C inkubiert und anschließend ausgezählt. Da die Keimzahl in den Positiv-Kontrollen sowohl nach zehnmütiger Verneblung von SpoSu 1 als auch nach einminütiger Verneblung von SpoSu 2 nicht mehr eindeutig bestimmt werden konnte (>300 Kolonien pro Platte), war die Berechnung eines BFE-Wertes mit diesen Ansätzen nicht möglich. Dennoch ließ die Anzahl nicht zurückgehaltener Keime auch unter diesen Bedingungen einen direkten Vergleich der geprüften Materialien zu.

► Ergebnisse

Die Keimdurchdringung unter normäquivalenter bakterieller Belastung ($2,3 \times 10^3$ KBE, SpoSu 1, 1 min) war bei allen geprüften Materialien gering (Tab. 1). Der aus diesen Ergebnissen berechnete BFE-Wert betrug 85% für unbeschichtetes Kittelmaterial sowie mindestens 99% für die übrigen geprüften

Schutzmaterialien. Innerhalb der verbleibenden Spanne von lediglich 1 % ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Materialvarianten erkennen.

Zur Verbesserung der Differenzierung wurde in einer *zweiten Versuchsreihe* die bakterielle Belastung heraufgesetzt (2,3 x 10⁴ KBE, SpoSu 1, 10 min). Unter diesen Bedingungen nahm die Zahl der Kolonien auf den Positiv-Kontrollen auf über 300 pro Platte zu, sodass ihre Zahl nicht mehr ausgezählt werden konnte. Die Tests erfolgten mit Proben aus Kopfhäuben- (Einweg)- und Überschuhmaterial (Mehrweg). Während vom Einwegmaterial alle KBE zurückgehalten werden konnten, wurde das Mehrwegmaterial im Mittel von 10 KBE durchdrungen (Tab. 1).

Um das bakterielle Schutzpotenzial der Materialien noch deutlicher darzustellen, wurde in einer *dritten Versuchsreihe* die bakterielle Belastung weiter erhöht (1,7 x 10⁵ KBE, SpoSu 2, 1 min). Auch unter diesen Bedingungen konnte für die Negativ-Kontrollen keine Durchdringung festgestellt werden, während die Zahl der Kolonien auf den Positiv-Kontrollen wieder die zählbare Grenze von 300 KBE pro Platte überstieg. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse. Unterschiede in der Leistungsfähigkeit der Materialien wurden nun klar erkennbar: Proben aus unbeschichteten Kittelbereichen wurden von durchschnittlich 253 KBE durchdrungen. Entsprechende Proben aus unbeschichteten Bereichen des Overalls, erwiesen sich ebenfalls als permeabel, auch wenn das Rückhaltevermögen deutlich höher ausfiel als das ihrer Kittel-Pendants (6 KBE). Mit durchschnittlich maximal 2 hindurchgetretenen KBE wiesen Proben aus den Schutzbereichen der Einwegprodukte die höchste bakterielle Filterleistung auf. Das Rückhaltevermögen von Proben aus Mehrwegmaterial (durchschnittlich 23 KBE) zeigte sich schwächer als das der meisten Einwegmaterialien.

► **Diskussion und Fazit**

Die entsprechenden Prüfnormen verlangen zur Einhaltung definierter Bedingungen einen hohen technischen Aufwand. Dieser kann, wie die Versuche zeigen, in wesent-

Tab. 1: Bakteriell Rückhaltevermögen von Schutzkleidungsmaterial

Schutzkleidungsmaterial	Penetrierte Bakterien (KBEs pro Platte ± STABW)	BFE
Versuchsreihe 1: bakterielle Belastung 2,3 x 10⁴ KBE (SpoSu 1, 10 min)		
Einweg		
Kittel (unbeschichteter Bereich)	12 ± 7	85 %
Kittel (beschichteter Bereich)	0 ± 0	100 %
Overall (unbeschichteter Bereich)	1 ± 1	99 %
Overall (beschichteter Bereich)	1 ± 1	99 %
Armstulpen (beschichtet)	0 ± 0	100 %
Kopfhäube (unbeschichtet)	0 ± 0	100 %
Mehrweg		
Überstiefel (unbeschichtet)	1 ± 1	99 %
Versuchsreihe 2: bakterielle Belastung 2,3 x 10⁴ KBE (SpoSu 1, 10 min)		
Einweg		
Kopfhäube (unbeschichtet)	0 ± 0	
Mehrweg		
Überstiefel (unbeschichtet)	10 ± 6	
Versuchsreihe 3: bakterielle Belastung 1,7 x 10⁵ KBE (SpoSu 2, 1 min)		
Einweg		
Kittel (unbeschichteter Bereich)	253 ± 141	
Kittel (beschichteter Bereich)	0 ± 1	
Overall (unbeschichteter Bereich)	6 ± 5	
Overall (beschichteter Bereich)	2 ± 2	
Armstulpen (beschichtet)	1 ± 1	
Kopfhäube (unbeschichtet)	0 ± 0	
Mehrweg		
Überstiefel (unbeschichtet)	23 ± 13	

chen Punkten verringert werden, ohne dass die Ergebnisse an Aussagekraft verlieren.

Als Beschränkung des hier vorgestellten Verfahrens betrachten wir die hohe Keimzahl auf den Positiv-Kulturen nach Erhöhung der bakteriellen Belastung. Diese war erforderlich, um ein ausreichend differenziertes Prüfergebnis zu erzielen. Auch wenn die Konstanz der Ergebnisse einen Vergleich der Materialien bereits anhand der absoluten Zahl nicht zurückgehaltener KBE erlaubt, wird es das Ziel weiterer Untersuchungen sein, mit auszählbaren Positiv-Kontrollen einen BFE-Wert berechnen zu können. Wir sehen die Lösung in einer weiteren Anpassung der bakteriellen

Belastung und/oder der Verwendung größerer Kulturschalen.

Mit den hier vorgestellten Versuchen wurden *zwei Ziele* verfolgt:

1. Zum einen sollte – ausgehend vom bereits existierenden Normprüfverfahren – ein Testsystem erarbeitet werden, das eine einfache aber dennoch verlässliche Bewertung der bakteriellen Filterleistung von Schutzmaterialien ermöglicht. Dabei kam es vor allem darauf an, das Prüfprinzip beizubehalten. Dies besteht darin, die Materialprobe einseitig mit einem keimhaltigen Aerosol zu beaufschlagen und dabei nicht zurückgehaltene KBE auf der im Unterdruck

befindlichen Gegenseite zu sammeln und auszuzählen. Wichtig sind hierbei nicht nur gleichbleibende Bedingungen bei der Aerosolerzeugung, sondern auch reproduzierbare Verhältnisse auf der Sammelseite (Unterdruck, Luft-Durchflussrate).

2. Zum anderen sollten Schutzmaterialien, wie sie für die aseptische Zubereitung von klassischen Zytostatika und anderen CMR-Arzneimitteln zum Einsatz kommen, im Hinblick auf ihr Filtrationsvermögen bewertet bzw. verglichen werden. Im Mittelpunkt der Erörterungen steht dabei die Frage, ob die geforderten Schutzziele besser mit Ein- oder Mehrwegbekleidung erreicht werden können. Nach wie vor gibt es für die Zubereitung von CMR-Arzneimitteln nur wenig Schutzkleidung, die alle (gesetzlichen) Anforderungen an den Personen- und Produktschutz erfüllt [3]. Die Bevorzugung der einen oder anderen Variante hängt deshalb stark davon ab, welches Schutzziel als vorrangig angesehen wird. So gilt unter dem Blickwinkel des Personenschutzes Einwegbekleidung als beste Wahl, da die verwendeten Vliesstoffe – häufig in Kombination mit flächigen Kunststoffbeschichtungen – einen ausreichenden Chemikalienschutz bieten und stets im unbeeinträchtigten Neuzustand eingesetzt werden können. Umgekehrt wird im Hinblick auf ein reines Arbeitsumfeld (Produktschutz) bevorzugt Mehrwegbekleidung eingesetzt, da mit langlebigen Geweben und speziellen Aufbereitungsverfahren eine geringe Partikelfreisetzung durch das Personal erreicht werden soll. Während es also bei Einwegbekleidung – zumindest für exponierte Bereiche wie Ärmel und Brust – um möglichst hohe Dichtheit geht, kommt es bei Mehrwegkleidung in erster Linie auf die Filterwirkung und den Partikelrückhalt an.

Unsere hier vorgestellten exemplarischen Untersuchungen zeigen, dass es zwischen den verschiedenen Schutzmaterialien deutliche Unterschiede hinsichtlich der wichtigen Eigenschaft des Bakterienrückhalts gibt.

Auffallend ist die relativ niedrige Filterleistung des getesteten Mehrwegmaterials,

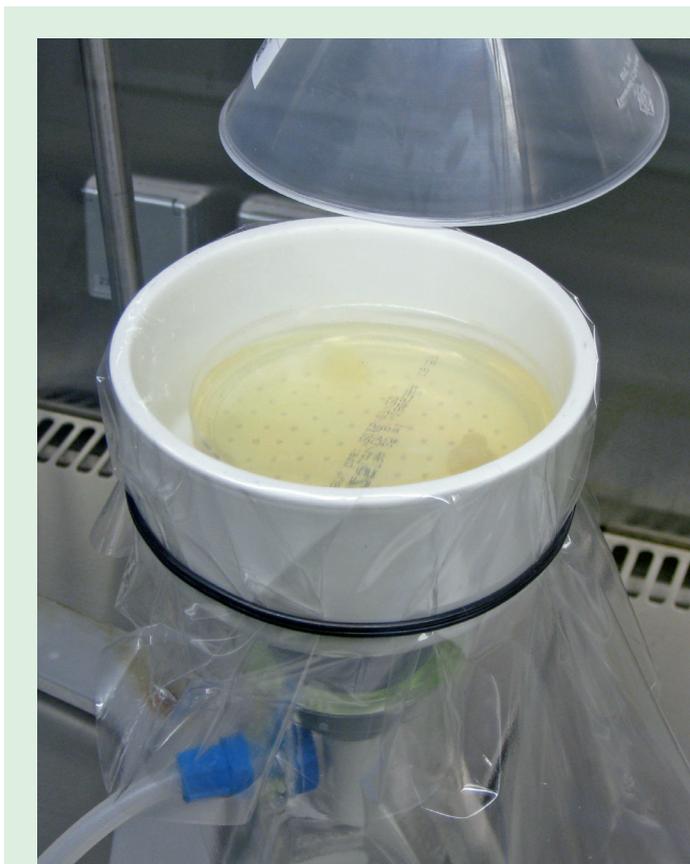


Abb. 3: Agarplatte im Büchner-Trichter

die – von einer Ausnahme abgesehen – unter der aller Einwegmaterialien liegt; allerdings wurde nur ein Mehrwegmaterial untersucht.

Die beschichteten und aus speziellem PE-Vlies gefertigten Einwegmaterialien

konnten dagegen eine Keimpenetration wirkungsvoll verhindern. Da beschichtetes Einweg-Schutzmaterial keinen Luftaustausch zulässt, werden daraus gefertigte Kleidungsstücke in Bereichen mit geringer Kontaminationswahrscheinlichkeit

Tab. 2: Bakterielle Durchdringung eines Overalls aus verschiedenen Schutzkleidungsmaterialien (Abschätzung)

Hypothetischer Overall bestehend aus:	Gesamtdurchdringung ¹ (KBEs / min)
Einweg	
Schutzkittelmaterial (PP-Vlies/PE-Folie) (75 % beschichtet, 25 % unbeschichtet)	16178
Overalmaterial (PP-Vlies/PE-Folie) (75 % beschichtet, 25 % unbeschichtet)	679
Kopfhautmaterial (PE-Vlies) (100 % unbeschichtet)	0
Mehrweg	
Überstiefelmaterial (Polyestergewebe) (100 % unbeschichtet)	5775

¹ berechnet für eine bakterielle Belastung von $1,7 \times 10^5$ KBEs/min

(z. B. Rücken- oder Achselbereich) häufig mit unbeschichteten und daher luftdurchlässigen Vliesmaterialien ausgestattet. Unsere Untersuchungen machen deutlich, dass die Leistungsbewertung eines Schutzkleidungsstückes auch und gerade die Filterleistung dieser „nicht-schützenden“ Bereiche einfließen muss. So erwies sich das geprüfte, unbeschichtete Material, das den Kitteln entnommen wurde, als hochgradig keimdurchlässig. Funktionsgleiches Material aus den Testoveralls stellte dagegen eine relativ hohe Penetrationsbarriere dar.

Wie sich die Filterleistung der unterschiedlichen Bereiche in Summe auf den Keimrückhalt auswirken kann, soll die in Tabelle 2 dargestellte Abschätzung deutlich machen, für die ein hypothetischer Overall aus den geprüften Materialien bzw. Materialkombinationen „erstellt“ wurde. Für die Berechnung wurde angenommen, dass der Overall eine Oberfläche von 20.000 cm² aufweist. Sofern zwei Materialien zum Einsatz kommen, sollten 15 000 cm² (75%) aus luftundurchlässigem, beschichtetem, der Rest (25%) aus luftdurchlässigem, unbeschichtetem Material bestehen.

Unter Berücksichtigung der Durchdringungsraten, wie sie aus der dritten Versuchsreihe abgeleitet werden können, ergibt sich eine Gesamtdurchdringung, die den Vergleich ganzer Schutzkleidungsstücke erlaubt: Aufgrund des vollständigen Keimrückhalts durch das Polyethylen-Vlies (Einmal-Kopfhaube) würde ein Overall aus diesem Material insgesamt keine Keime passieren lassen.

Als Beispiel für eine gelungene Materialkombination stellt sich der – in dieser Form tatsächlich existierende – Einmal-Overall aus einer Kombination von beschichtetem und unbeschichtetem Gewebe dar. Diese Einstufung bezieht sich ausschließlich auf die geprüften Materialeigenschaften. Unberücksichtigt bleibt, wie sich die verwendeten Materialien auf eine Keimfreisetzung durch Arm-, Bein- und Kopfföffnungen auswirken (Pumpeffekt).

Die zunehmend als Standard angesehene Zubereitung von CMR-Arzneimitteln unter „A-in-B“-Bedingungen nach Apotheken-

Fasst man die Ergebnisse zusammen, so lassen sich folgende Aussagen treffen:

1. Einwegmaterial kann eine hohe bakterielle Filterleistung aufweisen. Bei der Bewertung sind allerdings alle für das Schutzkleidungsstück verarbeiteten Materialien zu betrachten. Die Bestimmung bzw. Angabe eines BFE-Wertes lediglich für das dichtere, „schützende“ Material ist nicht ausreichend.
2. Auch wenn häufig die Filterwirkung als Begründung für den Einsatz von Mehrwegkleidung angeführt wird, bedeutet dies nicht in jedem Fall, dass das verwendete Material ein hohes Rückhaltevermögen für Bakterien aufweist. Der Hersteller sollte die Filterleistung durch entsprechende Tests belegen und die Ergebnisse dem Nutzer zur Verfügung stellen.

betriebsordnung [4] bzw. GMP-Leitfaden [5] erfordert nicht nur technische und organisatorische Maßnahmen, sondern auch ein geeignetes PSA-Konzept. Dabei spielt die Entscheidung für Einweg- oder Mehrwegschutzkleidung eine wichtige Rolle.

Unser Testsystem kann eine normgerechte Prüfung nicht ersetzen, erlaubt es aber, Stärken und Schwächen von Schutzkleidungsmaterialien im Hinblick auf die Penetration durch Bakterien aufzuzeigen und damit Hersteller und Nutzer für dieses wichtige Thema zu sensibilisieren.

LITERATUR

- (1) DIN EN 14683:2014-07. Medizinische Gesichtsmasken - Anforderungen und Prüfverfahren. Beuth Verlag, Berlin. 2014.

- (2) ASTM F2101 - 14. Standard Test Method for Evaluating the Bacterial Filtration Efficiency (BFE) of Medical Face Mask Materials, Using a Biological Aerosol of Staphylococcus aureus. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA. 2014.
- (3) Klein, M. (2012): Personenschutz durch Reinraumkleidung in der Zytostatika-Herstellung. Pharm. Ind. 74(11): 1774-1780.
- (4) Verordnung über den Betrieb von Apotheken (Apothekenbetriebsordnung - ApBetrO). Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz. https://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/apobetro_1987/gesamt.pdf. (Letzter Zugriff: 06.09.2016).
- (5) Anhang 1 zum EG-Leitfaden der Guten Herstellungspraxis. Bundesministeriums für Gesundheit. http://www.bmg.bund.de/fileadmin/redaktion/pdf_gesetze/bekanntmachungen/Anhang-1-GMP-Leitfaden.pdf. (Letzter Zugriff: 06.09.2016).

Mündliche Gruppen-Prüfung im Rahmen der PTA-Weiterqualifizierung: „PTA Onkologie (DGOP)“

Folgende PTAs haben diese Prüfung bestanden:

- am 9. September 2016
Brachmann, Andreas/München
Dillinger, Cornelia/Gröbenzell
Fischer, Jakob/Loiching
Hagin, Elisa/München
Hecke, Ulrike/Karlsruhe
Jost, Katharina/Waldbrunn
Menning, Judith/München

- Mildenberger, Sandra/Augsburg
Stöckl, Sabrina/Gröbenzell
Thelen, Sigrid/Köln
Ungar, Harriet/Ravensburg

- am 18. September 2016
Cziommer, Santina/Asendorf
Lopez Davila, Sonja/Hannover

