



*schnell und zuverlässig*

Sonderausgabe Arzneimittel Nr. 2 / April 2017

## Beurteilung von kritischen Mikroorganismen in nicht-sterilen pharmazeutischen Produkten (= objectionable microorganisms) - Teil 2



Sehr geehrte Damen und Herren,

in diesem Newsletter wird die Beurteilung von kritischen Mikroorganismen in nicht-sterilen pharmazeutischen Produkten anhand eines Beispiels durch Dr. Marcel Goverde von MGP Consulting GmbH beschrieben.

Herr Dr. Goverde konnte etliche Jahre mikrobiologische Erfahrung in der Industrie sammeln. Sein Unternehmen MGP Consulting ([www.mgp-consulting.ch](http://www.mgp-consulting.ch)) ist beratend an der Seite von Arzneimittelunternehmen tätig (z.B. im Rahmen von mikrobiologischen Fragestellungen,

### INHALT

- Einleitung
- Ergebnisse der Freigabeuntersuchungen
- Beurteilung der Ergebnisse
- Zusammenfassende Bewertung
- Abkürzungen
- Literatur

Wir wünschen Ihnen eine informative Lektüre und freuen uns auf Fragen bzw. Rückmeldungen Ihrerseits.

Freundliche Grüße



Dipl. Ing. Joelle Nussbaum  
Leiterin Kundenbetreuung

## Einleitung

Im ersten Teil des Arzneimittelnewsletters haben wir die Beurteilung kritischer Mikroorganismen vorgestellt ([BAV Newsletter Sonderausgabe Arzneimittel, 2016](#)). Es wurde dargestellt, dass die gefundene Isolate bei der Prüfung nicht-steriler Produkte auf ihr Gefährdungspotenzial für das Produkt und den Patienten beurteilt werden sollten. In diesem Newsletter finden Sie ein praktisches Beispiel. Es handelt sich hierbei um ein flüssiges orales Produkt (Hustensirup) als Mehrfachdosis, bei welchem in der Prüfung auf Gesamtkeimzahl *Bacillus thuringiensis* gefunden wurde.

## 1. Ergebnisse der Freigabeuntersuchungen

Produktname: Hustensaft  
Chargennummer: 4570-16  
Analysendatum: 25. Oktober 2016  
Certificate of Analysis: BAV No. 12345678

Tabelle 1: Ergebnisse

Test:	Resultat	Spezifikation
Total aerobic microbial count (TAMC)	1 KBE/ml Detektionsgrenze der Methode: 1 KBE/ml	10 <sup>2</sup> KBE/ml
Total combined yeast/molds count (TYMC)	<1 KBE/ml Detektionsgrenze der Methode: 1 KBE/ml	10 <sup>1</sup> KBE/ml
Specified micro-organism: <i>Escherichia coli</i>	Abwesend in 1 ml	Abwesenheit von <i>Escherichia coli</i> in 1 ml
Liegt ein OOS oder OOE vor?	<input type="checkbox"/> Ja <input checked="" type="checkbox"/> Nein	Wenn JA, dann Angabe der OOS/OOE-Nummer: N/A

Identifizierung der Mikroorganismen: *Bacillus thuringiensis*

## 2. Beurteilung der Ergebnisse

### 2.1. Charakterisierung der Mikroorganismen

Die Vertreter der Gattung *Bacillus* gehören zur Familie der Bacillaceae, welche normalerweise gram-positive, aerobe, sporenbildende Stäbchenbakterien sind. Gemäss Versalovic et al. (2011) sind bis 2011 insgesamt 162 Arten in der Gattung *Bacillus* beschrieben worden.

Vertreter der Gattung *Bacillus* werden meist aus dem Boden oder der Umgebung isoliert, können aber auch im Wasser, der Nahrung oder in klinischen Befunden gefunden werden. Die meisten Arten leben saprophytisch im Boden, kommen ubiquitär vor und werden durch den Wind über weite Strecken verbreitet. Der grösste Teil der *Bacillus* Arten haben nur ein sehr geringes oder kein human-pathogenes Potential und sind nur in seltenen Fällen mit menschlichen oder tierischen Krankheiten assoziiert. Grundsätzliche Ausnahmen sind *Bacillus anthracis* (Anthrax), *B. cereus*, *B. licheniformis* und *B. pumilus* (Nahrungsmittelvergiftungen und opportunistische Infektionen), und *B. thuringiensis* (pathogen in Invertebraten). Bezüglich der Nahrungsmittelvergiftung muss jedoch eine sehr hohe Zellzahl vorhanden sein, damit ein humanes Risiko besteht; gemäss FDA (2012) liegt dieser Wert bei *B. cereus* bei ca.  $10^6$  KBE/g. Dank ihrer Fähigkeit zur Endosporen-Bildung, können die Vertreter der Gattung *Bacillus* extremste Bedingungen (Austrocknung, Hitze, Desinfektion, etc.) unbeschadet überdauern. Gerade in getrockneter Nahrung (z.B. Milchpulver, Gewürze) kommen häufig hohe Zahlen von *Bacillus* Sporen vor, welche dann bei der Zugabe von Wasser auskeimen und sich vermehren können. Dadurch kann es zum Verderb oder Nahrungsmittelvergiftung kommen (Bergey's Manual 2009, Vol. 3, Versalovic et al. 2011).

Im vorliegenden Fall wurde *Bacillus thuringiensis* identifiziert. Die Art gehört in den *B. cereus* Komplex, in welchem die Arten nicht immer einfach zu differenzieren sind. *B. thuringiensis* ist, wie oben erwähnt, für seine Bt-Toxine, welche gegenüber wirbellosen Tieren toxisch ist, bekannt. Sowohl das Toxin, als auch die Sporen von *B. thuringiensis*, werden industriell hergestellt und zur Schädlingsbekämpfung eingesetzt (Madigan & Martinko 2009, Versalovic et al. 2011, Wikipedia 2013). Für den Menschen sind gemäss Versalovic et al. (2011) einige Fälle von Gastroenteritis, Bakteriämie und Wundinfektionen durch *B. thuringiensis* beschrieben. Wobei zumindest in einigen dieser Fällen nicht klar ist, ob nicht *B. cereus* der Verursacher war. Unkritische Vertreter der Gattung *Bacillus* – unter anderem auch *B. thuringiensis* – werden im mikrobiologischen Monitoring in pharmazeutischen Produktionen häufig nachgewiesen (z.B. Rieth 2012).

Gemäss der „Einstufung von Organismen: Bakterien“ (Frey 2011, ESV 2008) ist *B. thuringiensis* in der Kategorie 1 eingestuft. Die Kategorie 1 ist definiert als „Organismen, die kein oder ein vernachlässigbar kleines Risiko aufweisen“. Die Art hat noch den Vermerk +n, welcher bedeutet, dass die Art für Nichtwirbeltiere pathogen ist und das in Einzelfällen die Art als Krankheitserreger nachgewiesen oder vermutet wird, aber überwiegend bei erheblich abwehrgeminderten Menschen und die Identifizierung der Art oft nicht zuverlässig ist.

### 2.2. Verabreichungsform und Patientengruppe

Hustensaft ist ein flüssiges, orales Produkt zur Behandlung bei akuten und chronischen Erkrankungen der Bronchien mit zähem Schleim. Der Wirkstoff ist HS-7070, welcher synthetisch hergestellt wird. Die enthaltenen Hilfsstoffe sind Wasser für Injektionszwecke (Water for Injection), Sucrose und Glycerol (600 mg/ml). Die applizierte Menge beträgt 15 Tropfen zweimal täglich. Die Behandlungsdauer sollte drei Wochen nicht überschreiten.

Patienten sind Personen ab 6 Jahren, welche an einem trockenen Husten leiden.

### 2.3. Mikrobiologische Stabilität des Produktes

Die Prüfung auf ausreichende Konservierung („Efficacy of Antimicrobial Preservation“) nach Ph. Eur. Kapitel 5.1.3. wurde für das Produkt Hustensaft im Rahmen der Entwicklung und an Stabilitätsmustern durchgeführt. Die Resultate der Prüfung auf ausreichende Konservierung für Hustensaft wurden im Jahr 2008 und 2013 vom BAV Institut (BAV 2008, 2013) vorgenommen. Die Formulierung entsprach den Akzeptanzkriterien für orale Produkte nach Ph. Eur. Kapitel 5.1.3. für alle getesteten Mikroorganismen.

### 2.4. Historische Daten der mikrobiologischen Prüfung

Die nachfolgende Tabelle gibt die Resultate der mikrobiologischen Prüfungen von Hustensaft vom Jahr 2013 bis September 2016 wieder. In dieser Zeitspanne wurde bei einer weiteren Charge Mikroorganismen (ebenfalls Vertreter der Gattung Bacillus) nachgewiesen. Diese Resultate zeigen die grundsätzlich einwandfreie Qualität des Produktes. Der vorliegende Befund mit 1 KBE/ml kann als Einzelfall bzw. als normale Belastung des Produktes betrachtet werden und stellt keine spezielle Auffälligkeit dar.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Resultate der mikrobiologischen Prüfung von Hustensaft seit 2013.

Datum	Charge	TAMC	TYMC	<i>Escherichia coli</i>	Identifikation
05.09.2016	4569-16	< 1 KBE/ml	1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
27.08.2016	4568-16	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
10.05.2016	4567-16	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
13.08.2015	3459-15	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
13.08.2015	3458-15	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
03.07.2015	3457-15	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
03.07.2015	3456-15	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
19.10.2014	2348-14	1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	<i>Bacillus pumilus</i>
19.10.2014	2347-14	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
25.01.2014	2346-14	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
28.01.2014	2345-14	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
22.06.2013	1236-13	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
22.06.2013	1235-13	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A
22.02.2013	1234-13	< 1 KBE/ml	< 1 KBE/ml	Abwesend in 1 ml	N/A

## 3. Zusammenfassende Bewertung

Für die vorliegende Charge von Hustensaft besteht aufgrund folgender Punkte kein Risiko für die menschliche Gesundheit bei bestimmungsgemäßer Anwendung:

- Die Gesamtkeimzahl pro Milliliter ist sehr gering und liegt deutlich innerhalb der Spezifikation von  $10^2$  KBE/ml.
- Die maximale Applikationsdosis pro Tag beträgt 30 Tropfen, was einer geringen Menge (ca. 2 ml) entspricht. Somit ist die appliziert tägliche Quantität sehr gering und eine Kontamination wie die vorliegende, als unproblematisch zu betrachten.
- Die Patientengruppe sind Personen, älter als 6 Jahre, welche an einem Husten leiden, aber kein geschwächtes Immunsystem haben.
- Das gefundene Bakterium kann für den Menschen als unkritisch klassiert werden.

- Es ist aufgrund der geringen Keimzahl und der chemisch-physikalischen Zusammensetzung des Produktes (Stabilisierung durch hohen Sucrose und Glycerol Gehalt) nicht von einer Vermehrung auszugehen.
- Die historischen Daten des Produktes zeigen, dass das Produkt grundsätzlich eine sehr gute mikrobiologische Qualität aufweist. Der vorliegende Befund kann als vereinzelter Fall betrachtet werden, welcher aber im Rahmen dessen liegt, was für dieses Produkt normal ist.

## 4. Abkürzungen

KBE:	Koloniebildende Einheit
N/A:	Nicht anwendbar
OOE:	Out of Expectation
OOS:	Out of Specification
Ph. Eur.:	European Pharmacopoeia, Europäisches Arzneibuch
TAMC:	Total aerobic microbial count (Gesamtkeimzahl)
TYMC:	Total combined yeast/molds count (Keimzahl der Hefe- und Schimmelpilze)

## 5. Literatur

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2009). Second Edition. Volume 3. Editors: P. De Vos, G.M. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.-H. Schleifer, W.B. Whitman. Springer Verlag.

ESV (2008): Einschliessungsverordnung – Verordnung über den Umgang mit Organismen in geschlossenen Systemen. Bundesamt für Umwelt, Bern. Nr. 814.912, 38 S.

FDA (2012): The Bad Bug Book - Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Second Edition.

Frey J. (2011): Einstufung von Organismen: Bakterien. Stand Juli 2011. Bundesamt für Umwelt, Bern. Umwelt-Vollzug Nr. 1114: 204 S.

Madigan M.T. & Martinko J.M. (2009): Brock Mikrobiologie, 11., aktualisierte Auflage. Pearson Studium.

Rieth M. (2012): Pharmazeutische Mikrobiologie – Qualitätssicherung, Monitoring, Betriebshygiene. Wiley-VCH Verlag, Weinheim

BAV (2008): BAV Prüfbericht-Nr. 12345 (1. Version), Prüfung auf ausreichende antimikrobielle Konservierung für Hustensaft.

BAV (2013): BAV Prüfbericht-Nr. 56789 (1. Version), Prüfung auf ausreichende antimikrobielle Konservierung für Hustensaft.

Versalovic J., Carrol K.C., Funke G., Jorgensen J.H., Landry M.L., Warnock D.W. (2011): Manual of Clinical Microbiology. Volume 1 & 2, 10th Edition. ASM Press Washington, DC.

Wikipedia (2013): Bacillus thuringiensis. [http://de.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_thuringiensis](http://de.wikipedia.org/wiki/Bacillus_thuringiensis)

---

## Zusammenfassung

In diesem Newsletter wird ein praktisches Beispiel, zur Beurteilung eines mikrobiologischen Befundes innerhalb der Spezifikation dargestellt. Als Beispiel wurde ein konservierter Hustensaft ausgewählt, welche mit einer Bazillen-Art geringfügig kontaminiert war. Aufgrund der Abklärung konnte der Befund als unkritische klassiert werden und das Produkt kann freigegeben werden.

Wie bereits im 1. Teil des Newsletters aufgeführt, sollte aktuell für alle nicht-sterilen Produkte eine solche Beurteilung stattfinden oder ein entsprechendes Konzept, wie man mit solchen Befunden umgeht, vorhanden sein.

---

## Das könnte Sie auch interessieren...

### Seminarprogramm der BAV Akademie

Wir freuen uns, Ihnen unser abwechslungsreiches Seminarprogramm für 2017 präsentieren zu dürfen. Wählen Sie aus den verschiedenen Bereichen im Rahmen von Tagesseminaren, zweitägigen Veranstaltungen oder Kursen. Wir vermitteln Ihnen und Ihren Mitarbeitern das Fachwissen, das Sie für Ihre tägliche Arbeit benötigen.

[→ weitere Infos](#)

---



*schnell und zuverlässig*

---

BAV INSTITUT  
Hygiene und Qualitätssicherung GmbH  
Hanns-Martin-Schleyer-Str. 25  
77656 Offenburg

T +49 781 9 69 47 0  
F +49 781 9 69 47 20

[info@bav-institut.de](mailto:info@bav-institut.de)  
[bav-institut.de](http://bav-institut.de)



Vertretungsberechtigter Geschäftsführer:  
Dipl.-Ing. Paul Andrei

Registergericht: Amtsgericht Freiburg i. Br.  
Registernummer: HRB 471864

Umsatzsteuer-Identifikationsnummer gem. §/27a  
Umsatzsteuergesetz:  
DE 811 647 935

Inhaltlich Verantwortlicher gem. §/10 Absatz 3  
MDStV: Dipl.-Ing. Paul Andrei

---

Fügen Sie bitte die E-Mail-Adresse [news@news.bav-institut.de](mailto:news@news.bav-institut.de) Ihrem Adressbuch oder der Liste sicherer Absender hinzu. Dadurch ist gewährleistet, dass unsere E-Mail Sie auch in Zukunft erreicht.

Dieser Newsletter wurde an [max.mustermann@news.bav-institut.de](mailto:max.mustermann@news.bav-institut.de) gesendet. Dieser Newsletter wird Ihnen ausschließlich mit Ihrem Einverständnis zugesandt. Wollen Sie diesen Newsletter in Zukunft nicht mehr erhalten, klicken Sie bitte [hier](#).