

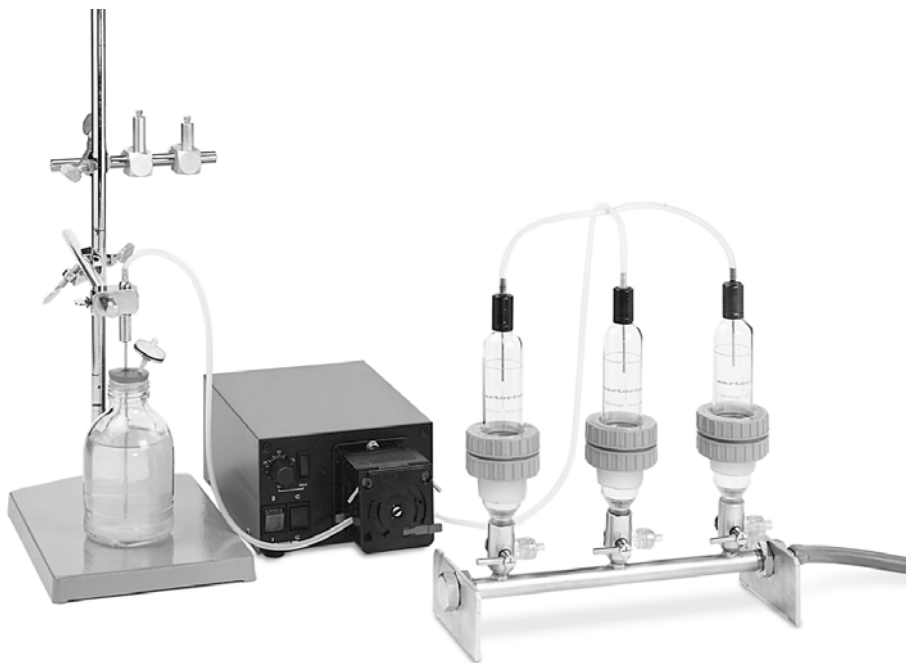


sartorius stedim
biotech

Directions for Use | Bedienungsanleitung

Sterility Test System Sterilitätstestsystem

Filter Holder | Filterhalter



80238-000-50

English – Page 3

Before reading these instructions,
fold out the last pages showing the diagrams.

Deutsch – Seite 15

Bitte klappen Sie vor dem Lesen die letzten
Seiten mit den Abbildungen auf.

Contents

This reusable sterility test system has been designed to prevent secondary contamination, because the samples, rinse liquid, and culture media are pumped into filter holders in the same closed system, and are equally distributed over two or three membrane filters. Incubation in the filter holders eliminates the need for removal and cutting of the membrane filters, a frequent cause of secondary contamination. Once the filter holders have been examined for signs of microbial growth, they can be inoculated with test bacteria and re-incubated as positive controls. Afterwards, the filter holders can be autoclaved to kill the bacteria before the culture media are disposed of.

4	Choosing the Total Equipment Required
6	A. Procedure before Initial Use of the System
6	1. Cleaning
6	2. Assembling the Sterility Test Units
6	2.1 Filter Holder
6	2.2 Tubing Connections
7	2.3 Filtration Unit
7	3. Sterilization
7	4. Assembling the Sterility Test System
9	B. Sterility Test Procedure
9	1. Preparation
9	2. Aseptic Precautions
10	3. Performing a Sterility Test
10	3.1 Filtration of Ampoule Solutions
11	3.2 Filtration of Infusion Solutions in Bottles
11	3.3 Introducing a Culture Medium to Cover the Membrane Filter
11	3.4 Incubation
11	3.5 Evaluation
12	C. Cleaning (for Reuse)
13	D. Components of the Sterility Test System
14	Specifications
14	1. Specifications of the Filter Holders
14	2. Spare Parts

Choosing the Total Equipment Required

The particular choice of components depends on the type of sample (ampoules or infusion solutions in bottles), the number of batches to be tested per day, and the number of culture media to be used.

The smallest order-amount result in the following forms:

- A: Number of system-parts, which were incubated:
incubation time x number of media/batch x batches/day
- B: Number of system-parts, which were cleaned after every batch: batches/day x 2
- C: Number of system-parts, which were cleaned at the end of the day:
number of media/batch
- D: Number of articles of consumption per year:
number of media/batch x batch/day x working-days/year

Please think about calculation of a safe-stock (positive-controls, replacement parts a.m.)

The following tabels list examples for the recommended equipment needed for approximately one year, assuming a 10-day incubation period and appropriate safe-stock.

Number of batches to be tested per day			1		2		3		5		10	
Number of culture media to be used			2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
A:	16522/23	Filter holder	30	40	50	70	70	100	110	160	210	310
	16826	Manifold	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C:	17756	Stainless-steel adapter	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
B:	16965	X-distributor	-	2	-	4	-	6	-	10	-	20
B:	16966	T-distributor	2	-	4	-	6	-	10	-	20	-
B:	16967	Filling cap										
		with filling needle	4	6	8	12	12	18	20	30	40	60
C:	16968	Silicone adapter	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
	16696	Peristaltic pump	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B: 10	16699	Silicone tubing										
		4x1.5 mm	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
	16974	Holding rod ¹⁾ 2)										
		for inlet tube/needle	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
A: 12	16975	Incubation rack	2	3	4	5	5	8	10	15	20	25
	16978	Tube clamps										
		(tubing clips)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C:	17574K	Venting filters, 50 p.	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
D:	³⁾	Membrane filter,										
		47 mm, 100 p.	5	7	9	13	13	20	23	34	45	67

¹⁾ for ampoule testing

²⁾ possibility to empty the infusion bottle over-head

³⁾ Membrane Filters for Sterility Testing (see next page)

Additional equipment:

Number of batches to be tested per day			1		2		3		5		10	
Number of culture media to be used			2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
a) For ampoule testing												
B:	16963	Inlet tube	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20
	16973	Holding tongs	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16969	Ampoule breaker	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16976	Clamp holder	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	16970	Support stand ²⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
b) For testing infusion solutions in bottles												
B:	16964	Inlet needle (long)	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20
B:	16964---3	Inlet needle (short) ²⁾	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20

Normally, cellulose nitrate membrane filters are used in sterility testing.
Edge-hydrophobic membrane filters are recommended for sterility testing of samples containing inhibitors, such as antibiotics.

Type of membrane filter	Pore size 0.45 µm	Pore size 0.2 µm	Application
Cellulose nitrate (CN) CN with hydrophobic edge	11306-047 N 13106-047 HCN	11307-047 N 13107-047 HCN	pH 4–8 most hydro- carbons
Cellulose acetate (CA) CA with hydrophobic edge	11106-047 N 13506-047 HCN	11107-047 N 13507-047 HCN	pH 4–8 most alcohols, hydrocarbons, oils
Regenerated cellulose	18406-047 N	18407-047 N	pH 3–12 solvent- resistant

A. Procedure before Initial Use

1. Cleaning

The filter holders must be thoroughly cleaned and dried before initial use and after each use (in a dishwasher – all components are detergent-resistant).

- 1.1 Completely disassemble the filter holders before cleaning (see Fig.1).
- 1.2 Clean the inlet tubes, the filling caps with needles, and the T-distributors by passing a cleaning solution, deionized water and 70% isopropanol through them using vacuum.
- 1.3 Dry the components in a drying oven at 100 °C.

2. Assembling the Sterility Test Units

2.1 Filter Holder

- 2.1.1 Place the filter support with the **riffled side up** in the base of the filter holder.
- 2.1.2 Place a suitable membrane filter (47 Ø mm) on the filter support.
- 2.1.3 Place the flat silicone gasket directly on top of the filter support.
- 2.1.4 Press the glass cylinder with the planed flat edge carefully onto the gasket.
- 2.1.5 Slide the silicone-O-ring over the glass cylinder, and press it carefully between the glass wall and the base of the filter holder.
- 2.1.6 Slide the closing clamp over the glass cylinder and turn counter clockwise until the thread engaged two times. Then turn clockwise until the filter holder is nearly closed. In the process, hold the glass cylinder to avoid displacement of the membrane filter.

2.2 Tubing Connections

The sterility test system allows the solution being tested to be transferred and distributed equally in one simple process to one, two, or three filter holders.

- 2.2.1 Attach a sufficient length of silicone tubing (approx. 1 m) between the inlet tube and the inlet nipple of the distributing connector.
- 2.2.2 Connect a length of tubing from each outlet of the distributing connector to each filling cap with a needle. Use two lengths of 5 cm silicone tubing for T-distributors. Use two lengths of 12 cm tubing and one 3.5 cm length for X-distributors.

2.3 Filtration Unit

- 2.3.1 Attach the filling caps with needles to the inlets of each of the glass cylinders. Wrap the inlet capillary tube in aluminum foil, so that steam can easily pass.
- 2.3.2 Wrap the long silicone tubing around the filter holders belonging together (two or three). Tape the filter holders together along with the inlet capillary tube, for example, using 3-M autoclave tape (with Indicator). Make sure that the connected lengths of tubing are not pinched together.
- 2.3.3 Collect the luer sealing plugs (6980588) for the filter holders in a glass petri dish.

3. Sterilization

- 3.1 Autoclave all prepared utensils:
 - filtration unit
 - luer sealing plug in glass petri dish
 - holding bar for the inlet capillary tube, ampoule breaker and holding tongs and the closing caps wrapped in aluminium foil.
 - Minisart SRP in glass petri dish at 121 °C (1 bar) for 30 minutes. Avoid sudden pressure changes during and after autoclaving.
- 3.2 After autoclaving, place the sterility test units and the other utensils in a laminar flow room or directly transfer them to a clean bench. Avoid recontamination of the outer surfaces.

4. Assembling the Sterility Test System (see Fig. 2)

Disinfect the parts which have not been autoclaved before placing them in the clean bench.

- 4.1 Place the special heavy-duty stand in the clean bench.
- 4.2 Attach the holder for the inlet capillary tube middle the clamp holder. Make sure that the inlet capillary tube, which will be used later, is positioned as far away as possible from the person carrying out the test. To avoid generating excess air turbulence, there should be no objects near the capillary tube.
- 4.3 Attach the holder with the ampoule breaker on the other side.
- 4.4 Place the peristaltic pump, according as the tube-length, in or out of the clean bench.

- 4.5 Place the clean manifold next to the stand.
- 4.6 Screw the cylindrical polycarbonate adapters onto the taps of the manifold.
- 4.7 Mount the silicone adapters on the stainless steel adapters.
- 4.8 On the side of the manifold there are small openings under the cylindrical adapters. Attach sterilized syringe filters, with hydrophobic membrane filters in place, to these openings for sterile venting. Filters can be autoclaved five times.
- 4.9 Using a length of vacuum tubing, connect the outlet of the manifold to a suction flask which is placed outside the clean bench.
- 4.10 To protect the vacuum pump, connect a Woulff'sche bottle between the suction flask and the pump.

B. Sterility Test Procedure

1. Preparation

- 1.1 Before beginning the test, sterilize the appropriate culture media (acc. to the applicable pharmacopoeia) in aliquots, and place them in the clean bench.
- 1.2 Divide the rinsing solution for flushing the tubing and the membrane filters into aliquots (50–300 ml) and sterilize the aliquots. Place the aliquots in the clean bench, too.
- 1.3 Using the cold sterilization method, sterilize the outer surface of the ampoules, bottles, etc. before placing them in the clean bench.

Example:

- 1.3.1 Degrease the surfaces of the ampoules by rubbing them with isopropanol.
- 1.3.2 Then place the ampoules in test tube racks (with the neck of each ampoule pointing downward) and place them in polyethylene bags.
- 1.3.3 Spray 2–3 ml of 2% peracetic acid into the polyethylene bags and close them.
- 1.3.4 After allowing for a sufficient period of contact, neutralize the peracetic acid the next day by spraying 70% ethanol into the bags.
- 1.3.5 After 2–3 hours, remove the test tube racks with the ampoules to be tested from the polyethylene bags (do not touch the ampoules!) and place them in the clean bench.

2. Aseptic Precautions

Before beginning the test, the person responsible for carrying it out must take all precautions necessary for working aseptically; it is especially important that he wear sterile outer clothing, gloves, protective goggles and a mask covering his mouth.

3. Performing a Sterility Test

3.1 Filtration of Ampoule Solutions

- 3.1.1 After removing the tape, unwrap the length of tubing and untape the inlet capillary tube from the sterility testing unit. Attach the filter holders to the silicone adapters on the manifold. Then the filter units will be closed tight.
- 3.1.2 Place the inlet capillary tube, which is wrapped in aluminum foil, in the special holder.
- 3.1.3 Thread the length of tubing between the inlet capillary tube and the distributing connector in the pump.
- 3.1.4 Close the pump head cover afterwards.
- 3.1.5 Do not remove the aluminum foil from the inlet capillary tube until you have completed the above procedure.
- 3.1.6 Unwrap the aluminum foil from the ampoule holding tongs. Grasp the ampoule with the ampoule holding tongs and insert it from underneath into the ampoule breaker up to the indicator line. Break open the ampoule by tilting it to the side (always wear protective goggles!). Place a suitable container under the ampoule breaker to catch the glass splitters.
- 3.1.7 With the pump turned, draw the ampoule solution into the filter holders by holding the opened ampoule with the holding tongs under the inlet capillary tube. The vacuum pump is turned off and the valves are closed. Repeat this procedure until all ampoules are empty.
- 3.1.8 Filter the test solution through the membrane filter by opening the three-way valves on the manifold (see diagram of the correct valve positioning). Immediately afterwards close the valves. When the three-way valves are closed, pressure equilibrium on each side of the hydrophobic filters is achieved automatically.
- 3.10.9 To remove residual test solution from the tubing and inhibitors from the membrane filter, pump the rinsing solution into the filter holders in the same manner as for the samples. Note that the holders must be filled with a sufficient amount of rinsing solution. The rinsing solution is drawn off by opening the valves. Upon completion of the filtration run, close the valves.
- 3.1.10 With certain types of ampoules, for example, preparations containing antibiotics, it is necessary to repeat this rinsing procedure one or several times. In such cases the procedure is the same as given above.

3.2 Filtration of Infusion Solutions in Bottles

- 3.2.1 Instead of the inlet capillary tube for ampoules, use the sterile inlet needle for I.V. bottles. It allows the rubber caps to be pierced easily.
- 3.2.2 Using a commercially available venting device, vent the bottle with sterile air during filtration to maintain sterile conditions.
- 3.2.3 Perform filtration of the infusion solutions in the same way as described in steps 3.1.

3.3 Introducing a Culture Medium to Cover the Membrane Filter

- 3.3.1 After filtering the rinsing solution, raise the filter holders slightly from the manifold (with valves closed), and close each outlet on the bottom with the sterile sealing plug (slightly turn the plug). Then reposition the filter holders on the silicone adapters of the manifold.
- 3.3.2 Transfer the culture media to the individual filter holders in the same way as the sample and rinsing solutions.
- 3.3.3 To ensure that each filter holder is filled with a different type of medium, alternately clamp off the tubing of the other holder(s) between the distributing connector and filling cap (with a needle).
- 3.3.4 Fill the medium for testing anaerobic microorganisms come up to the Pharmacopoe requirements.
- 3.3.5 Reduce the rpm of the pump when transferring the culture media into the filter holders.

3.4 Incubation

- 3.4.1 Remove the filling caps with needles under sterile conditions, and attach the sterile closing caps to the filter holders.
- 3.4.2 Remove the holders one after the other from the manifold, label them, place them in the incubation racks and incubate as directed.

3.5 Evaluation

- 3.5.1 Evaluate the tests as instructed by the pharmacopoeia applicable to your procedure.
- 3.5.2 If no growth is observed at the conclusion of the incubation period, inoculate the individual holders with test strains and incubate for 1–2 days. If growth is now found, the medium and the rinsing technique meet the requirements of the testing procedure.

C. Cleaning (for Reuse)

1. Immediately after testing the tubing attached to the inlet capillary tubes, distributing connectors and filling caps with a needle will be clean by carefully flushing with detergent and deionized water, then dry them at 100 °C.
It is also possible to flush with 70% isopropanol and dry at air.
2. Carefully clean and dry all the other utensils, such as holding tongs, ampoule breaker, capillary tube holder, etc. Afterwards, wrap and prepare them for sterilization as described in step A 2.3f.
3. Disinfect the surfaces of the clean bench, the manifold and the peristaltic pump (for example, with 70% isopropanol). Also fill the manifold with a disinfectant.
Now you can reduce the air flow in the clean bench until the beginning of the next test.
4. After completing the sterility test, autoclave (121°C/30 min.) the growthed mediums in the filter holders.
5. Disassemble each filter holder, wash in the dishwasher for laboratory glassware and dry at 100 °C.
6. Assemble and autoclave the cleaned components as described in steps A.2. and A.3., and place them in the clean bench until required for a further sterility test.

D. Components of the System

D. Components of the Sterility Test System (see Fig.2)

1. Stainless steel manifold, 16826
2. Stainless steel adapters, 17756
3. Silicone adapters, 16968
4. Glass/polypropylene filter holders,
 - a) 16522-47 mm, 85 ml
Meets the requirements of the European Pharmacopoeia;
60-ml capacity up to the mark for anaerobic incubation at a filling level of 70 mm.
 - b) 16523-47 mm, 130 ml
Meets the requirements of the USP. Has a volumetric mark at a filling level of 60 mm (56-ml capacity) and at 115 mm (110-ml capacity).
5. Closing caps with needle, 16967
6. Tubing clips (tube clamps), 16978 (pack of 6) not autoclavable
7. Distributing connectors,
 - 16965 for 3 filter holders (X-distributor)
 - 16966 for 2 filter holders (T-distributor)
8. Peristaltic pump, 16696
9. Silicone tubing, 16699
10. Holding rod for inlet capillary tube or needle with clamp holder, 16974
11. Stainless steel inlet capillary tube for ampoules, 16973
12. Stainless steel inlet needle for I.V. bottles, 16964
13. Clamp holder, 16976
14. Ampoule breaker, 16969
15. Support stand, 16970
16. Incubation rack, 16975
17. Ampoule holding tongs, 16973
18. Syringe filter, 15 mm (box of 50), 17574K

The following equipment is additionally required:

- a large-capacity, vacuum-resistant receiver flask for collecting the filtrate
- a vacuum source, such as our Sartorius Stedim Biotech Laboratory Vacuum Pump, 16612/15
- a Woulff'sche bottle used as an overspill barrier between the suction flask and the vacuum pump so that liquid cannot enter the pump
- a disposable syringe filter holder (16596 HY with disposable needle, 1325) for use as a venting unit during sampling from closed containers.

Specifications

1. Specifications of the Filter Holders

Material:	Glass cylinder; polypropylene base and sealing plug; anodized aluminum closing cap
Sealing:	Silicone gasket, 36/47 mm (6980573) Silicone O-ring, 40.5x3.5 mm (6980574)
Filter diameter:	47 mm
Filtration area:	12.5 cm ²
Capacity:	16522: 85 ml (60 ml up to the mark for anaerobic incubation at a filling level of 70 mm) 16523: 130 ml (56 ml up to the mark for aerobic incubation at a level of 60 mm, 110 ml up to the mark at the 115-mm level)
Operating pressure:	Vacuum only
Sterilization:	Autoclaving at 121°C

2. Spare Parts

6980232	Polypropylene filter support, 47 mm (pack of 2)
6980573	Silicone gasket, 36/47 mm
6980574	Silicone O-ring, 40.5x3.5 mm
6980586	Polypropylene base (filter holder)
6980588	Polypropylene plugs (pack of 10)
6980589	Glass cylinder for 16522
6980590	Closing ring
6980591	Anodized aluminum closing cap
6985060	Glass cylinder for 16523

In the interest of the further development of Sartorius Stedim Biotech Products, we reserve the right to make changes without notice.

Inhaltsverzeichnis

Das wiederverwendbare Sterilitätstestsystem wurde entwickelt, um Sekundärkontamination zu vermeiden. Proben, Spülflüssigkeit und Nährmedien werden auf dem gleichen Weg in die Geräte befördert und auf 2 oder 3 Membranfilter verteilt. Die Bebrütung erfolgt in den Filtrationsgeräten, dadurch entfällt die Entnahme und das Zerschneiden des Membranfilters – eine häufige Ursache für sekundäre Kontamination. Anschließende Positivkontrolle der Nährmedien durch Beimpfung mit Testkeimen und wiederholte Bebrütung mit anschließendem Autoklavieren, um die Keime abzutöten, bevor das Medium verworfen wird, sind möglich.

16	Zusammenstellung eines Gesamtsystems
18	A. Vorgehen bei der ersten Inbetriebnahme
18	1. Reinigung
18	2. Zusammensetzen der Sterilitätstesteinheiten
18	2.1 Filtrationsgerät
18	2.2 Schlauchverbindungen
19	2.3 Filtrationseinheit
19	3. Sterilisation
19	4. Aufbau des Sterilitätstestsystems
21	B. Durchführung des Sterilitätstests
21	1. Vorbereitung
21	2. Hygienische Maßnahmen
22	3. Durchführung
22	3.1 Filtration von Ampullenlösungen
23	3.2 Filtration von Infusionslösungen in Flaschen
23	3.3 Überschichten der Membranfilter mit Nährlösung
24	3.4 Inkubation
24	3.5 Auswertung
25	C. Reinigung (Wiederverwendung)
26	D. Bestandteile des Sterilitätstestsystems
27	Technische Daten
27	1. Technische Daten der Filtrationsgeräte
27	2. Ersatzteile

Zusammenstellung eines Gesamtsystems

Die Zusammenstellung hängt vom Probetyp (Infusionsflaschen, Ampullen), der Zahl der zu prüfenden Chargen pro Tag und der Zahl der zu verwendenden Nährmedien ab.

Die Mindestbestellmengen ergeben sich aus folgenden Formeln:

- A: Anzahl der Systemteile, die mitbebrütet werden:
 $\text{Bebrütungszeit} \times \text{Anzahl Medien/Charge} \times \text{Chargen/Tag}$
- B: Anzahl der Systemteile, die nach jeder Charge gereinigt werden: $\text{Chargen/Tag} \times 2$
- C: Anzahl der Systemteile, die am Tagesende gereinigt werden:
 $\text{Anzahl der Medien/Charge}$
- D: Anzahl des Verbrauchsmaterials pro Jahr:
 $\text{Anzahl der Medien/Charge} \times \text{Chargen/Tag} \times \text{Arbeitstage/Jahr}$

Bitte bedenken Sie außerdem die Kalkulation von Sicherheitsbestand (Positivkontrollen, Ersatzteile etc.)

Die nachfolgenden Tabellen geben Ihnen Beispiele für einen Jahresbedarf bei einer Bebrütungszeit von 10 Tagen und entsprechendem Sicherheitsbestand.

Zahl der zu prüfenden Chargen pro Tag			1		2		3		5		10	
Zahl der verwendeten Nährmedien			2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
A:	16522/23	Filtrationsgerät	30	40	50	70	70	100	110	160	210	310
	16826	Absaugvorrichtung	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C:	17756	Edelstahladapter	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
B:	16965	Verteilerstück 3fach	–	2	–	4	–	6	–	10	–	20
B:	16966	Verteilerstück 2fach	2	–	4	–	6	–	10	–	20	–
B:	16967	Verschlusskappen mit Füllnadel	4	6	8	12	12	18	20	30	40	60
C:	16968	Silikonstopfen	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
	16696	Schlauchpumpe	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B: 10	16699	Silikonschlauch, 10 m	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
	16974	Halterung ¹⁾ 2)										
		für Ansaugkapillare	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
A: 12	16975	Bebrütungskorb	2	3	4	5	5	8	10	15	20	25
	16978	Schlauchklemmen	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C:	17574 K	BelüftungsfILTER, 50 Stck.	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
D:	³⁾	Membranfilter, 47 mm, 100 Stck.	5	7	9	13	13	20	23	34	45	67

¹⁾ Einsatz für Ampullenprüfung

²⁾ ermöglicht Einsatz für Über-Kopf-Entleerung der Infusionsflaschen

³⁾ Membranfilter für den Sterilitätstest (siehe nächste Seite)

Zusätzlich:

Zahl der zu prüfenden Chargen pro Tag			1		2		3		5		10	
Zahl der verwendeten Nährmedien			2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
a) für die Ampullen-Prüfung												
B:	16963	Ansaugkapillare	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20
	16973	Ampullenzange	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16969	Ampullenbrech- werkzeug	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16976	Doppelmuffe	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	16970	Stativ ²⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
b) für die Prüfung von Infusionsflaschen												
B:	16964	Ansaugkapillare (lang)	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20
B:	16964---3	Ansaugkapillare (kurz) ²⁾	2	2	4	4	6	6	10	10	20	20

Normalerweise werden Membranfilter aus Zellulosenitrat verwendet.

Zur Prüfung von hemmstoffhaltigen Präparaten werden Membranfilter mit hydrophober Randzone empfohlen.

Membranfilter-Typ	Porengröße 0,45 µm	Porengröße 0,2 µm	Applikation
Cellulosenitrat (CN) CN mit hydrophobierter Randzone	11306-047 N 13106-047 HCN	11307-047 N 13107-047 HCN	pH 4-8 viele Kohlen- wasserstoffe
Celluloseacetat (CA) CA mit hydrophobierter Randzone	11106-047 N 13506-047 HCN	11107-047 N 13507-047 HCN	pH 4-8 viele Alkohole, Kohlen- wasserstoffe und Öle
regenerierte Cellulose	18406-047 N	18407-047 N	pH 3-12 Lösungsmittel- beständig

A. Vorgehen bei der ersten Inbetriebnahme

1. Reinigung

Alle Geräteteile müssen vor ihrer ersten Inbetriebnahme und jeweils nach Gebrauch gründlich gereinigt werden.

- 1.1 Dazu werden zunächst die Filtrationsgeräte in ihre Einzelteile zerlegt. (siehe Abb.1).
- 1.2 Die Ansaugkapillaren, die Verschlusskappen mit Füllnadel und die Verteilerstücke werden mittels Durchsaugen von Waschlösung, VE-Wasser und 70%igem Isopropanol gereinigt.
- 1.3 Die anderen Teile werden in der Spülmaschine gereinigt (alle Komponenten sind detergentienbeständig) und anschließend bei 100 °C im Trockenschrank getrocknet.

2. Zusammensetzung der Sterilitätstesteinheiten

2.1 Filtrationsgerät

- 2.1.1 In das Unterteil des Filtrationsgerätes wird die Filterunterstützung mit der **Riffelung nach oben** eingelegt.
- 2.1.2 Auf die Filterunterstützung wird das entsprechende Membranfilter Ø 47 mm gelegt.
- 2.1.3 Direkt auf das Filter wird die Silikon-Flachdichtung gelegt.
- 2.1.4 Sorgfältig wird der Glaszylinder mit dem plangeschliffenen Flachrand auf die Dichtung gesetzt.
- 2.1.5 Der Silikon-O-Ring wird nun über den Glaszylinder gestülpt.
- 2.1.6 Den Überwurfring über den Glaszylinder stülpen und soweit gegen den Uhrzeigersinn drehen, bis das Gewinde zweimal eingerastet ist. Danach mit dem Uhrzeigersinn drehen bis das Gerät leicht verschlossen ist. Hierbei ist der Glaszylinder festzuhalten, damit das Membranfilter nicht verrutscht.

2.2 Schlauchverbindungen

Mit dem Sterilitätstestsystem ist es möglich, die zu untersuchende Lösung in einem Arbeitsgang zu gleichen Teilen auf zwei- oder drei Filtrationsgeräte zu verteilen.

- 2.2.1 Zwischen der Ansaugkapillare und der Einlaufolive des Verteilerstückes wird ein ausreichend langer Silikonschlauch (ca. 1 m) montiert.
- 2.2.2 Von den Auslaufoliven der Verteilerstücke zu den Verschlusskappen mit Füllnadel werden bei Zweifach-Verteilerstücken zweimal 5 cm und bei Dreifach-Verteilerstücken zweimal 12 cm und einmal 3,5 cm Silikonschlauch eingesetzt.

2.3 Filtrationseinheit

- 2.3.1 Auf die Eingangsöffnungen der Glaszylinder werden die Verschlusskappen mit Füllnadel aufgesteckt. Die Ansaugkapillare wird mit Alu-Folie leicht umwickelt, so dass ein ungehinderter Dampfdurchtritt gewährleistet ist.
- 2.3.2 Die zusammengehörenden Filtrationsgeräte (zwei oder drei) werden mit dem langen Silikonschlauch umwickelt und mit der Ansaugkapillare mit einem Klebeband z.B. Autoklave Tape 1222 der 3-M-Company (mit Indikator) fixiert. Dabei ist besonders zu beachten, dass die Schlauchverbindungen nicht geknickt werden.
- 2.3.3 Die zu den Filtrationsgeräten gehörenden Luer-Stopfen (6980588) werden in einer Glaspetrischale gesammelt.

3. Sterilisation

- 3.1 Alle vorbereiteten Geräte:
 - Filtrationseinheiten
 - Luer-Stopfen in Glas-Petrischale
 - Kapillarenhalterung, Ampullenbrechwerkzeug, Zange und Verschlusskappen in Alu-Folie
 - Minisart SRP in Glas-Petrischale werden im Autoklaven bei 121°C (1 bar) 30 min. sterilisiert. Dabei sind rasche Druckausgleiche zu vermeiden.
- 3.2 Nach Beendigung der Sterilisation werden die Sterilitätstesteinheiten und die übrigen Utensilien in einen durch Laminar-Flow geschützten Raum oder direkt in die Reine Werkbank gebracht. Dabei ist eine Rekontamination der äußeren Oberflächen zu vermeiden.

4. Aufbau des Sterilitäts-Testsystems (siehe Abb. 2)

Alle nicht autoklavierten Teile werden vor dem Einstellen in die Reine Werkbank desinfiziert.

- 4.1 In der Reinen Werkbank wird das Spezial-Stativ aufgestellt.
- 4.2 Mittels der Doppelmuffe wird die Halterung für die Ansaugkapillare fixiert. Es ist darauf zu achten, dass später eingesetzte Ansaugkapillare möglichst weit von der untersuchenden Person entfernt sind. Zur Vermeidung von großen Luftturbulenzen ist darauf zu achten, dass sich in der Nähe der Kapillare keine Gegenstände befinden.
- 4.3 Gegenüber wird ggf. die Halterung mit dem Ampullenbrechwerkzeug montiert.

- 4.4 Die Schlauchpumpe wird je nach Schlauchlänge inner- oder außerhalb der Reinen Werkbank aufgestellt.
- 4.5 Neben dem Stativ wird die gereinigte Absaugvorrichtung aufgestellt.
- 4.6 Auf die Hähne der Absaugvorrichtung werden die zylindrischen Edelstahl-Adapter aufgeschraubt.
- 4.7 Auf die Adapter werden die Silikonstopfen aufgesteckt.
- 4.8 Unterhalb der Übergangsstücke befinden sich seitlich an der Absaugvorrichtung kleine Öffnungen. In diese Öffnungen werden sterilisierte Filtrationsvorsätze (SRP 15) zur Sterilbelüftung eingesteckt. Diese Filter sind bis zu 5 Mal autoklavierbar.
- 4.9 Der Auslauf der Absaugvorrichtung wird mittels eines Vakuumschlauches mit einer außerhalb der Reinen Werkbank stehenden Saugflasche verbunden.
- 4.10 Zum Schutz der Vakuumpumpe wird zwischen Saugflasche und Pumpe eine Woulff'sche Flasche geschaltet.

B. Durchführung des Sterilitätstests

1. Vorbereitung

- 1.1 Vor Beginn der Untersuchung werden die entsprechenden Nährmedien (Pharmakopöe) in Portionen sterilisiert und in der Reinen Werkbank bereitgestellt.
- 1.2 Die zum Nachwaschen der Schläuche und des Membranfilters benötigte Spüllösung wird ebenfalls in kleinen Portionen (50–300 ml) sterilisiert und in die Reine Werkbank gebracht.
- 1.3 Die Außenwände der zu prüfenden Ampullen, Infusionsflaschen usw. müssen vor dem Einbringen in die Reine Werkbank auf kaltem Wege entkeimt werden.

Beispiel:

- 1.3.1 Die Oberfläche der Ampullen wird mit Isopropanol entfettet.
- 1.3.2 Die Ampullen werden dann in Reagenzglasständer gestellt (Ampullenhals nach unten) und in Polyethylenbeutel eingepackt.
- 1.3.3 In die Polyethylenbeutel wird 2–3 ml 2%ige Peressigsäure eingesprüht und danach werden die Beutel verschlossen.
- 1.3.4 Nach ausreichend langer Einwirkungszeit wird die Peressigsäure durch Einsprühen von 70%igem Ethanol neutralisiert.
- 1.3.5 Nach 2–3 Stunden werden die Reagenzglasständer mit den zu prüfenden Ampullen den Polyethylenbeuteln entnommen (Ampullen dürfen nicht berührt werden!) und in der Reinen Werkbank abgestellt.

2. Hygienische Maßnahmen

- 2.1 Vor Beginn des Tests muss der mit der Prüfung beauftragte Mitarbeiter alle zur aseptischen Arbeit notwendigen Vorkehrungen treffen; insbesondere müssen während des Tests steriles Überkleid, Mundschutz, Handschuhe und Schutzbrille getragen werden.

3. Durchführung

3.1 Filtration von Ampullenlösungen

- 3.1.1 Nach Entfernung des Klebebandes wird das um die Sterilitätstesteinheiten gelegte Schlauchstück mit der Ansaugkapillare abgewickelt und die Filtrationsgeräte werden auf die Silikonstopfen der Absaugvorrichtung gesteckt. Danach werden die Geräte fest zugeschraubt.
- 3.1.2 Die mit Alu-Folie umschlossene Ansaugkapillare wird in die spezielle Halterung eingesetzt.
- 3.1.3 Das Schlauchstück zwischen Ansaugkapillare und Verteilerstück wird in die Schlauchpumpe eingelegt.
- 3.1.4 Anschließend wird der Pumpenkopf wieder verschlossen.
- 3.1.5 Erst nach Beendigung dieser Vorbereitungen wird die Alu-Folie von der Ansaugkapillare entfernt.
- 3.1.6 Die Ampullenzange wird aus der Alu-Folie gewickelt. Mit dieser Zange werden nun die Ampullen erfasst und von unten bis zur Sollbruchmarke in das Ampullenbrechwerkzeug eingeführt. Durch seitliches Verkanten wird die Ampulle aufgebrochen (Schutzbrille). Zum Auffangen der Glassplitter ist ein geeignetes Gefäß unter das Ampullenbrechwerkzeug zu stellen.
- 3.1.7 Die Ampullen-Lösung wird anschließend in die Filtrationsgeräte befördert, indem man die geöffnete Ampulle mittels Zange unter die Ansaugkapillare hält und die Schlauchpumpe betätigt. Die Vakuumpumpe ist ausgeschaltet und die Hähne der Absaugvorrichtung geschlossen. Dieser Vorgang wiederholt sich, bis alle zu prüfenden Ampullen entleert sind.
- 3.1.8 Durch Öffnen der Dreiwegehähne an der Absaugvorrichtung (Schema der Hahnstellung beachten) wird die Prüflösung bei angelegtem Vakuum durch die Membranfilter filtriert. Unmittelbar danach werden die Hähne wieder geschlossen. Beim Schließen der Dreiwegehähne findet automatisch ein Druckausgleich über die hydrophoben Filter statt.

- 3.1.9 Zur Überführung der Reste von Prüflösungen in den Schlauchteilen, sowie zur Entfernung von eventuellen Hemmstoffen, die in der zu untersuchenden Probe vorhanden sein können, wird Spülflüssigkeit auf die gleiche Weise wie die Proben in die Filtrationsgeräte befördert. Die Geräte sind dabei genügend hoch mit Spülflüssigkeit aufzufüllen. Durch Öffnen der Hähne wird die Spülflüssigkeit abgesaugt. Nach Beendigung der Filtration werden die Hähne wieder geschlossen.
- 3.1.10 Bei gewissen Ampullensorten, z.B. bei antibiotikahaltigen Präparaten, ist es erforderlich, diesen Spülvorgang ein- oder mehrmals zu wiederholen. In solchen Fällen wird wie oben angegeben verfahren.

3.2 Filtration von Infusionslösungen in Flaschen

- 3.2.1 Anstelle der Ansaugkapillare für Ampullen wird die sterile Ansaugkapillare für Infusionsflaschen verwendet, die ein leichtes Durchstoßen der Gummiverschlüsse erlaubt.
- 3.2.2 Mit einem handelsüblichen Belüftungsbesteck wird die Flasche während des Absaugens steril belüftet.
- 3.2.3 Die Filtration von Infusionslösungen wird in der gleichen Weise wie unter Punkt 3.1 beschrieben durchgeführt.

3.3 Übersichten der Membranfilter mit Nährlösung

- 3.3.1 Nach beendeter Filtration der Spülflüssigkeit werden die Filtrationsgeräte kurz von der Absaugvorrichtung abgehoben (Hähne geschlossen), die Ablauföffnung an der Unterseite der Filtrationsgeräte mit dem sterilen Luer-Stopfen verschlossen (leichte Drehbewegung) und wieder auf die Silikonstopfen der Absaugvorrichtung gesteckt.
- 3.3.2 Die Nährmedien werden auf dem gleichen Wege wie die Probe und Spülflüssigkeit in die einzelnen Filtrationsgeräte befördert.
- 3.3.3 Durch Abklemmen der entsprechenden Schlauchstücke zwischen Verteilerstück und Verschlusskappe mit Füllnadel, werden die einzelnen Filtrationsgeräte mit unterschiedlichen Nährmedien gefüllt.
- 3.3.4 Das Medium zur Prüfung von anaerob wachsenden Keimen ist entsprechend in der Pharmakopöe vorgeschriebenen Menge aufzufüllen.
- 3.3.5 Die Schlauchpumpe ist bei der Beschickung der Filtrationsgeräte mit den Nährmedien mit verminderter Drehzahl zu fahren.

3.4 Inkubation

- 3.4.1 Unter sterilen Bedingungen werden die Verschlusskappen mit Füllnadel abgenommen und die sterilen Verschlusskappen aufgesetzt.
- 3.4.2 Die Geräte werden nacheinander von der Absaugvorrichtung abgenommen, gekennzeichnet, in die Bebrütungskörbe gestellt und gemäß der entsprechenden Vorschrift inkubiert.

3.5 Auswertung

- 3.5.1 Die Auswertung des Tests erfolgt entsprechend der jeweiligen Vorschrift der Pharmakopöe.
- 3.5.2 Ist nach Ablauf der Bebrütungszeit kein Wachstum feststellbar, werden die einzelnen Geräte mit bestimmten Teststämmen beimpft und 1–2 Tage bebrütet. Wird danach Wachstum festgestellt, ist das Medium und auch der Spüleffekt nicht zu beanstanden.

C. Reinigung (Wiederverwendung)

1. Unmittelbar nach der Prüfung werden die Schlauchverbindungen mit Ansaugkapillare, Verteilerstück und Verschlusskappen mit Füllnadel durch sorgfältiges Durchspülen von Detergentien und VE-Wasser gereinigt und anschließend bei ca. 100°C getrocknet. Möglich ist auch ein Spülen mit 70% Isopropanol und anschließender Lufttrocknung.
2. Alle übrigen Utensilien, wie Zange, Ampullenbrechwerkzeug, Kapillarenhalterung usw. werden ebenfalls sorgfältig gereinigt und getrocknet. Anschließend werden sie einzeln, wie in Punkt A 2.3 ff beschrieben, eingepackt und zur Sterilisation bereitgestellt.
3. Die Reine Werkbank, Absaugvorrichtung und Schlauchpumpe werden oberflächen-desinfiziert (z.B. 70%iges Isopropanol). Zusätzlich wird die Absaugvorrichtung mit Desinfektionslösung gefüllt. Die Luftumwälzung in der Reinen Werkbank kann bis zum Beginn des nächsten Tests vermindert werden.
4. Nach Durchführung der Sterilitätsprüfung werden die bewachsenen Medien in den Filtrationsgeräten autoklaviert (121°C/30 Min.)
5. Danach werden alle benutzten Filtrationsgeräte in Einzelteile zerlegt, in der Spülmaschine gewaschen und bei ca. 100°C getrocknet.
6. Die gereinigten Geräteteile werden entsprechend Punkt A.2 und A.3 zusammengestellt, autoklaviert und für eine weitere Sterilitätsprüfung in der Reinen Werkbank bereitgestellt.

D. Bestandteile des Systems

D. Bestandteile des Systems (siehe Abb. 2)

1. Edelstahlabsaugvorrichtung, 16826
2. Edelstahladapter, 17756
3. Silikonstopfen, 16968
4. Glas/Polypropylen-Filtrationsgeräte
 - a) 16522-47 mm, 85 ml
Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Pharmakopöe.
60 ml Kapazität bis zur Markierung für anaerobe Bebrütung
bei 70 mm Schichthöhe
 - b) 16523-47 mm, 130 ml
Erfüllt die Anforderungen der USP. Hat eine Markierung in 60 mm Höhe
(56 ml Kapazität) und in 115 mm Höhe (110 ml Kapazität).
5. Verschlusskappen mit Füllnadel 16967
6. Schlauchklemmen, 16978 (Packung à 6 Stück) nicht autoklavierbar
7. Verteilerstück,
16965 für 3 Geräte (X-Stück)
16966 für 2 Geräte (T-Stück)
8. Schlauchpumpe, 16696
9. Silikonschlauch, 16699
10. Halterung für Ansaugkapillare mit Doppelmuffe, 16974
11. Ansaugkapillare aus Edelstahl für Ampullen, 16963
12. Ansaugkapillare aus Edelstahl für Infusionsflaschen, 16964
13. Doppelmuffe, 16976
14. Ampullenbrechwerkzeug, 16969
15. Stativ, 16970
16. Bebrütungskorb, 16975
17. Ampullenzange, 16973
18. Filtrationsvorsätze, 15 mm (50 Stück/Pckg.) 17574 K

Zusätzlich werden benötigt:

- eine großvolumige, vakuumfeste Sammelflasche für das Filtrat
- eine Vakuumquelle, z.B. die Vakuumpumpe 16612
- eine Woulff'sche Flasche als zusätzliche Sicherheit zwischen Saugflasche und Vakuumpumpe, damit kein Filtrat in die Pumpe gelangen kann
- ein Einwegfiltrationsvorsatz (16596 HY mit Einwegnadel 1325) als Belüftungseinheit bei der Probenahme aus geschlossenen Behältern.

Technische Daten

1. Technische Daten der Filtrationsgeräte

Material:	Aufsatz aus Glas, Unterteil und Stopfen aus Polypropylen, Verschlusskappen aus eloxiertem Aluminium
Dichtung:	Silikon-Flachdichtung, 36/47 mm (6980573) Silikon-O-Ring 40,5×3,5 mm (6980574)
Filterdurchmesser:	47 mm
Filtrationsfläche:	12,5 cm ²
Fassungsvermögen:	16522: 85 ml (60 ml bis zur Markierung für anaerobe Bebrütung bei 70 mm Schichthöhe). 16523: 130 ml (56 ml bis zur Markierung für anaerobe Bebrütung bei 60 mm Höhe, 110 ml bis zur Markierung bei 115 mm Höhe)
Betriebsdruck:	nur für Unterdruck
Sterilisation:	Autoklavieren bei 121 °C

2. Ersatzteile (siehe Zeichnung)

6980232	Polypropylen-Filterunterstützung, 47 mm (2 Stück)
6980573	Silikon-Flachdichtung, 36/47 mm
6980574	Silikon-O-Ring, 40,5×3,5 mm
6980586	Polypropylen-Unterteil
6980588	Polypropylen-Stopfen (10 Stück)
6980589	Glasaufsatz für 16522
6980590	Überwurfring
6980591	Verschlusskappe aus eloxiertem Aluminium
6985060	Glasaufsatz für 16523

Im Interesse der Weiterentwicklung von Sartorius Stedim Biotech Geräten behalten wir uns Konstruktionsänderungen vor.

Spare Parts

Ersatzteilzeichnung

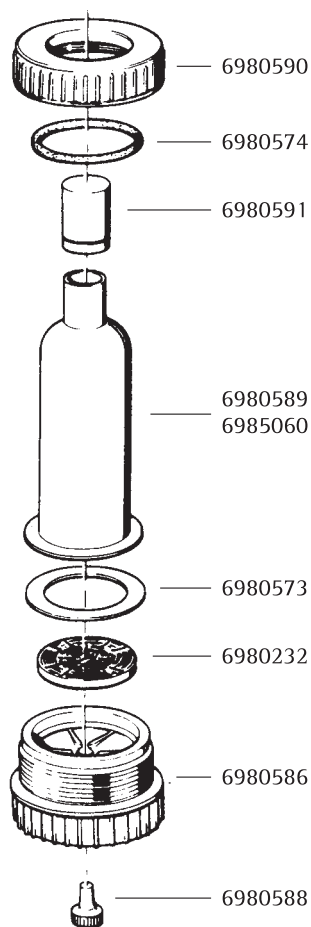


Fig.1

Abb.1

Components of the System

Aufbau des Systems

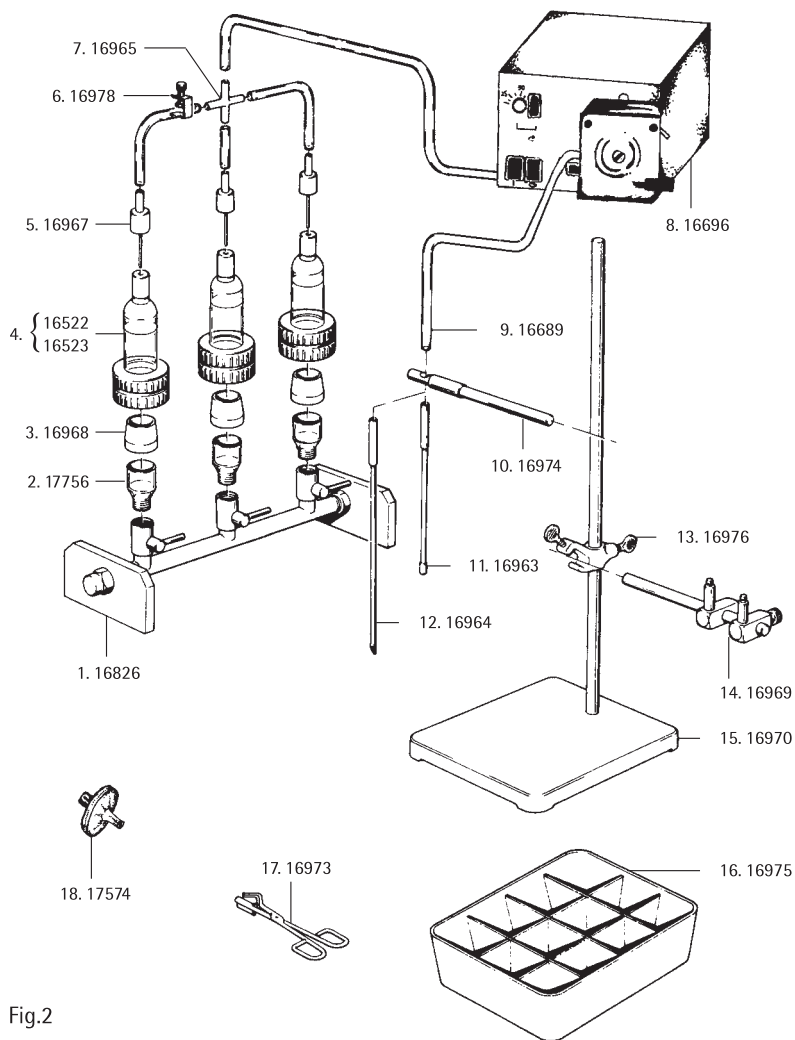


Fig.2

Abb.2

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Germany

Phone +49.551.308.0
Fax +49.551.308.32 89
www.sartorius-stedim.com

Copyright by
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Germany.
All rights reserved. No part
of this publication may
be reprinted or translated in
any form or by any means
without the prior written
permission of Sartorius Stedim
Biotech GmbH.

The status of the information,
specifications and illustrations
in this manual is indicated
by the date given below.
Sartorius Stedim Biotech GmbH
reserves the right to make
changes to the technology,
features, specifications and
design of the equipment
without notice.

Status:
August 2008,
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Germany

Printed in Germany on paper that has
been bleached without any use of chlorine
W4A000 · KT
Publication No.: SLG6049-a08083