

Up | Date

Das Kundenmagazin der Labor L+S AG Ausgabe 01 | 2016



Themenschwerpunkt: Assays

Laser-Headspace-Technologie
Kompetenzzentrum Wertbestimmung
Wertbestimmung: Placebomaterial

**Millionen-Investition
in den Neubau:
Richtfest bei der
Labor L+S AG.**

**Betriebshygiene:
Pflichten für den
hygienischen Betrieb
von Verdunstungs-
kühlanlagen.**

**Neues Labor für
Nicht-sterile Produkte:
Ein Plus an Sicherheit
für Ihre Proben.**

**Umweltmanagement:
Energie-Scouts der
Labor L+S AG voll
im Einsatz.**

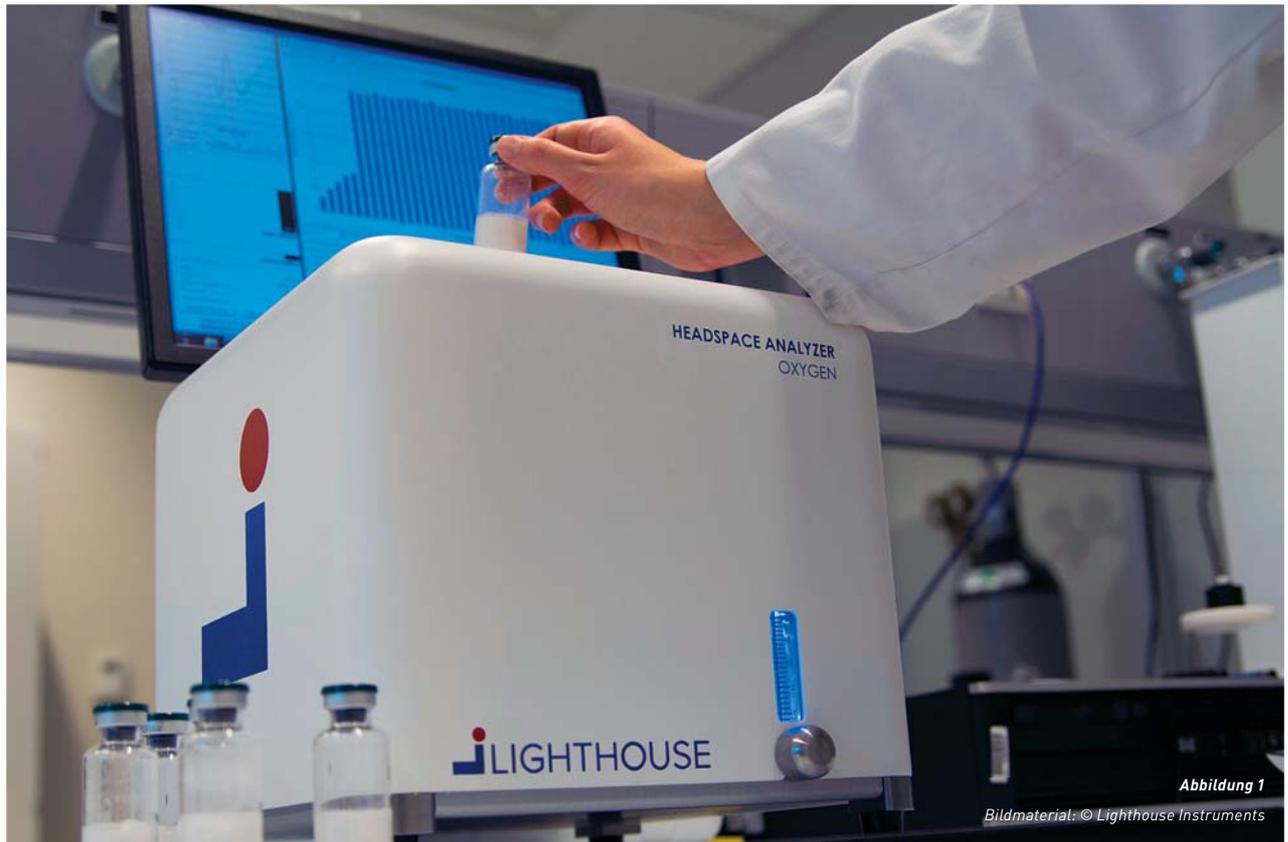


Abbildung 1

Bildmaterial: © Lighthouse Instruments

Nachweis von Sauerstoff mittels Laser Headspace

Eine Frage der Integrität

Haben Sie auch Produkte in Ihrem Portfolio, bei denen die Verpackung ein kritischer Faktor ist? Zur Prüfung der Containerintegrität steriler Produkte bieten wir Ihnen bei der Labor L+S AG dafür nun die Laser-Headspace-Technologie an.

Die Kapitel der United States Pharmacopeia (USP) mit 1000er-Nummern haben bekanntlich keinen bindenden Charakter, sie sind vielmehr als Guidelines zu verstehen. Im Rahmen dieser Richtlinien ist der gegenwärtige Stand der Technik aus Sicht der privaten Organisation USP zu verschiedenen Themen der pharmazeutischen Qualitätskontrolle dargestellt.

Obwohl nicht rechtsverbindlich, sind die Vorgaben in der Regel von hoher praktischer Relevanz und bilden nicht selten die Maßgabe für ein nachhaltiges Prüfregime. Später finden sie dann – auch außerhalb der „USP-Welt“ – häufig Eingang in normative Monografien.

Schon die Entwürfe dieser Kapitel bieten Fachkreisen immer wieder ausreichend Diskussionsstoff, sodass vom ersten Vorschlag über (häufig zahlreiche) weitere Versionen viele Monate vergehen können, bis das gültige Kapitel endlich in die amerikanische Pharmakopöe aufgenommen wird.

Dies ist auch der Fall für die Neufassung des Kapitels <1207> Sterile Product Package-Integrity, das mit „USP39-NF34, first

Supplement“ nach vorangegangener, fast zweijähriger Diskussion voraussichtlich zum 1. August 2016 in Kraft treten soll. Das Kapitel wurde erstmalig 1984 verfasst, nachdem erkannt wurde, dass in den 1970er Jahren undichte Behältnisse für eine der schlimmsten Fälle landesweit erfasster Sepsis mit hoher Letalität verantwortlich waren.

Entsprechend werden im Kapitel <1207> die notwendigen Anforderungen und die sich daraus ableitenden Maßnahmen zur Bewertung der Integrität von Primärverpackungen steriler Arzneiformen beschrieben. Im Gegensatz zur früheren Fassung wird das Kapitel zukünftig in vier Abschnitte geteilt sein. Der revidierte Basistext wird dabei durch drei neue Abschnitte ergänzt, in denen auf die verschiedenen Methoden und deren geeignete Anwendungen eingegangen wird.

Traditionell werden hier sogenannte „Challenge Tests“ eingesetzt, die Leckagen im Bereich der Größe von Mikroorganismen nachweisen können. Aus dem Ergebnis solcher Tests wird die Wahrscheinlichkeit abgeleitet, mit der Mikroorganismen in den

Container eindringen können. Die Neufassung des Kapitels fordert nun den direkten Nachweis der Packungsintegrität mittels einer Methode, die hinsichtlich Nachweisgrenze, Richtigkeit und Präzision durch positive und negative Kontrollen validierbar ist. Auf statistischen Wahrscheinlichkeiten beruhende Methoden werden nun den neuen Methoden gegenüber gestellt, die exaktere Daten liefern, da diese Methoden nicht dieser natürlichen Variabilität unterliegen.

In der USP wird unter anderem die Dichtigkeitsprüfung der verwendeten Primärbehältnisse verlangt, beispielsweise im Rahmen von Kontrollen bei Vials, Ampullen und vorgefüllten Spritzen. Bei Parenteralia sollen dabei die Primärverpackungen individuell auf Dichtigkeitsdefekte untersucht werden, sofern eine 100%-Kontrolle nicht umsetzbar ist. Bis dato werden dafür direkte visuelle Kontrollen eingesetzt. Allerdings können damit mikroskopische Defekte wie kleinste Haarrisse nicht nachgewiesen werden.

Im Kapitel <1207> gilt der Test als bestanden, wenn sowohl die Integritätsprüfung



Abbildung 2

Bildmaterial: © Lighthouse Instruments

der Verpackung als auch die Dichtigkeitsprüfung den Anforderungen entsprechen. Verfahren zur exakten Messung sind dabei solchen vorzuziehen, die auf Wahrscheinlichkeitsberechnungen beruhen.

Die Wahl des Verfahrens richtet sich dabei nicht nur nach der Beschaffenheit des Primärpackmittels, sondern auch nach den Anforderungen des Produkts. Ein steriles, aber ansonsten stabiles Produkt benötigt eine Verpackung, die es vor Verkeimungen schützt. Ein gegenüber Umwelteinflüssen empfindliches Produkt (z. B. Feuchte- oder Sauerstoffempfindlichkeit) stellt deutlich höhere Anforderungen an die Dichtigkeit des Primärpackmittels.

Hier muss die Dichtigkeit auf Molekülgröße gewährleistet sein, da das Eindringen von Feuchtigkeit die Produktqualität beeinträchtigen kann. Auf diese Weise können Bedingungen entstehen, unter denen sich keine Sterilität mehr garantieren lässt.

Als Ursache für Undichtigkeiten der beschriebenen Container kommen vor allem Risse im Glas oder unsachgemäß aufgebrauchte bzw. inhomogen dimensionierte Stopfen in Frage. Bei Leckagen kommt es zum Gasaustausch mit der Umgebung. Das Risikopotenzial hängt somit von den Bedingungen und der mikrobiellen Belastung der Umgebung wie auch von der Beschaffenheit der Containeroberflächen ab. Der nicht erwünschte Gasaustausch kann unter bestimmten Voraussetzungen sogar dazu führen, dass der Container mikrobiologisch kontaminiert wird.

Eine mit der <1207> korrespondierende Guideline wurde auch von der FDA publiziert: die „Guidance for Industry: Container and Closure System Integrity in Lieu of Sterility Testing as a Component of the Stability Protocol for Sterile Products“. Darin wird beschrieben, in welchen Fällen die Prüfung der Integrität einer Verpackung einen traditionellen Steriltest ersetzen kann. Im europäischen Raum befasst sich die EU Guideline Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products mit der Thematik. Aus den Beschreibungen zur Herstellung steriler Arzneimittel leiten sich die Notwendigkeiten der geeigneten Prüfung ab. Ein kritischer Prozessparameter ist zum Beispiel die Zeit vom Einsetzen eines Stopfens bis zum Verbördeln.

Kritisch betrachtet werden in diesem Zusammenhang u. a. Zubereitungen, die terminal steril filtriert werden. Dazu sind natürlich validierbare und robuste Verfahren erforderlich. Als traditionelle Standardverfahren werden der Farbeindringtest (oder auch „Blaubadtest“) und analoge mikrobiologische Methoden eingesetzt. Mit diesen Tests sind Leckagen visuell oder spektrometrisch sehr gut lokalisierbar.

Soll ein modernes Verfahren zum Nachweis von Leckagen eingesetzt werden, ist natürlich eine entsprechende Validierung erforderlich. In einer solchen Validierung wird an intakten (= gasdichten) und präparierten defekten (= undichten) Gefäßen gezeigt, dass die beschädigten Container eindeutig identifiziert werden können. Dabei ist darauf zu achten, dass

Abbildung 1:
Ein Laser Headspace Analyzer Oxygen
der Firma Lighthouse Instruments.

Abbildung 2:
Spezielle Vials für den
Laser Headspace Analyzer Oxygen.

die Validierung das tatsächliche Produkt einbezieht, da es Wechselwirkungen von Gasraum und Probenmatrix geben könnten, die einen Einfluss auf die Messergebnisse haben.

Um diese Fragestellungen konkret anzugehen, werden dabei verschiedene Verfahren wie die Prüfung des Vakuum- oder Druckabfalls oder die Hochspannungsrisssprüfung beschrieben. Ein geeignetes Verfahren zeichnet sich vor allem auch dadurch aus, dass die Anzahl an falsch positiven (= undichten) und falsch negativen (= dichten) Ergebnissen weitestmöglich reduziert wird. Im ersten Fall droht ein enormer wirtschaftlicher Schaden, im zweiten Fall kann sogar die Patientensicherheit gefährdet sein.

Die Labor L+S AG hat sich für ein robustes und sehr vielseitiges Verfahren entschieden, nämlich die „nicht-destruktive Tunable Laser Absorption Headspace Analytik“. Die Stärke dieser Methode liegt unter anderem darin, dass – wie der Name schon verrät – die Container bei der Untersuchung nicht

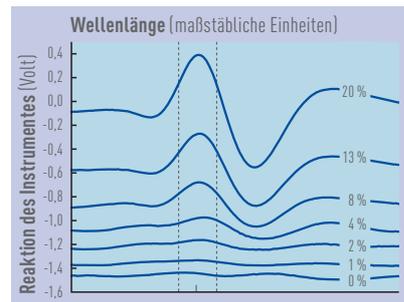
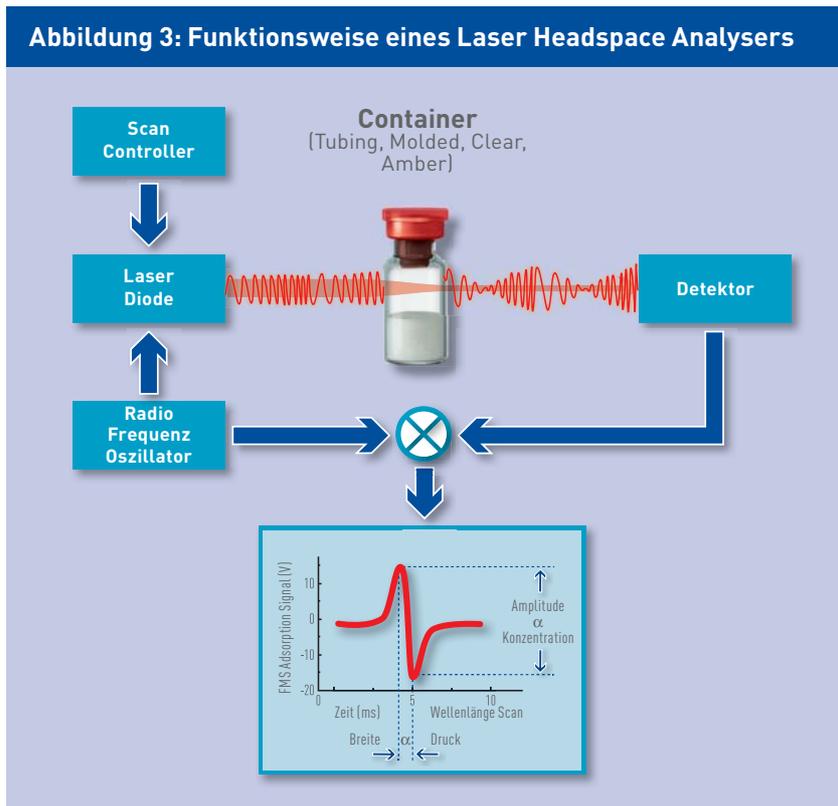


Abbildung 4: Vergleich der Messergebnisse des Detektors.

Bekannter Sauerstoff (% O ₂)	Gemessener Sauerstoff (% O ₂)	St Dev (% O ₂)	Min. (% O ₂)	Max. (% O ₂)
20,00	19,97	0,05	19,88	20,07
8,00	7,98	0,05	7,87	8,09
4,00	3,98	0,04	3,87	4,10
2,00	1,99	0,05	1,88	2,17
1,01	1,02	0,05	0,93	1,15
0,00	0,05	0,03	0,00	0,14

Abbildung 5: Leistungsdaten eines FMS-Oxygen Headspace Analysers. Hier bei einem transparenten 10 ml Vial (22mm Durchmesser) – N = 100.

Abbildungen und Grafiken mit freundlicher Genehmigung von © Lighthouse Instruments

zerstört werden und somit mehrfach (etwa zu verschiedenen Zeitpunkten, oder mit unterschiedlichen Parametern versehen) untersucht werden können. So kann simultan die Dichtigkeit, der Sauerstoffgehalt oder – mit einer erweiterten Ausrüstung – auch der Stickstoff- oder Kohlendioxidgehalt sowie die Feuchte im Gasraum über dem Produkt im Container gemessen werden. Letzteres kann zum Beispiel zur Prüfung der korrekten Trocknung lyophilisierter Proben eingesetzt werden.

Der Nachweis von Sauerstoff ist wichtig bei Produkten, die oxidations sensitiv sind und bei denen der Sauerstoff bei der Abfüllung quantitativ ausgeschlossen werden muss. Vor allem gefriergetrocknete Proben werden auf diese Weise verpackt. Die Abfüllung findet üblicherweise unter Argon oder Stickstoffatmosphäre im (Teil-) Vakuum statt. Bei einer Leckage findet ein Gasaustausch über Diffusion bei gleichem Innen- und Außendruck und Effusion bei unterschiedlichen Druckverhältnissen mit der Umgebung statt, der mit der Laser-Headspace-Technologie in Echtzeit detektiert werden kann. Die Signaländerung pro Zeit hängt hierbei maßgeblich von der Größe der Leckage und des Packmittels ab.

Weiterhin können mit der Methode die Zustände im Headspace des Containers in Echtzeit gemessen werden, es handelt sich dabei also um eine echte „Schnellmethode“. Damit ergeben sich auch Möglichkeiten zur 100%-Kontrolle eines Batches. Werden in einer solchen Analyse Leckagen nachgewiesen, kann die notwendige Ursachenforschung betrieben werden. Sind zum Beispiel nur Container betroffen, die zu

einem bestimmten Zeitpunkt (Anfang/Mitte/Ende) abgefüllt wurden, oder Container, die von einer bestimmten Lagerposition im Gefrier Trockner stammen. Auf Basis der Echtzeitmessung kann weiterhin in einem Protokoll genau definiert werden, für welchen Zeitraum eine geforderte minimale Restmenge an Sauerstoff im Kopfraum eines Behältnisses einbehalten werden muss. Damit sind auch Stabilitätsstudien für diesen Parameter durchführbar.

Die Tunable Laser-Technologie beruht auf einem im industriellen Umfeld allgemein bewährten Verfahren, bei dem Diodenlaser zum Einsatz kommen (Abbildung 1). Physikalische Grundlage ist die Frequenzmodulationsspektroskopie. Die auf diesem Prinzip beruhenden Diodenlaser können so fein eingestellt werden, dass Licht mit einer sehr engen Wellenlängenbreite in einem Sektor generiert wird, der im Absorptionsbereich biologisch relevanter Moleküle wie zum Beispiel Sauerstoff oder H₂O liegt, auch wenn die Absorptionsstärke in diesem Bereich normalerweise nur sehr gering ist.

Das bei der Labor L+S AG eingesetzte Gerät kann dabei hinsichtlich Durchmesser und Glasbeschaffenheit für verschiedene Container qualifiziert werden. Es müssen nur die jeweils relevanten Referenzen, das heißt, die entsprechenden Container zur Kalibrierung zur Verfügung stehen. Behördlich kontrollierte Referenzcontainer mit zertifiziertem Gasinhalt und Druckverhältnissen werden demnächst lieferbar sein. Für unsere Kunden bieten wir zunächst den Nachweis von Sauerstoff mittels Laser Headspace an.

Haben Sie auch Packungseinheiten in Ihrem Portfolio, bei denen die Integrität der Verpackung ein kritischer Faktor ist? Gerne bieten wir Ihnen hier die passende Analytik an und diskutieren Fragen zur spezifischen Prüfung Ihrer Produkt

 **Dr. Jörn Theurich**
Leiter Qualitätskontrolle
Chemisch-physikalische Prüfungen
Fon: +49 (0)97 08/91 00-420
joern.theurich@labor-ls.de

 **Dr. Thomas Meindl**
Sales & Services
Fon: +49 (0)97 08/91 00-750
thomas.meindl@labor-ls.de