

Typische Durchführung eines Sterilitätstests im Isolator



Sartorius AG

EINE FRAGE DER SICHERHEIT

Der Sterilitätstest von Parenteralia ist ein entscheidendes Kriterium für die Arzneimittelsicherheit – Ohne diesen Test geht keine sterile Zubereitung in den Markt. Worauf kommt es beim Sterilitätstest wirklich an?



Beispiel einer Sterisart NF-Einheit als Septum-Version für den Sterilitätstest. Abgebildet ist eine Einheit mit kurzer, scharfer Doppelnadel mit automatischer, steriler Belüftung und Sicherheitsplatteform.



Der integrierte Scanner ermöglicht die Aufnahme des Barcodes von der Primärverpackung einer Sterisart NF-Einheit.



Sterisart Universal-Pumpe, inklusive Display und Barcode-Scanner, zur Förderung der benötigten Medien und Flüssigkeiten für den Sterilitätstest.

Bilder: Sartorius Stedim Biotech

MARCUS SCHÜTTE*

Kontaminierte Augentropfen mit *Pseudomonas aeruginosa* können – wie im Jahr 1968 in Schweden geschehen – zu einer beträchtlichen Reduzierung des Sehvermögens oder gar zur kompletten Erblindung führen. Sollte Infektionserregern (Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten) eine Einschleppung und Vermehrung ins Blut gelingen, spricht man von

einer Sepsis, bei der eine folgenschwere Immunreaktion auf die Erreger bzw. deren Toxine erfolgt.

In den GMP-Guidelines gibt es daher eine Fülle an Anforderungen, die die pharmazeutische Industrie immer stärker verpflichtet, die Arzneimittelsicherheit durch entsprechende Konzepte der Qualitätssicherung und des Qualitätsmanagements zu gewährleisten. Die GMP-Guidelines beschäftigen sich nicht nur mit dem Arzneimittel selber, also mit dessen Produktion, Verpackung und Prüfung sowie der Zulieferung aller Aus-

gangsmaterialien einschließlich benötigter Maschinen und Geräte. Kernpunkte der GMP-Guidelines umfassen auch das Personal, die Personalhygiene und -qualifikation. Die Minimierung von mikrobiellen Verunreinigungen während der Produktion von Pharmazeutika ist eine absolute Notwendigkeit. Die Durchführung von In-Prozess-Kontrollen und Endprodukt-Kontrollen zur Überprüfung der mikrobiologischen Belastung oder Sterilität in bestimmten Fällen, sind ebenfalls ein essenzieller Baustein.

*M. Schütte ist Product Manager Microbiology bei Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen. Kontakt: Tel. +49-551-308-3522

Sterilitätstest für die Chargenfreigabe

Insbesondere für sterile Zubereitungen (Parenteralia), die zur Injektion, Infusion oder Transplantation in den menschlichen oder tierischen Körper bestimmt sind, gelten besonders hohe Anforderungen. Die Kontrolle des abgefüllten Endproduktes auf Sterilität ist dabei ein entscheidendes und maßgebliches Kriterium zur kompletten Chargenfreigabe. Der Sterilitätstest des Endproduktes kann entweder vom Medikamenten-Hersteller oder von einem entsprechend zertifizierten Auftragslabor durchgeführt werden. Gemäß den internationalen Pharmakopöen (USP <71>, EP 2.6.1, JP 4.06, WHO (QAS/11.413 final) erfolgt der Sterilitätstest nicht nur an Parenteralia, sondern hat auch Bedeutung bei der Freigabe von Augentropfen, Heilsalben, Cremes, Aerosolen und festen Formen wie z.B. chirurgischem Nahtmaterial. Die Methode der Kultivierung von Mikroorganismen zur Überprüfung eines Produktes auf Sterilität existiert seit etwa 1930. Dabei wird das zu untersuchende, pharmazeutische Produkt entweder filtriert, dies ist nach der USP <71> oder EP 2.6.1 die präferierte Methode, oder – sofern nicht anders möglich – direkt inokuliert. Der Sterilitätstest erfolgt in einer kontrollierten Umgebung unter aseptischen Bedingungen, entweder in einem Isolator, welcher der Reinraumklasse A entspricht, oder in der Reinraumklasse A eines Labors, umgeben von Reinraumklasse B.

Maßnahmen, die getroffen werden um Kontaminationen des kritischen Bereiches zu verhindern, dürfen das Wachstum der im Sterilitätstest befindlichen Mikroorganismen nicht beeinflussen. Dies sollte durch entsprechende Validierungen (Bacteriostasis/Fungistasis-Test) sichergestellt werden.

Zur Kontrolle der Umgebungsbedingungen werden Methoden angewendet, wie z.B. die aktive Luftkeimsammlung mit dem MD8 Airscan, die nicht mit dem Schutz des Reinraumbereiches interferieren. An besonders kritischen Bereichen wie Abfülllinien, Isolatoren

oder auch Blow-Fill-Seal-Anlagen vertrauen Kunden beim Air-Monitoring auf die bewährte hohe Rückhaltung und Wiederfindungsraten von Viren und Mikroorganismen durch die Gelatine-Membran-Filter (GMF).

Aber auch die Anforderungen an das System, die Materialien sowie an das Personal, welches den Sterilitätstest durchführt, sind sehr hoch. Schließlich sollten falsch negative Ergebnisse genauso vermieden werden wie falsch positive Ergebnisse (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CBER) Office of Regulatory Affairs (ORA)), ein gut geschultes Personal bildet hierbei einen wichtigen Baustein: 21 CFR 211.25.

Daher sollten sich Labormitarbeiter frühzeitig Gedanken über die jeweilige Anwendung als auch über deren Anforderungen machen und eine Check-Liste bzw. URS erstellen. Abzuwägen sind ebenfalls wirtschaftliche Risiken sowie die Vor- und Nachteile eines Sterilitätstestsystems.

Welche Regeln gelten beim Sterilitätstest?

Zunächst muss geklärt sein, in welche Länder das pharmazeutische Produkt verkauft werden soll, die Kenntnis über entsprechende Richtlinien ist eine grundlegende Voraussetzung. Beispielsweise wird in fast allen Ländern der Sterilitätstest mit zwei Medien und zwei Kanistern durchgeführt. Für Produkte, die in China verkauft werden ist eine Drei-Kanister-Variante zwingend erforderlich. In Südamerika und Afrika werden aufgrund der geringen Personalkosten beispielsweise keine geschlossenen, vorsterilisierten Einheiten verwendet, sondern einzelne Komponenten, die nach und nach zu einem System zusammengesetzt werden.

Diese in Deutschland unter dem Namen „Schiller-System“ bekannte Methodik war bis etwa 1975 auch in Europa üblich. Sie hat sich jedoch aufgrund der benötigten Zeit zur Assemblierung und des Risikos falsch positiver Ergebnisse in Europa, USA und Japan nicht durchgesetzt.

Das Vorgehen beim Sterilitätstest ist klar reguliert: Benötigt wird eine reinraumtaugliche Druckquelle, z.B. eine Peristaltikpumpe, welche die zu analysierende Flüssigkeit in die Sterilität-Einheiten fördert und über eine Membran filtriert. Keime werden durch die Membran (nominale Porengröße 0,45µm) zurückgehalten, Antibiotika und andere wachstumshemmende Substanzen sollten durch die geringen Absorptionseigenschaften der Membran ausgewaschen werden. Sollte das Produkt in Pulverform vorliegen, muss es mit geeigneten Maßnahmen solubilisiert werden. Zum Ende des Prozesses werden die beiden Kanister verschlossen. Anschließend erfolgt die Befüllung der Behälter mit dem entsprechenden Nährmedium: CASO zur Detektion von aeroben Bakterien und Fluid Thioglycollate Medium zur Detektion von anaeroben/aeroben Bakterien. Die erlaubten Spüllösungen können in der USP <71> nachgelesen werden. Da in der Regel die Septen der Spüllösungen oder des Produktes mehr als einmal durchstoßen werden, sollte darauf geachtet werden, dass die Nadeln entsprechend scharf und somit leichtgängig für eine mehrfache Penetration sind.

Um GMP-gerechtes Arbeiten zu ermöglichen, sollte die Chargenrückverfolgbarkeit aller eingesetzten Artikel inklusive des Sterilitätstestsystems gegeben sein oder besser: auf jeder Packung sollte der Barcode scannbar und die Daten in Übereinstimmung mit „Code of Federal Regulation“ (21 CFR part 11) als PDF speicherbar sein.

Sicherheit von sterilen Zubereitungen

Zur Prüfung von steril ausgewiesenen Arzneimitteln bietet Sartorius für die Qualitätskontrolle am Endprodukt Sterisart NF-Einweg-einheiten an. Bei diesen Systemen handelt es sich um geschlossen konzipierte Einweg-Lösungen zur Testung von Beuteln, Spritzen, Vials, Ampullen und Pulvern.

Grundprinzip bildet die Membran-Filtrationsmethode. Ziel der Sterisart NF-Einheiten ist ein reproduzierbarer, zuverlässiger Ste-

PharmaTEC-Tipp

• Unter www.sartorius.de/bioprocess-solutions können Sie sich über das Produktportfolio von Sartorius Stedim Biotech informieren.

Nachgefragt

MARCUS SCHÜTTE, PRODUCT MANAGER MICROBIOLOGY BEI SARTORIUS STEDIM BIOTECH

? Herr Schütte, die Durchführung eines Sterilitätstests ist komplex und damit fehleranfällig. Welche Fehler werden Ihrer Erfahrung nach am häufigsten begangen?

SCHÜTTE: Laut entsprechender Richtlinien ist die Durchführung des Sterilitätstests klar definiert, ebenso die räumlichen Bedingungen sowie die Vorgabe, dass nur gut geschultes Personal diesen Test durchführen darf. Dennoch ist menschliches Fehlverhalten nie komplett auszuschließen. In den Warning Letters der FDA werden u.a. unzureichende Untersuchungen bei einem positiven Sterilitätstest, eine unzureichende Desinfektion sowie ein nicht ausreichendes Umgebungsmonitoring bemängelt.



? Oft entscheiden sich Parenteralia-Hersteller dazu, die Sterilitätstests an Dienstleister auszulagern. Welche Qualitäten sollte ein gutes Labor mitbringen?

SCHÜTTE: Externe Labore müssen über die notwendige Erfahrung in der Anwendung von Sterilitätstests verfügen und sollten entsprechend cGMP/GLP-zertifiziert sein. In Abhängigkeit des Produktes und des Kundenwunsches sollte ein Dienstleister den Test sowohl im Isolator als auch unter der Clean Bench im Reinraumbereich B durchführen können. Meines Erachtens sind Kenntnisse im Bereich der produktspezifischen Validierung und Erfahrung im Umgang mit Behörden (FDA) eine essentielle Voraussetzung.

ritätstest, der keinen Spielraum für falsch positive und falsch negative Ergebnisse bietet. Während der 14-tägigen Inkubation zur Identifizierung einer Kontamination (Wachstum) oder für die Validierung des Produktes kann es erforderlich sein, aseptische Proben aus den Behältern zu entnehmen oder Flüssigkeiten zu applizieren, etwa die Zugabe von Penicillinase zur Inaktivierung von Antibiotika. Diese Entnahme erfolgt heutzutage zumeist über einen Einstich mittels eines Einstechdorns durch den Schlauch, oder durch das Aufschneiden des Schlauches und anschließendem Einbringen der Lösung mittels einer Pipette. Dadurch werden sowohl das Kontaminationsrisiko als auch das Verletzungsrisiko (Nadel) des Anwenders beträchtlich erhöht.

Mit den Septum-Versionen der Sterisart NF-Einheiten können solche Entnahmen wesentlich erleichtert und Risiken vermieden werden. Die Septum-Technologie ist aus dem medizinischen Bereich anerkannt und hat sich erfolgreich bewährt. Das Septum ist mit einer Kappe verschlossen und kann bei Bedarf mit einem in Isopropanol befeuchteten Tuch abgewischt werden. Sollte das pharmazeutische Produkt selber das Medium trüben, so empfiehlt die

USP <71>: „...14 days after the beginning of incubation transfer portions (each not less than 1 ml of the medium to fresh vessels of the same medium)...“. Auch dieser Flüssigkeitstransfer kann mit den Septum-Versionen sicher und zuverlässig durchgeführt werden. Das Konzept des Flüssigkeitstransfers und die gleichzeitige Belüftung des Behälters kann mit einer patentierten Doppelnadel erreicht werden. Die Edelstahl-Nadeln sind besonders scharf, was das Einstechen in Septen zum Einen erheblich erleichtert, zum Anderen ist gegenüber den Einzelnadeln die Handhabung leichter, da kein separater BelüftungsfILTER benötigt wird.

Universalpumpe für Flüssigkeitstransfer

Für den Flüssigkeitstransfer des Produktes in die Einheiten steht die Sterisart Universal-Pumpe zur Verfügung. Ein integrierter Barcode-Scanner erlaubt die anwenderfreundliche Rückverfolgbarkeit der eingesetzten Artikel, wie Medien und Sterisart NF-Einheiten. Ein besonderes Augenmerk wurde bei der Pumpe auf die Reinraumtauglichkeit gelegt.

Die Oberfläche der Pumpe besteht aus Edelstahl Typ 316 L. Sie

kann entweder unter einer Cleanbench betrieben werden oder in einem Isolator integriert werden. Neben der H₂O₂-Verträglichkeit zeichnen sich einzelne Komponenten durch UV-Resistenz und Autoklavierbarkeit aus. Diese beiden Aspekte sind insbesondere bei dem Betrieb unter einer Cleanbench wichtig. Die GMP-konforme Sterisart Universal-Pumpe ist komplett geschlossen und verfügt über keinerlei Entlüftungsschlitze.

Zulieferer wie Sartorius Stedim Biotech verstehen sich als professioneller Anbieter von Produkten und Dienstleistungen für die pharmazeutische Industrie. Produktsicherheit und Produktqualität stehen dabei an vorderster Stelle. Auch für die Qualitätskontrolle in der Pharmaindustrie bietet das Unternehmen zuverlässige und ökonomische Lösungen an. Dabei reicht das Angebot von Analysenwaagen über Reinstwassersysteme, Pipetten und Verbrauchsmaterialien bis hin zu Produkten in der Mikrobiologie. Für die mikrobiologische In-Prozess-Kontrolle umfasst das Portfolio Microsart@filter und @media, Mycoplasma Detection Kits und Luftkeimsammler. Die Endprozesskontrolle (Sterilitätstest) von Parenteralia etwa, kann mit Sterisart NF-Einheiten durchgeführt werden.