Haltbarkeit von Reagenzien

Lösungsansatz mit Sachverstand und Augenmaß!

Ein Positionspapier der Fachgruppe „Analytik und Qualitätssicherung" der Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e. V. (APV)

Seit jeher ist es ein grundlegendes Prinzip, in der pharmazeutischen Herstellung und Qualitätskontrolle nur Substanzen höchster, nachvollziehbarer Qualität und bewiesener Stabilität zu verwenden. Dies dient einerseits zur Erfüllung der Arzneimittelqualität, andererseits der korrekten Beurteilung der Produktqualität ohne Einfluss auf die Richtigkeit und Vergleichbarkeit der erhaltenen analytischen Ergebnisse durch die verwendeten Materialien und Substanzen.

Aufgrund ihres direkten Einflusses auf die Produktqualität und deren Beurteilung werden bei der regulatorischen Betrachtung Wirkstoffe und Standardsubstanzen priorisiert. Neuerdings wird v.a. im Rahmen von GMP-Inspektionen dieser Fokus jedoch auch auf Reagenzien sowie Ausgangsstoffe ausgeweitet und die regulatorischen Anforderungen nähern sich denen der Wirkstoffe und Standardsubstanzen an. Dies ist zum großen Teil nachvollziehbar, da sowohl Reagenzien als auch Ausgangsstoffe, obwohl sie nur einen indirekten Einfluss haben, zu kritischen Produktqualitäten sowie einer Fehleinschätzung der Produktqualität führen können. Bei Inspektionen und Behördenaudits schließt sich an Fragen zur originären Qualität immer öfter die Frage nach einer Rationale sowie Daten zur Stabilität und den daraus resultierenden Haltbarkeiten sowie Lagerungsbedingungen an.

In den aktuellen Revisionen relevanter GMP-Richtlinien wird dieses Thema, teilweise zum ersten Mal, adressiert. Zu nennen ist hier die seit Oktober 2014 gültige Revision des EU-GMP-Leitfadens Kapitel 6 „Qualitätskontrolle". Bezüglich Reagenzien, daraus hergestellten Lösungen sowie Kulturmedien werden klare Angaben zur Haltbarkeit und Lagerbedingungen gefordert. Diese müssen wissenschaftlich belegt sein. Auch die geplanten Änderungen des Kapitels 5 „Herstellung" des EU-GMP-Leitfadens (gültig ab 30.3.2015) sehen für Ausgangsstoffe, neben der Freigabe durch die Qualitätskontrolle, die Angabe von Haltbarkeit und Lagerbedingungen vor. Insbesondere der korrekte Umgang mit den Substanzen und die Einhaltung der Lagerbedingungen werden gefordert. Zusätzlich ist der Einfluss von Abweichungen auf die Qualität zu evaluieren. Aufgabe der verantwortlichen Personen in der Qualitätskontrolle ist es nun zu evaluieren, welche Vorkehrungen den Anforderungen der Behörde genügen, dabei jedoch den Aufwand und die resultierenden Kosten im Rahmen zu halten.
Die APV Fachgruppe Analytik und Qualitätssicherung hat sich intensiv mit diesem Thema befasst. Im Folgenden wollen wir einen Lösungsansatz für die Bereiche Reagenzien und Kulturmedien vorschlagen.

Bereits bei der Beschaffung der Reagenzien ist auf die erforderliche Reagenzienqualität zu achten. Die Vorgaben aus Arzneibuch oder aus Prüfvorschriften, welche bei der Methodenentwicklung und –validierung definiert wurden, sind strikt einzuhalten. Die Bezugsquellen müssen überdies einer Lieferantenqualifizierung unterzogen werden. Die Herstellung, Qualitätskontrolle sowie Evaluierung und Angabe von Haltbarkeit und Lagerbedingungen von Reagenzien sollte vorab klar definiert und im SOP-System dokumentiert sein. Generell muss für jedes Reagenz das Haltbarkeitsdatum bzw. das Haltbarkeitsdatum nach Anbruch angegeben werden.

Wie legt man aber die Haltbarkeit mit Sachverstand und Augenmaß fest?

Haltbarkeit von Reagenzien für chemisch-physikalische Prüfverfahren

Hierzu sind mehrere Ansätze möglich. Prospektiv sollte anhand einer Risikoanalyse evaluiert werden, welchen Einfluss das Reagenz auf die Analytik hat und welchen Einfluss die Alterung des Reagenzes auf das Prüfergebnis haben kann. Dies vereinfacht die darauf folgende Festlegung des notwendigen Aufwandes.

Kann ein Einfluss wissenschaftlich begründet ausgeschlossen werden, kann auf die Bestimmung der Haltbarkeit verzichtet werden.
Eine weitere Option ist die Bezugnahme auf die Angaben des Zertifikates oder der Begleitdokumentation des Lieferanten/Herstellers. Hierbei muss eine Lieferantenqualifizierung vorliegen, welche die GMP-konforme Erhebung der Daten verifiziert.
Haltbarkeiten der hergestellten Lösungen können den entsprechenden Prüfvorschriften oder Validierungsdokumenten (Robustheit) entnommen werden. Ergebnisse aus Literaturrecherchen für die spezifische Substanz oder Substanzfamilie können ebenfalls herangezogen werden.

Bieten die oben genannten Optionen keine verwertbaren, validen Informationen zur Haltbarkeit, muss diese mittels geeigneter Untersuchungen für einen definierten Bereich belegt werden. Relevant für den Umfang der Experimente sind die benötigte In-Prozessstabilität (geplanter Zeitraum über welchen das Reagenz für die Prüfung genutzt wird) sowie die Prozessbedingungen (Umweltparameter welchen das Reagenz ausgesetzt ist).

Ein gemäß ICH Q1A Richtlinie geforderter Umfang für Stabilitätsstudien ist nicht erforderlich. Jedoch müssen für die Experimente valide Methoden verwendet werden, welche die qualitäts- und prüfverfahrensrelevanten Eigenschaften erfassen. Die von uns bevorzugte Option ist die Erhebung experimenteller Daten im Rahmen der Validierung und Robustheitsuntersuchung, sodass die Vorgaben für die Haltbarkeit der Reagenzien zum Zeitpunkt der Nutzung zur Produktprüfung bereits vorliegen und nicht jeweils neu evaluiert werden müssen! Der Einfluss des frischen bzw. gealterten Reagenzes auf die Ergebnisse kann gemäß den Vorgaben der Richtlinie ICH Q2B im Rahmen der Ermittlung der Stabilität der Lösungen evaluiert werden. Dementsprechend kann eine Haltbarkeit vergeben werden. Die fortlaufende Überprüfung kann überdies für jede Analysenkampagne im Rahmen der Systemeignungsprüfung erfolgen.

Eine Ausnahme wird durch die FDA definiert: für Proben- und Standard- sowie Titrationslösungen, welche zur quantitativen Bestimmung von Gehalt und Verunreinigungen verwendet werden, werden experimentelle Stabilitätsuntersuchungen gefordert.

Haltbarkeit von Kulturmedien für die Mikrobiologischen Reinheitsprüfungen

Anders als für viele Reagenzien, die für chemisch-physikalische Prüfverfahren eingesetzt werden, bei denen ein integrierter, ggf. aus der Validierung abgeleiteter Systemeignungstest indirekt Aufschluss über die Eignung der eingesetzten Reagenzien liefern kann, ist dies für Kulturmedien nicht möglich, deshalb ist für die Kulturmedien, die für die mikrobiologische Reinheitsprüfungen nach Arzneibuch eingesetzt werden, eine Eignungsprüfung vor der Verwendung vorgesehen.

Die Kulturmedien werden hierbei auf Sterilität, ihre nutritiven Eigenschaften und je nach Verwendungszweck auch auf Selektivität geprüft. Darüber hinaus können weitere Tests wie pH-Wert oder die Prüfung zugesetzter Indikatoren notwendig sein, um die Eignung eines Nährmediums zu belegen. Angaben dazu finden sich sowohl in der Ph. Eur. als auch der USP. Die Eignungsprüfung ist dabei an jeder selbst hergestellten Charge und lt. WHO Technical Report Series No 961, Annex 2, "WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories" für zugekaufte Fertignährmedien nicht nur an jeder Charge, sondern an jeder Lieferung eines Fertignährmediums durchzuführen. Von der WHO wird wie in den Arzneibüchern auch der Umfang der durchzuführenden Eignungstests vorgegeben.

Kulturmedien sollen steril sein, deshalb werden sie nach validierten Verfahren hergestellt und sterilisiert. Sinnvoll ist es, alle Einheiten der Kulturmedien vor der Verwendung auf Wachstum zu kontrollieren. Die Prüfung auf Sterilität kann für Kulturmedien durch Bebrütung der Medien selbst erfolgen, ein Steriltest z. B. nach Ph. Eur. 2.6.1 ist dagegen eher unpraktisch, da es zu sekundären Kontaminationen bei der Durchführung kommen kann. Für flüssige Pufferlösungen dagegen sollte eine Prüfung auf Sterilität nach Ph. Eur. 2.6.1 erfolgen, da sie selbst kaum nutritive Eigenschaften aufweisen. Auch für Kulturmedien sind der Einkauf, die Qualifizierung der Zulieferer, die Eingangskontrollen bei zugekauften Medien, die Herstellung und Prüfung selbst hergestellter Medien, die Lagerung und Haltbarkeit in den Vorschriften des QS-Systems des Anwenders wie z. B. SOPs, Herstell- und Prüfanweisungen für die Kulturmedien, festzulegen.

Zur Haltbarkeit von Nährmedien selbst gab es früher in der USP Regelungen für Medien, die für die Sterilitätsprüfung eingesetzt wurden, diese sind in der aktuellen Ausgabe aber nicht mehr enthalten. Derzeit gibt es in den Arzneibüchern und im Kapitel 6.24 des EU-GMP-Leitfadens nur allgemeine Hinweise, die i. d. R. besagen, dass die Nährmedien unter definierten Bedingungen gelagert und die Haltbarkeit definiert und validiert bzw. verifiziert werden soll. Dabei wird nicht näher darauf eingegangen, ob, wie es in den USA derzeit verstärkt diskutiert und gefordert wird, die einzelnen Chargen der Kulturmedien während der Laufzeit in regelmäßigen Abständen einer erneuten Eignungsprüfung unterzogen werden sollten oder ob ein Stabilitätsprogramm für die Nährmedien aufgelegt werden muss, um deren Haltbarkeit festlegen und in regelmäßigen Abständen verifizieren zu können.

Zur Festlegung und Überprüfung der Haltbarkeit von Kulturmedien halten wir folgende Vorgehensweisen für sinnvoll und praktikabel: Die Haltbarkeit von Kulturmedien ist für jedes Kulturmedium je nach Lagerbedingungen sowie Herstellung und Behältnis spezifisch zu definieren. Generell ist ein Einfrieren, also auch eine kurzfristige Lagerung unter 0 Grad, genauso zu vermeiden wie Lagerungsbedingungen, die zu einem Austrocknen der Nährmedien führen können.

Sind die Lagerungsbedingungen definiert und werden sie kontinuierlich oder zumindest regelmäßig überwacht, können die Haltbarkeiten unter den definierten Bedingungen festgelegt werden. Hierbei sind die vorhandenen Informationen der Nährmedienhersteller nutzbar, sie können einen ersten Hinweis auf die mögliche Lagerdauer geben. Die so definierte Haltbarkeit der Kulturmedien ist dann im Rahmen eines Stabilitätsprogramms mit den in den Arzneibüchern vorgeschriebenen Eignungsprüfungen experimentell zu validieren und regelmäßig zu verifizieren. Dieses Vorgehen ist für regelmäßig eingesetzte Kulturmedien gut anwendbar. Bei Medien, die selten zum Einsatz kommen oder bei denen die Lagerung und Anwendung nicht exakt vorgegeben werden können, kann die regelmäßige Überprüfung der nutritiven und selektiven Eigenschaften an der einzelnen Charge über die Laufzeit hinweg sinnvoller sein.

Hierzu wird der für die Eignungsprüfung vor Einsatz der Medien vorgesehene Prüfumfang zur Bestimmung der nutritiven und selektiven und ggf. weiterer Eigenschaften mindestens am Ende des vorgesehenen Haltbarkeitszeitraumes wiederholt. In der Praxis hat es sich als hilfreich erwiesen, eine weitere Kontrolle nach einer zusätzlichen Lagerungszeit durchzuführen, die mindestens die maximal zu er-

wartende Bebrütungsdauer der Methode abdeckt, für die das Medium eingesetzt werden soll. Wenn wenig Erfahrungen mit einem Medium vorliegen oder z. B. bei Änderungen im Herstellungsprozess, können Untersuchungen in kürzeren Zeitintervallen als nur zu Beginn und zum Ende der vorgesehenen Lagerungszeit durchgeführt werden. Die Validierung sollte nicht nur an einer, sondern mehreren Chargen eines Mediums erfolgen, um Einflüsse von Ausgangsstoffen und des Herstellungsprozesses auf die Haltbarkeit ausschließen zu können. Zudem ist die Validierung in angemessenen Zeiträumen und z. B. bei Änderung des Herstellungsverfahrens und der Lagerungsbedingungen erneut zu verifizieren.

Bei Nährmedien, die nur selten verwendet werden, kann statt eines Stabilitätsprogramms eine regelmäßige Eignungsprüfung innerhalb der Zeit, in der die Charge verwendet wird und parallel zur durchgeführten mikrobiologischen Prüfung, erfolgen. Somit ist die Eignung regelmäßig überprüft und zum Einsatz der Charge quasi in Form einer „Positivkontrolle" sichergestellt. Diese Daten können dann ebenso wie Daten aus einer Stabilitätsstudie zur Verifizierung der Haltbarkeit ausgewertet werden. Es ist ebenso möglich, dieses Verfahren zur Verifizierung einer durch eine Stabilitätsstudie validierten Haltbarkeitsfrist eines Kulturmediums zu nutzen und auf eine Revalidierung durch eine erneute Stabilitätsstudie zu verzichten. Die nutritiven und selektiven Eigenschaften eines Kulturmediums müssen in jedem Fall innerhalb der definierten Haltbarkeitsfrist gegeben sein, dies kann nur durch experimentelle Überprüfung sichergestellt werden. Bei Änderung des Herstellungsverfahrens, Einsatz neuer Ausgangsstoffe für die Herstellung der Kulturmedien und Änderung der Lagerungsbedingungen sollte durch eine Risikobewertung hinterfragt werden, ob die definierte Haltbarkeitsfrist davon betroffen ist. Im Zweifelsfall sollten neue experimentelle Daten zur Verifizierung der Haltbarkeit generiert werden.

Ein weiterer Punkt, der zur Betrachtung der Haltbarkeit von Kulturmedien gehört, sind die Bedingungen während der eigentlichen Produktprüfung. Die oben beschriebene Stabilitätsprüfung gilt für die Bedingungen im Medienlager. Bei Einsatz der Nährmedien ändern sich die Bedingungen, da die Bebrütung in Brutschränken oder Kammern bei deutlich höheren Temperaturen erfolgt und die Nährmedien ggf. stärkeren Luftströmungen durch Ventilatoren oder Klimaanlagen in den Brutkammern ausgesetzt sind. Die Bebrütung dauert normalerweise mehrere Tage, so dass z. B. Nährmedien in Petrischalen austrocknen können und nicht mehr ausreichende nutritive Eigenschaften besitzen. Im Rahmen einer Stabilitätsprüfung sind die Eignungsprüfungen also unter den gleichen Bebrütungsbedingungen vorzunehmen, wie später die Produktprüfungen.

Die Gefahr des Austrocknens während der Anwendung besteht für Nährmedien, die für Umgebungskontrollen eingesetzt werden wie z. B. Sedimentationsplatten, insbesondere wenn sie unter LF-Einheiten aufgestellt werden. Die Eignung kann hier z. B. überprüft werden, indem Kulturmedien nach Abschluss der eigentlichen Prüfung mit Keimen beimpft werden, um zu belegen, dass die nutritiven Eigenschaften nach Verwendung noch gegeben sind. Bei einer großen Anzahl von entsprechenden Monitoringproben ist es dagegen eher sinnvoll, die Standzeit an einigen Chargen zu validieren. Dabei sollte der Zeitraum der zu erwartenden oder vorgeschriebenen Expositionsdauer plus eines Sicherheitszuschlags von 50 % oder 100 % der Expositionsdauer als Standzeit validiert werden. Um die Validierung regelmäßig zu verifizieren, können in vordefinierten Abständen Positivkontrollen nach der eigentlichen Prüfung wie oben beschrieben durchgeführt werden. Eine parallele Positivkontrolle mit Kulturmedien, die mit den zur Eignungsprüfung vorgesehenen Keimen beimpft und parallel mit verwendet wird, ist nicht sinnvoll, da z. B. bei Sedimentationsplatten die zur Positivkontrolle verwendeten Keime offen in eine LF-Einheit verbracht werden müssten, das Risiko einer Sekundärkontamination ist hierbei zu groß.

Die Kontrolle der Sterilität der Kulturmedien insbesondere die von Pufferlösungen kann in die Haltbarkeitsuntersuchungen mit einbezogen werden. Diese Prüfung gibt bei Einsatz validierter Sterilisationsverfahren aber nur Aufschluss darüber, ob die eingesetzten Gefäße ausreichend dicht und für die Lagerung geeignet sind. Diese Prüfungen könnten auch durch z. B. Container Closure Integrity Tests ersetzt werden, wenn Bördelflaschen für Kulturmedien eingesetzt werden, die in einem validierten Prozess verschlossen werden oder dicht schließende Schraubgefäße zum Einsatz kommen (Analog zur Guidance for Industry „Container and Closure System Integrity Testung in Lieu of Sterility Testung as a Component of the Stability Protocol for Sterile Products"; (FDA; Feb. 2008; www.fda.gov/cber/guidelines.htm). Im Routinebetrieb können für die Verifizierung der Sterilität über die Laufzeit auch indirekte Kontrollen mit ausgewertet werden. Dazu gehören z. B. die regelmäßig im Rahmen der Sterilprüfung durchzuführenden Negativkontrollen. Bei Schalen oder ausschließlich mit Kappen verschlossenen Gefäßen ist weder die Sterilprüfung noch ein Container Closure Integrity Test aussagekräftig; hier ist eine visuelle 100%-Kontrolle der Medien vor der Verwendung angezeigt, bei steril verpackten Medien wie Kontaktplatten für Reinräume sollte die Umverpackung und das Medium selbst vor Verwendung kontrolliert werden. Die hier beschriebenen Vorgehensweisen sind nur auf Nährmedien, die für die in den Arzneibüchern beschriebenen mikrobiologischen Reinheitsuntersuchungen genutzt werden, anwendbar. Die Eignungsprüfung ist hier durch die Arzneibücher vorgeschrieben, die Testmodelle sind dazu geeignet, die allgemeine Eignung der Nährmedien für die im Arzneibuch beschriebenen Verfahren, zu belegen. Wenn Kulturmedien für bioanalytische Assays eingesetzt werden, werden spezifischere, auf den einzelnen Assay oder das einzelne Produkt abgestimmte Anforderungen an sie gestellt. Deshalb basieren diesen Medien nicht auf Standardrezepturen, sie sind individuell auf die einzelnen Assays abgestimmt und oft sehr komplex in ihrer Zusammensetzung. Hier müssen sowohl die zur Eignungsprüfung genutzten Tests als auch die Haltbarkeit im Rahmen der jeweiligen Validierung des analytischen Verfahrens mit bearbeitet werden.

Kontakt:
Dr. Markus Limberger, Quasaar GmbH, m.limberger@quassar.de
Dr. Frank Böttcher, Labor L+S AG, frank.boettcher@labor-ls.de