

# Techno Pharm

MAKING SCIENCE WORK

Mit APV-News  
Nachrichten und Mitteilungen

01 · 2016

## **Produktionsoptimierung durch Robotereinsatz**

Bewältigung spezieller Anforderungen in der Herstellung homöopathischer Medikamente

## **Schutzmaßnahmen bei Upgrade eines Abfüllbereiches**

Gefährdungspotenzial und Vorgehensweise im Zuge eines Umbaus im laufenden Betrieb

## **High Containment in der Pharmaindustrie**

Anforderungen bei der Verarbeitung hochpotenter Wirkstoffe

## **Planung von RLT-Anlagen im Reinraum**

Potenziale für Nachhaltigkeit und Kostenreduktion durch energetisch sinnvolle Installationen

## **Kontrolle externer Logistikdienstleister**

Identifizierung, Bewertung und Steuerung des Gefahrenpotenzials durch Risikomanagement



# Messung nach USP <788> und <789>

Automatische Partikelzähler analysieren die Reinheit von pharmazeutischen Flüssigkeiten im Einklang mit geltenden Pharmakopöen

**Sabine Brummer und Sandra Suresh** • PAMAS Partikelmess- und Analysesysteme GmbH, Rutesheim

**Korrespondenz:** Sandra Suresh, Marketing Manager, PAMAS Partikelmess- und Analysesysteme GmbH, Dieselstraße 10, 71277 Rutesheim; **e-mail:** sandra.suresh@pamas.de

## Zusammenfassung

Bevor pharmazeutische Flüssigkeiten wie Infusionslösungen, Parenteralia, pharmazeutische Suspensionen oder intravenöse oder ophthalmische Flüssigkeiten zum Einsatz kommen, muss eine mögliche Verunreinigung ausgeschlossen werden. Dies kann mithilfe einer Partikelzählung festgestellt werden. Die Qualitätsvorgaben sind im pharmazeutischen Umfeld besonders hoch. In Arzneibüchern und Pharmakopöen wie USP <788> oder USP <789> sind die Reinheitskriterien und die Analysemethoden genau definiert. Nach einer Einführung in die Messtechnologie sollen im Folgenden verschiedene Anwendungsbereiche der Partikelmessung von pharmazeutischen Flüssigkeiten vorgestellt werden. Die Beispiele machen deutlich, dass es keine Pauschallösung für die Analyse von pharmazeutischen Flüssigkeiten gibt. So müssen z. B. Proteinlösungen unter Druck gemessen werden, während niedrigviskose Infusionslösungen für die Analyse direkt aus dem Beutel entnommen werden können. Die Messtechnik muss stets an die Anforderungen der spezifischen Anwendung angepasst werden.

## Key Words

- Messtechnik
- Partikelmessung
- Pharmakopöen
- USP <788> und <789>
- Reinheitskontrolle
- pharmazeutische Flüssigkeiten
- Verschmutzungsanalyse
- Partikelzähler

## Einleitung

Feststoffverschmutzungen in Wasser oder in Medikamenten können gesundheitliche Schäden verursachen. Ob pharmazeutische Flüssigkeiten frei von solchen Verunreinigungen sind, kann mit Methoden der Partikelzählung festgestellt werden. Im pharmazeutischen Umfeld werden Analysen üblicherweise im Einklang mit den amtlichen Arzneibüchern (Pharmakopöen) der US-amerikanischen Gesundheitsbehörde United States Pharmacopoeia (USP) durchgeführt. Zur Ermittlung der Feststoffverschmutzung in Flüssigkeiten sind nach USP <788> [1] zwei optische Messverfahren anerkannt: die automatische Partikelmessung nach dem Lichtabschattungsprinzip und die mikroskopische Partikelanalyse. Der Standard USP <788> enthält genau definierte Bestimmungen zur

## Autoren



*Sabine Brummer*

Nach ihrer Ausbildung zur Chemisch-Technischen Assistentin war Sabine Brummer zunächst an der Universität Stuttgart und im Applikationslabor eines Herstellers von Luftpartikelzählern tätig. Seit Oktober 1994 leitet sie das Applikationslabor der PAMAS Partikelmess- und Analysesysteme GmbH, eines Anbieters von automatischen Partikelzählern für die Reinheitskontrolle von Flüssigkeiten. Im Rahmen ihrer Tätigkeit berät Sabine Brummer Kunden und Anwender von Partikelzählern, speziell im Bereich der Wasseranalyse und der Messung pharmazeutischer Flüssigkeiten.



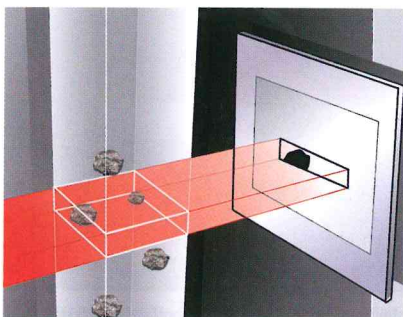
*Sandra Suresh*

Nach Abschluss ihres Magisterstudiums an der Universität Stuttgart war Sandra Suresh in den Redaktionen von Zeitschriftenverlagen und PR-Agenturen tätig. Seit April 2010 arbeitet sie in der Unternehmenskommunikation der PAMAS Partikelmess- und Analysesysteme GmbH. Neben der Presse- und Öffentlichkeitsarbeit ist Sandra Suresh auch für das Verfassen des Newsletters, für die Pflege des Internetauftritts und für die Erstellung von Produktbroschüren zuständig.



Vorgehensweise bei der korrekten Probenaufbereitung und der Kalibrierung des Messinstruments. Wo es möglich ist, wird die Methode der automatischen Partikelmessung der mikroskopischen Partikelanalyse vorgezogen. Denn die Messergebnisse sind objektiv, d.h. anwenderunabhängig; außerdem ist die automatische Partikelzählung mit weniger Zeit- und Personalaufwand verbunden. Für die Analyse trüber Flüssigkeiten und für Partikel mit einem Brechungsindex, der sehr nah an dem des Dispersionsmediums bzw. der Trägerflüssigkeit liegt, kann das automatische Messverfahren nach dem Lichtabschattungsprinzip nicht verwendet werden. Diese Flüssigkeiten müssen mit dem Mikroskop analysiert werden. Eine weitere Anwendung der mikroskopischen Partikelzählung ist die Analyse von Emulsionen, Kolloiden und liposomalen Flüssigkeiten.

Alle anderen pharmazeutischen Flüssigkeiten, z.B. Infusionslösungen, Parenteralia, pharmazeutische Suspensionen oder intravenöse oder ophthalmische Flüssigkeiten, können mit einem automatischen optischen Partikelzählsystem analysiert werden. Ein solches Messinstrument zählt die Verschmutzungspartikel und klassifiziert sie der Größe nach. Alle ungelösten Partikel werden im jeweiligen Messbereich des zur Analyse benutzten Sensors komplett erfasst.



**Abb. 1:** Die Grafik veranschaulicht das Funktionsprinzip der Partikelzählung: Die Fläche des Schattens, der auf die Photodiode projiziert wird, ist ein Maß für die Größe des erfassten Partikels (Quelle aller Abbildungen: PAMAS Partikelmess- und Analysensysteme GmbH).

## Messprinzip der optischen Partikelzählung

Optische Partikelzähler arbeiten mit Licht. Die Lichtquelle strahlt bei diesem Analyseverfahren durch die Flüssigkeit. Die Lichtwellen werden beim Auftreffen auf die in der Messzelle befindlichen Partikel z.B. abgeschattet. Aus der dabei entstehenden Signalveränderung am Detektor können mithilfe eines zuvor kalibrierten Zählapparates Informationen über den Partikelgehalt der Flüssigkeit gewonnen werden (Abb. 1). Optische Partikelzähler ermitteln nicht nur die Größe jedes einzelnen Partikels, sondern auch die Partikelanzahl pro ml.

## Kalibrierung und Richtlinien der Pharmakopöen

Die Zuordnung des Sensorsignals zur Partikelgröße wird bei der Kalibrierung bestimmt. Dabei wird das elektrische Signal in einen Partikeldurchmesser übersetzt. Die Kalibrierung von automatischen Partikelzählern ist je nach Anwendungsbereich anders normiert: Für die Analyse von Wasser werden Partikelzähler nach der Norm ISO 21501 [2] mit monodispersen (d.h. mit gleich großen) Latexpartikeln kalibriert. Bei Partikelzählern für Öle und Treibstoffe dagegen wird nach der Norm ISO 11171 [13] zertifizierter Teststaub für die Kalibrierung genutzt. Im Einklang mit der Pharmakopöe USP <788> [1] werden Partikelzähler mit monodispersen Latexpartikeln in den Größenklassen 10 µm, 15 µm und 25 µm kalibriert. Die standardisierten Latexpartikel werden für die Kalibrierung in sog. partikelfreies Wasser gegeben. Die Qualität des partikelfreien Wassers ist im Kapitel „Reagents, Indicators und Solution“ des Standards USP <788> genau definiert: Das Wasser ist partikelfrei, wenn sich in den insgesamt 25 ml der Probe höchstens 25 Partikel befinden, die größer als 10 µm sind.

Die Pharmakopöen regeln u.a. auch die Reinheitskriterien für Arz-

neimittel und pharmazeutische Lösungen. In der USP <788> ist der zulässige Partikelgehalt von Injektionslösungen festgelegt. Für Behältervolumen von mehr als 100 ml beträgt der erlaubte Grenzwert für Partikel >10 µm beispielsweise höchstens 25 Partikel pro ml und für Partikel >25 µm höchstens 3 Partikel pro ml. Für Behältervolumen von weniger als bzw. genau 100 ml gibt der Standard ein Höchstmaß von 6 000 Partikeln pro Behälter für Partikelgrößen >10 µm vor; der Behälter darf außerdem höchstens 600 Partikel enthalten, die größer als 25 µm sind.

Die Vorgehensweise zur Qualitätsanalyse von ophthalmischen Lösungen ist in der USP <789> [4] definiert. Für die europäische Pharmakopöe EP [5] und die japanische Pharmakopöe JP [6] gelten ähnliche Bestimmungen wie in den USP <788> und <789>.

## Validierung von Partikelzählern nach USP <788>

In den Pharmakopöen ist auch definiert, wie Partikelzähler validiert werden müssen, damit sie für die Analyse von Injektionen und pharmazeutischen Applikationen zugelassen werden können. Die Validierung von Partikelzählern gemäß USP <788> ist Bestandteil eines Qualifizierungsprogramms, das die normgerechte Inbetriebnahme von Partikelzählern für pharmazeutische Anwendungen begleitet und das sicherstellen soll, dass das Messinstrument tatsächlich innerhalb des normierten Messbereichs arbeitet. Die Validierung des Partikelzählers erfolgt anhand 5 standardisierter Tests. Dabei werden zunächst das Messvolumen und dann die Fließrate kontrolliert. Im Anschluss daran wird der Partikelzähler kalibriert. Die letzten beiden Tests überprüfen die Sensorauflösung und die Partikelzählgenauigkeit des Sensors.



## Normgerechte Auswertung der Messdaten

Mit speziell ausgestatteten Analysensystemen können die Vorgaben der Pharmakopöen einfach erfüllt werden. Ein Softwareprogramm für pharmazeutische Anwendungen ermöglicht etwa die normgerechte Darstellung von Messergebnissen gemäß den pharmazeutischen Standards USP, EP, BP (British Pharmacopoeia), JP und IPC (Indian Pharmacopoeia Commission). So ist auf einen Blick erkennbar, ob die analysierte Probenflüssigkeit die Bestimmungen der jeweiligen Norm erfüllt (Abb. 2). Die Software unterstützt auch die Validierung von Partikelzählern.

## Flexible Anpassung an den spezifischen Anwendungsbereich

### Die Wahl des passenden Analysensystems

Mit flexiblen Optionen können automatische Partikelzählsysteme an den spezifischen Anwendungsbereich angepasst werden.

Für niedrigviskose Probenflüssigkeiten wie Infusionslösungen, Parenteralia, pharmazeutische Suspensionen sowie intravenöse oder ophthalmische Flüssigkeiten eignen sich z.B. Laborsysteme, die direkt aus dem Originalbehälter messen können. Die Probe muss dann vor der Analyse nicht umgefüllt werden, sondern kann direkt aus dem Probenbehälter heraus analysiert werden (Abb. 3). Ein zusätzlicher Umfüllvorgang würde die Gefahr einer Verunreinigung von außen erhöhen und könnte das Messergebnis verfälschen. Diese Art der Probenzufuhr verringert zudem den Bedienungsaufwand für den Anwender. Automatische Partikelzähler für niedrigviskose Probenflüssigkeiten kommen z.B. in Kliniken, medizinischen Laboren oder in der Pharmaindustrie zum Einsatz.

Für die Analyse höherviskoser Probenflüssigkeiten ist eine zusätzliche Druckunterstützung erforderlich. Zu diesem Zweck werden Probenanalysensysteme mit einer Probenkammer ausgestattet, in der sowohl Überdruck als auch ein Vakuum erzeugt werden können. Überdruck wird gebildet, um höherviskose Flüssigkeiten für die

Messung durch den Sensor befördern zu können. Die Vakuumpfunktion wird verwendet, um Gasblasen aus der Probenflüssigkeit zu entfernen. Bedingt durch das optische Messprinzip würden Gasbläschen genauso wie Schmutzpartikel einen Schatten auf die lichtempfindliche Fläche der Fotodiode werfen. Falls die Flüssigkeit also Luft oder andere Gasbläschen enthält, werden diese Gasbläschen ebenfalls als Partikel erfasst. Der optische Partikelzähler misst dann zu viele Partikel und damit einen zu hohen Verschmutzungsgrad. Die Vakuumpfunktion schafft hier Abhilfe. Die Beaufschlagung mit Druck in der Probenkammer führt auch dazu, dass Probenflüssigkeiten mit einem niedrigen Siedepunkt während der Messung nicht ausgasen. Mithilfe einer Probenkammer können auf diese Weise auch die Partikel in höherviskosen und in stark ausgasenden Probenflüssigkeiten gezählt werden.

Speziell in der Pharmaindustrie kann es vorkommen, dass von bestimmten Probenflüssigkeiten etwa aus Kostengründen nur eine begrenzte Menge zur Verfügung steht. In solchen Fällen muss bei der Analyse darauf geachtet werden, dass die wertvolle Probenmenge nicht vergeudet wird. Partikelzählssysteme

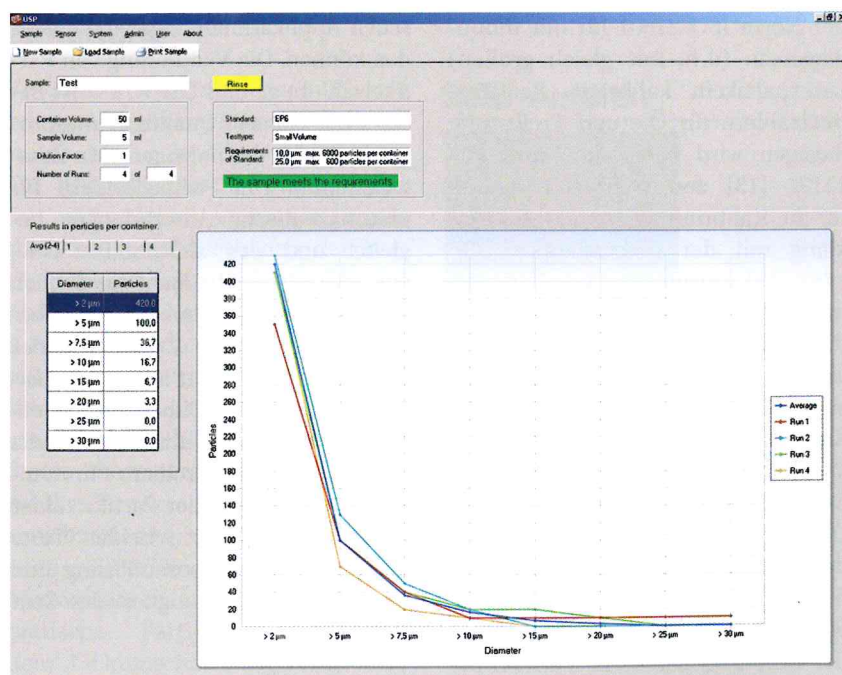


Abb. 2: Softwaregestützte Partikelzählssysteme geben Messergebnisse im Einklang mit Pharmakopöen aus. Das Messergebnis zeigt, ob die Reinheitskriterien nach USP <788> erfüllt sind.



Abb. 3: Mithilfe der integrierten Probenzufuhr kann die Probenflüssigkeit für die Partikelmessung direkt aus dem Originalbehälter entnommen werden. Ein zusätzlicher Umfüllvorgang und die damit verbundene Gefahr einer nachträglichen Verunreinigung werden auf diese Weise umgangen.





**Abb. 4:** Infusionslösungen können mithilfe speziellen Zubehörs am Partikelzähler befestigt werden und direkt aus dem Behälter heraus analysiert werden.



**Abb. 5:** Optional können Partikelzählsysteme mit einer kleineren Druckkammer ausgestattet werden. So können auch geringere Probenmengen höherer Viskosität unter Druck analysiert werden.

sind zu diesem Zweck mit einem speziellen Zusatzset für kleine Probenmengen erhältlich. Mit einer Nadel wird dabei eine sehr geringe Probenmenge ab 200 µl für die Analyse entnommen. Durch die Verwendung der speziellen Probenzuführung wird zu-

dem das Totvolumen auf ein Minimum verringert, so dass jeder Tropfen der Probenflüssigkeit für die Analyse genutzt werden kann.

Auch für die Analyse von Infusionslösungen ist spezielles Zubehör (Abb. 4) erhältlich, mit dem die Flüssigkeit ohne vorheriges Umfüllen direkt aus dem Behälter heraus analysiert werden kann.

Mit ihren spezifischen Anforderungen stellt die Pharmaindustrie die Hersteller von Analysesystemen oftmals vor wachsende Herausforderungen. Wenn mehrere Anforderungen zugleich erfüllt werden müssen, wird es für den Anwender schwierig, ein geeignetes Partikelzählsystem für seinen spezifischen Anwendungsbereich zu finden. So gibt es z.B. eine Vielzahl an Partikelzählsystemen für kleine Probenmengen sowie eine große Auswahl an Analysesystemen für höherviskose Probenflüssigkeiten. Aber für die Kombination von höherviskosen Probenflüssigkeiten in geringen Probenmengen bietet der Markt kaum Alternativen.

Ein Beispiel hierfür sind hochviskose Proteinlösungen, die in der Praxis in sehr kleinen Probenmengen von nur ca. 1 bis 2ml vorliegen. In einer Studie [7] fand ein Forschungsteam des Unternehmens Coriolis Pharma im Jahr 2014 heraus, dass hochviskose Proteinlösungen ausschließlich unter Druck analysiert werden können. Für die Untersuchung verglich die Forschungsgruppe Lichtabschattungs-Partikelzähler, die mit und ohne Druckfunktion ausgestattet waren. Die Studie zeigte, dass nur ein Partikelzähler mit Druckfunktion dazu in der Lage ist, hochviskose Proteinlösungen fehlerfrei zu messen (Abb. 5). Die Partikelanalyse ohne Druckunterstützung dagegen führt zu fehlerhaften Messergebnissen: Es werden zu wenige Partikel gezählt.

Die unterschiedlichen Anforderungsprofile machen deutlich, dass es für die Partikelanalyse von pharmazeutischen Flüssigkeiten keine Pauschallösung gibt. Je nach Probenflüssigkeit benötigt der Anwender ein

Partikelanalysesystem, das auf seine spezifische Anwendung abgestimmt ist. Vor dem Erwerb eines Partikelzählsystems sollte geklärt werden, ob mit dem Gerät niedrig- oder höherviskose Probenflüssigkeiten analysiert werden sollen, und in welchen Probenmengen die Flüssigkeit in der Praxis üblicherweise vorliegt.

### Die Wahl des passenden Sensors

Im Anschluss an die Art des Analysesystems wird in einem zweiten Schritt der zugehörige Sensor ausgewählt, der in das Partikelzählsystem eingebaut werden soll. Für Flüssigkeiten, die nach USP <788> analysiert werden sollen, eignet sich in den meisten Fällen ein Standardsensor mit einer Messzellengröße von 500 x 500 µm<sup>2</sup>, da der zulässige Partikelgehalt durch die Pharmakopöe bereits auf eine geringe Anzahl von Partikelgrößen im Bereich von 10 µm und 25 µm begrenzt ist. Für die Analyse anderer Flüssigkeiten muss der Sensor an die jeweilige Anwendung angepasst werden.

Entscheidende Kriterien für die Auswahl des geeigneten Sensors sind die zu erwartende Partikelkonzentration und die Partikelgrößen der Probenflüssigkeit sowie die Viskosität der Probenflüssigkeit. Diese beiden Größen stehen in entgegengesetztem Verhältnis zueinander: Im Hinblick auf die Viskosität wäre eine größtmögliche Sensormesszelle wünschenswert, wohingegen bei Berücksichtigung der Partikelkonzentration die kleinstmögliche Sensormesszelle ausgewählt werden sollte. Die Unvereinbarkeit der beiden Auswahlkriterien hat zur Folge, dass bei der Sensorauswahl keine allgemeingültige Entscheidung getroffen werden kann. Für jede Anwendung muss individuell entschieden werden, welcher Sensor sich am besten für die Partikelzählung eignet.

Die Konzentration der Flüssigkeit gibt an, wie viele Partikel sich in einem ml der Flüssigkeit befinden. Für die Auswahl des geeigneten Sensors muss geklärt werden, ob wenig kon-



taminierte Flüssigkeiten mit einer geringen Partikelpopulation oder stark verschmutzte Fluide mit einer hohen Partikelkontamination analysiert werden sollen. Für stark kontaminierte Flüssigkeiten eignet sich ein Partikelsensor mit einer kleinen Messzelle (z. B. mit einem Durchmesser von 250 µm): Koinzidenzfälle treten hier selten auf. Im Koinzidenzfall befinden sich zwei oder mehrere Partikel gleichzeitig in der Sensormesszelle. Stark kontaminierte Flüssigkeiten können nur mit einem Sensor gemessen werden, der über eine hohe Maximalkonzentration verfügt. Für Flüssigkeiten mit einer geringen Partikelpopulation reicht ein Sensormodell mit einer großen Messzelle (z. B. mit einem Durchmesser von 500 µm) aus. Nachdem der Sensor anhand des Kriteriums der Partikelkonzentration ausgewählt worden ist, muss noch überprüft werden, ob die größte Partikelgröße, die in der Flüssigkeit vorkommt, auch tatsächlich durch die Sensorzelle hindurchpasst. Andernfalls muss eine entsprechend größere Sensorzelle ausgewählt werden. Im Pharmabereich kommen jedoch nur selten Partikelgrößen >200 µm vor, so dass sich die Frage nach der Partikelgröße in den meisten Fällen erübrigt.

Das zweite Auswahlkriterium betrifft die Viskosität der Probenflüssigkeit. Nicht jede Sensorzelle eignet sich für jede Flüssigkeit. Im Falle einer höheren Viskosität ist eine gewisse Druckleistung erforderlich,

um die Flüssigkeit durch den Sensor zu pumpen. Eine erhöhte Pumpenleistung ist wiederum nur bei einer Sensorzelle mit einem größeren Durchmesser möglich. Für höherviskose Flüssigkeiten (z. B. Proteinlösungen) eignet sich ein Sensormodell mit einer größeren Sensorzelle, durch die bei entsprechendem Druck auch höherviskose Flüssigkeiten gepumpt werden können. Für die Analyse niedrigviskoser Flüssigkeiten (wie Wasser oder Infusionslösungen) kommt ein Sensor mit kleinerer Sensorzelle infrage. Das Probenfluid fließt hier auch bei geringer Druckleistung der Pumpe durch die Messzelle. Generell herrschen im Pharmabereich jedoch geringere Viskositäten vor, so dass in den meisten Fällen eine leichte Druckunterstützung ausreichend ist.

### Fazit

Bei der Auswahl des geeigneten Messinstruments für die Partikelanalyse von pharmazeutischen Flüssigkeiten kommt es auf drei Kriterien an: Erstens muss geprüft werden, ob bei der Analyse und bei der Auswertung der Messdaten bestimmte Standards oder Pharmakopöen eingehalten werden müssen. Nicht alle auf dem Markt erhältlichen Analysesysteme sind konform mit geltenden Normen. Zweitens ist es erforderlich, die spezifischen Anforderungen der jeweiligen Anwendung zu berücksichtigen. Gerät und Zubehör müssen auf die vorhandene Probenmenge des Fluids

und auf die Viskosität abgestimmt werden. Drittens muss vor dem Erwerb des Partikelzählers die Beschaffenheit der Probe in Betracht gezogen werden: In Abhängigkeit von der erwarteten Partikelkonzentration und Partikelgröße sowie von der Viskosität kann die Auswahl des Gerätetyps und der Sensormesszelle getroffen werden.

### Fachliteratur

- [1] USP <788>: *Particulate Matter in Injections*. Erschienen in: The United States Pharmacopeia USP. 37<sup>th</sup> edition. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2014.
- [2] ISO 21501:2007: *Determination of particle size distribution – Single particle light interaction methods*. Herausgegeben von: International Organization for Standardization, Genf, Schweiz. Erste Auflage, Mai 2007.
- [3] ISO 11171:2010: *Hydraulic Fluid Power – Calibration of Automatic Particle Counters for Liquids*. Herausgegeben von: International Organization for Standardization, Genf, Schweiz. Zweite Auflage, November 2010.
- [4] USP <789>: *Particulate Matter in Ophthalmic Solutions*. Erschienen in: The United States Pharmacopeia USP. 37<sup>th</sup> edition. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2014.
- [5] Europäische Pharmakopöe EP. 7. Auflage. Stuttgart: Deutscher Apothekerverlag, 2011.
- [6] Japanese Pharmacopoeia JP. 16<sup>th</sup> edition. Tokyo: Ministry of Health, Labour, and Welfare, 2011.
- [7] Daniel Weinbuch, Wim Jiskoot, Andrea Hawe: *Light Obscuration Measurements of Highly Viscous Solutions: Sample Pressurization Overcomes Underestimation of Subvisible Particle Counts*. Erschienen in: The AAPS Journal, Ausgabe 06/2014; DOI:10.1208/s12248-014-9629-0, Springer US, Juni 2014.