



GÖCH Arbeitskreis „Mikrobiologie“

Zwischenbericht: Ringversuch Konservierungsbelastungstest (KBT) für kosmetische Mittel

Hintergrund/Ausgangslage:

Nach der EU Richtlinie 76/768 EWG und Verordnung 1223/2009 EG muss der Hersteller die Sicherheit inkl. der mikrobiologischen Sicherheit von kosmetischen Produkten im Rahmen der Sicherheitsbewertung belegen. Für kosmetische Mittel, die für das Wachstum von Mikroorganismen anfällig sind, ist ein wirksames Konservierungssystem notwendig, um die mikrobiologische Stabilität während Herstellung, Lagerung und Anwendung sicherzustellen, und somit ein Gesundheitsrisiko für den Konsumenten zu minimieren.

Hierfür sind für den Bereich der kosmetischen Mittel keine Testsysteme vorgeschrieben, sondern es liegt in der Verantwortung des Unternehmers das Nachweissystem zu definieren. Eines der am häufigsten eingesetzten Testmodelle ist der Konservierungsbelastungstest nach der European Pharmacopoeia (Ph. Eur. 5.1.3), in dem nach Beimpfen eines kosmetischen Mittels mit Testmikroorganismen die Bestimmung der Kolonie bildenden Einheiten (KBE) zu festgelegten Zeitpunkten erfolgt. Aus den ermittelten KBE-Werten wird die logarithmische (log) Reduktionsrate, ausgedrückt als log 10 pro Testkeim bestimmt, die als Beurteilungsmaßstab für das im kosmetischen Mittel eingesetzte Konservierungssystem gilt. Die Beurteilung erfolgt nach zwei Kriterien:

1. Die Abnahme der vermehrungsfähigen Mikroorganismen erfolgt in einem bestimmten Zeitintervall.
2. Die Forderung, dass die Zahl Kolonie bildender Einheiten unter Berücksichtigung der mikrobiologischen Messunsicherheit zu keinem Zeitpunkt des Testes ansteigen darf.

Es ist anzumerken, dass diese Methode hinsichtlich Haltung der Teststämme, Vorbereitung der Keimsuspension und Vorkonditionierung sehr viel Variabilität zulässt.

In einem von dem Arbeitskreis Mikrobiologie der GÖCH organisierten Ringversuch, der von einer akkreditierten Inspektionsstelle betreut und statistisch ausgewertet wurde, sollte die Variabilität der Methode für die Prüfung auf ausreichende Konservierung von kosmetischen Mitteln eingeschätzt werden.

Der Ringversuch wurde im ersten Quartal 2010 durchgeführt. Hierzu wurde ein hergestelltes kosmetisches Produkt in 20 verschiedenen Laboratorien (Betriebslabore und Prüfinstitute) nach dem Konservierungsbelastungstest gemäß Ph. Eur. 5.1.3. untersucht. Jedes Labor erhielt die Vorgabe das Produkt zu testen. Es wurden keine weiteren Vorgaben an die teilnehmenden Labore gemacht. Die Prüfung sollte so durchgeführt werden wie dieses routinemäßig erfolgt.

Ergebnis:

Alle beteiligten Laboratorien kamen zu dem Ergebnis, dass das kosmetische Mittel nicht die Anforderungen an eine ausreichende Konservierung gemäß Ph. Eur. erfüllt. Es waren jedoch große Schwankungen zu einzelnen Messzeitpunkten zu beobachten.

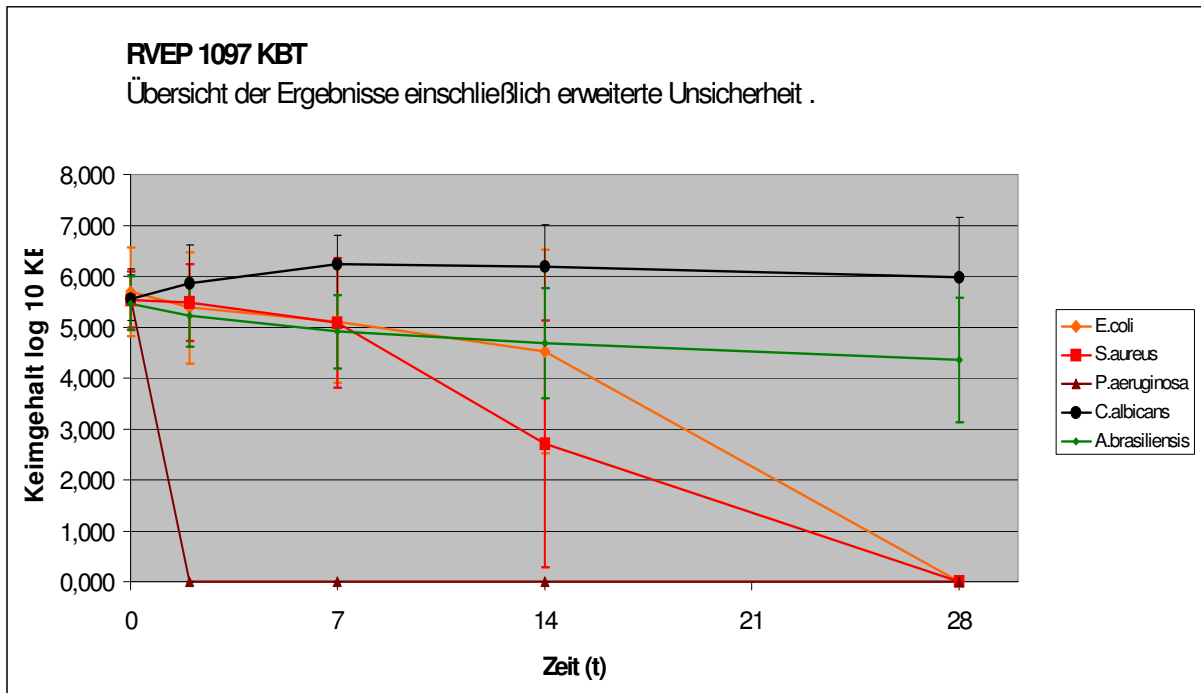


Abb. 1: Übersicht der Testergebnisse des Ringversuchs [1]

Während *P. aeruginosa* nach 2 Tagen zu meist nicht mehr nachweisbar war, wurde bei *A. brasiliensis* und *C. albicans* über den Testverlauf von 28 Tagen nur eine geringe bzw. keine Reduktion der Keimzahl festgestellt. Bei den Ergebnissen von *A. brasiliensis* und *C. albicans* lag die Streubreite aller teilnehmenden Laboratorien bzw. der Lab Bias (einfache Standardabweichung der Labormittelwerte um den Besten Schätzwert) bei ca. 0,74 log₁₀ KBE/g. Dieser Wert überschreitet die zur Zeit tolerierten Streuungen von 0,5 log₁₀ deutlich. Bei *S. aureus* und *E. coli* konnte eine Reduktion der Keimzahlen unterhalb der Nachweisgrenze erst nach 28 Tagen festgestellt werden. Bei diesen Testorganismen zeigte sich jedoch, dass diese Abnahme zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattfand. Damit schwankte die log. Reduktion zu den festgelegten Intervallen stark. Insbesondere die log. Reduktion von *S. aureus* im Zeitintervall von 7-14 Tagen variiert um bis zu 5 Größenordnungen (5 log₁₀ Stufen) (!).

Gerade Ergebnisse aus diesen Messzeitpunkten spielen für Kosmetik Entwickler / Hersteller unter der Berücksichtigung der (behördlichen) Anforderungen an die Sicherheitsbewertung eine große Rolle in der Optimierung des Konservierungssystems. Diese Werte spielen auch eine sehr große Rolle in der Bewertung der Tests nach Ph. Eur.

Da jedes Laboratorium den Konservierungsbelastungstest zwei mal durchgeführt hat, ist auch eine Aussage über die laborinterne Schwankungsbreite möglich. Innerhalb eines Labors lag die mittlere erweiterte Messunsicherheit U_{ex} (2*mittlere Standardabweichung der 2 Doppelbestimmungen) der Laboratorien über alle Keime und Messzeitpunkte bei ca. 0,14 log₁₀ KBE/g. Dies repräsentiert eine gute Wiederholbarkeit der einzelnen Laboratorien.

In dem Fall des hier getesteten Produktes ist die Ergebnislage eindeutig: die Rezeptur ist nicht ausreichend konserviert. Bei grenzwertigen Rezepturen würden diese Schwankungen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen, ganz besonders wenn die Testungen parallel durch verschiedene Labore erfolgen. Die Wirksamkeit des Konservierungssystems würde teilweise nicht den Anforderungen der Ph. Eur. entsprechen. Jedoch könnte die Sicherheit der Rezeptur durchaus aufgrund weiterer vorliegender Daten gewährleistet sein.

[1] DRRR Ringversuch RVEP 1097, 2010

Weitere Vorgehensweise:

Nach eingehender Diskussion der Ergebnisse durch den Arbeitskreis Mikrobiologie und nach Abwägung der verschiedenen methodischen Gründe, die solchen Schwankungen zugrunde liegen könnten, wurde der Parameter „Testmikroorganismus“ als wichtige Einflussgrösse erkannt. Die gesamte Vorbehandlung der Testmikroorganismen, von der Stammhaltung über die Vorkultivierung zur Herstellung der Impfsuspension unterliegt grossen Variationsmöglichkeiten. Die Ph Eur. gibt dazu wenig Vorgaben.

Es ist daher für das Jahr 2011 geplant, in einem zweiten Ringversuch den ersten Versuch mit einer geringeren Anzahl von Testkeimen (nur *S. aureus* und *A. brasiliensis*) jedoch mit der gleichen Rezeptur zu wiederholen. Im Rahmen des zweiten Versuchs werden die Testmikroorganismen einheitlich zentral verteilt und an die Teilnehmer detailliertere Angaben zu deren Vorbehandlung gegeben. Es soll damit geprüft werden, ob es hinsichtlich der zu den verschiedenen Testzeitpunkten ermittelten überlebenden Testmikroorganismen zu einer geringeren Streubreite unter den teilnehmenden Laboratorien kommt. Die Ergebnisse dazu sind Ende 2011 zu erwarten.

Interessierte Laboratorien sind herzlich zur Teilnahme eingeladen. Für Fragen stehen gerne folgende Ansprechpartner zur Verfügung:

Arbeitskreisverantwortliche:

Dr. Sheida Hönlinger
Head of Personal & Homecare Germany/Austria
SGS Institut Fresenius GmbH
Phone 0049-7148 744- 214
Mobil: 0043-664-4107510
Email:sheida.hoenlinger@sgs.com

oder Ringversuchskoordinator:

Dr. Ulrich Leist
DRRR
Deutsches Referenzbüro für Lebensmittel-Ringversuche und Referenzmaterialien GmbH
Bodmanstraße 4 D-87435 Kempten

Fon: +49 (0)8 31/960 878-0
Fax: +49 (0)8 31/960 878-99
E-mail: info@DRRR.de Website: www.DRRR.de