

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 1 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Geltungsbereich	Inspektorat	
Schlüsselwörter	Biotechnologie; Gentechnologie	
Querverweise	071201; 071206; 071211; 071212, Glossar	
erstellt	EFG 04	Januar 2006
		Datum / Unterschrift
fachlich geprüft	Dr. Gabriele Wanninger	25.01.2006
formell geprüft	Dr. Oliver Onusseit	25.01.2006
beschlossen	Humanarzneimittelbereich Christiane Dörner, Vorsitzende AG AATB	<i>Ch. Dörner</i> 25.8.06
	Tierarzneimittelbereich Dr. Christine Höfer, Vorsitzende AG TAM	<i>C. Höfer</i> 7.9.2006
	Tierimpfstoffbereich Dr. Klaus Reimer, Vorsitzender AG TT	<i>K. Reimer</i> 06.09.2006
genehmigt		
in Kraft gesetzt		
	gültig ab	

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 2 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	3
Definitionen und Abkürzungen	5
1 Qualitätssicherung	9
2 Personal	9
3 Räumlichkeiten und Ausrüstung.....	10
3.1 Produktionsbereiche.....	10
3.2 Tierställe	13
3.3 Reinigung und Reinigungsvalidierung.....	14
4 Dokumentation	15
5 Produktion	16
5.1 Zellbänke.....	16
5.2 Ausgangsstoffe, Medien und Wasser.....	20
5.3 Zellkultur und Fermentation	26
5.4 Ernte, Extraktion, Isolierung, Aufreinigung	30
5.5 Virussicherheit und Validierung der Virusanreicherung	33
5.6 Abfüllung des Wirkstoff-Bulks.....	36
5.7 Zubereitung und Abfüllung des Arzneimittels.....	37
6 Qualitätskontrolle	39
6.1 Spezifikationen	39
6.2 In-Prozess-Kontrollen und Freigabeproofung des Wirkstoffes und des Arzneimittels	40
6.3 Identitätsprüfungen	43
6.4 Reinheit	44
6.5 Gehalt.....	46
6.6 Biologische Aktivität	46
6.7 Stabilität	47
6.8 Spezielle Prüfmethofen	48
7 Herstellung Prüfung im Lohnauftrag.....	55
8 Beanstandungen und Produktrückruf	55
9 Selbstinspektion.....	55
Literaturverzeichnis.....	55
Stichwortverzeichnis	58

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 3 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Vorwort

Im Rahmen der Qualitätssicherung in der Arzneimittelüberwachung soll ein einheitlicher Inspektionsleitfaden „Aide mémoire Bio- und Gentechnologie“ als Grundlage für die Inspektionen von Betrieben gelten, die pharmazeutische Produkte auf bio- und/oder gentechnologischem Wege herstellen und prüfen.

Das Aide mémoire ist eine Zusammenstellung der Expertenmeinung in der EFG 04. Abweichungen von den in diesem Aide mémoire beschriebenen Anforderungen sind möglich und sind insbesondere dann zu akzeptieren, wenn sie zum gleichen Ergebnis führen und der Sicherheit von bio- und gentechnologisch hergestellten pharmazeutischen Produkten dienen bzw. den Zulassungsunterlagen entsprechen.

Das Aide mémoire Bio- und Gentechnologie wird bei Bedarf den aktuellen Anforderungen angepasst. Vorschläge beteiligter Kreise zur Ergänzung und Verbesserung des Aide mémoire an die Expertenfachgruppe 4 sind erwünscht.

Folgende Produkte und Herstellungsmethoden werden von diesem Dokument insbesondere erfasst:

Produkte:

- Impfstoffe
- Proteine und Polypeptide
- Monoklonale Antikörper
- Immunsera
- Antigene
- Peptidhormone
- Zytokine
- Enzyme

Das vorliegende Dokument findet keine Anwendung auf Gen- und Zelltherapeutika sowie auf Produkte, die unter die Monographie „Fermentationsprodukte“ der Ph.Eur. fallen.

Herstellungsmethoden:

- Mikrobielle Kulturen und Zellkulturen, einschließlich der mit Hilfe der rekombinanten DNS- oder Hybridomtechnik gewonnenen;
- Extraktion aus biologischen tierischen oder menschlichen Geweben
- Herstellung vermehrungsfähiger Agenzien in Embryonen, Tieren oder Zellkulturen

Im Allgemeinen gelten die GMP-Prinzipien, wie sie für Arzneimittel im Teil I, für Wirkstoffe im Teil II des EG-GMP-Leitfadens sowie seinen Anhängen niedergelegt sind. Sie werden in diesem Aide mémoire nicht wiedergegeben, vielmehr werden, soweit anwendbar, die Vorgaben in den Aides mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“, „Überwachung von Steril-Arzneimittelherstellern“, „Inspektion der Qualifizierung und Validierung in der pharmazeutischen Herstellung und Qualitätskontrolle“, „Kommentar zur Ergänzenden Leitlinie für Computergestützte Systeme“ vorausgesetzt.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 4 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Vorschriften des Gentechnik-Rechts und des Arbeitsschutzes werden hier nicht kommentiert.

Zitate aus deutschsprachigen Leitlinien sind wortgetreu übernommen, Zitate aus englischsprachigen Leitlinien sinngemäß übersetzt worden. Zitate und sinngemäße Übersetzungen aus Leitlinien werden im nachfolgenden Text durch kursive Schreibweise kenntlich gemacht.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 5 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Definitionen und Abkürzungen

Begriffsbestimmungen und Geltungsbereich der GMP-Regeln

Vorbemerkung:

Im nachfolgenden werden bestimmte Begriffsbestimmungen, wie sie im Arzneimittelgesetz und in den einschlägigen Leitlinien für die Bio-/Gentechnologie Verwendung finden, wiedergegeben. Aus der Einstufung von Stoffen bzw. Produkten und den Herstellungsprozessen ergibt sich die Anwendung der zutreffenden GMP-Regeln.

Definitionen:

AMG § 4 Abs. 19

Wirkstoffe sind Stoffe, die dazu bestimmt sind, bei der Herstellung von Arzneimitteln als arzneilich wirksame Bestandteile verwendet zu werden oder bei ihrer Verwendung in der Arzneimittelherstellung zu arzneilich wirksamen Bestandteilen der Arzneimittel zu werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Glossar

Wirkstoff: Jede Substanz oder Substanzmischung, die für die Herstellung eines Arzneimittels verwendet werden soll und die bei ihrer Verwendung in der Arzneimittelproduktion ein wirksamer Bestandteil des Arzneimittels wird.

Ph.Eur. Monographie Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung

Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung sind alle organischen und anorganischen Substanzen, die als Wirk- oder Hilfsstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen und/oder am Tier verwendet werden. Sie können natürlichen Ursprungs sein oder durch Extraktion von Rohmaterialien, durch Fermentation oder Synthese hergestellt werden.

Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung können als solche oder als Ausgangsmaterialien für nachfolgende Formulierungen zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet werden. In Abhängigkeit von der Formulierung können bestimmte Substanzen entweder als Wirkstoffe oder als Hilfsstoffe eingesetzt werden...

Wenn in den Einzelmonographien spezifisch festgelegt ist, dass die Substanz zur pharmazeutischen Verwendung

- ein rekombinantes Protein oder eine andere Substanz ist, die als direktes, auf genetischen Veränderungen basierendes Genprodukt gewonnen wird, dann muss die Substanz, falls anwendbar, außerdem den Anforderungen der allgemeinen Monographie „DNA-rekombinationstechnische hergestellte Produkte“ entsprechen.
- von Tieren gewonnen wird, die für übertragbare spongiforme Enzephalopathien außer im Falle von experimenteller Belastung empfänglich sind, dann muss die Substanz, falls anwendbar, außerdem den Anforderungen der allgemeinen Monographie „Produkte mit dem Risiko der Übertragung von Erregern der spongiformen Enzephalopathie tierischen Ursprungs“ entsprechen.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 6 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Anwendbarkeit der GMP-Regeln:

PharmBetrV § 1 Abs. 1 und 3

Diese Verordnung findet Anwendung auf Betriebe und Einrichtungen, die Arzneimittel, Wirkstoffe, die menschlicher, tierischer oder mikrobieller Herkunft sind oder auf gentechnischem Wege hergestellt werden, oder andere zur Arzneimittelherstellung bestimmte Stoffe menschlicher Herkunft gewerbsmäßig herstellen, prüfen, lagern, verpacken, in den Verkehr bringen oder in den Geltungsbereich des Arzneimittelgesetzes verbringen.

Die Regelungen dieser Verordnung gelten für die in Absatz 1 Satz 1 genannten Stoffe und Wirkstoffe entsprechend.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.14

Für alle Herstellungsstufen sollten ordnungsgemäße Kontrollen eingerichtet werden, um die Qualität des Zwischenprodukts oder Wirkstoffs zu sichern. Zwar beginnt der vorliegende Leitfaden mit dem Zellkultur-/Fermentationsschritt, dennoch sollten frühere Schritte (z.B. die Pflege von Zellbanken) unter ausreichenden Prozesskontrollen stattfinden. Der vorliegende Leitfaden deckt Zellkulturen-/Fermentation ab dem Punkt ab, an dem ein Vial der Zellbank zu Herstellungszwecken entnommen wird.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 19.11

Die Kontrolle von für klinische Prüfungen hergestellten Wirkstoffen sollte mit dem Entwicklungsstadium des Arzneimittels, dessen Bestandteil der Wirkstoff ist, kongruent sein. ... Erreicht die Arzneimittelentwicklung die Stufe, auf der der Wirkstoff für die Verwendung in Arzneimitteln für die klinische Prüfung produziert wird, sollten Hersteller gewährleisten, dass der Wirkstoff in geeigneten Anlagen mittels entsprechender Herstellungs- und Prüfverfahren hergestellt wird, um die Qualität des Wirkstoffs sicherzustellen.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden

Anwendungsbereich: Die zur Herstellung biologischer pharmazeutischer Produkte angewandten Methoden bestimmen in entscheidendem Maße die geeigneten behördlichen Kontrollen. Biologische pharmazeutische Produkte können deshalb weitgehend unter Hinweis auf ihre Herstellungsmethode definiert werden.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 7 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Zellbanken:

Eine Herstellungserlaubnis und GMP-Bedingungen für die Herstellung von Zellbanken kann aufgrund der derzeitigen Rechtslage nicht gefordert werden, sollte jedoch aus fachlichen Gründen angestrebt werden (Bezugnahme auf Annex 2 und 18 EG-GMP-Leitfaden). Bei einer zukünftigen Revision des Annex 2 soll darauf hingewirkt werden, entsprechende Anforderungen vorzusehen.

Zellbanken müssen beim Eingang in den Herstellungsbetrieb einer Freigabeprüfung entsprechend einer festgelegten Spezifikation unterzogen werden. Durch Prüfungen, Zertifikate oder entsprechende Dokumentation muss gewährleistet sein, dass die Identität der Zellbank sicher gestellt ist, die Zellbank für den vorgesehenen Zweck geeignet ist und kein Sicherheitsrisiko darstellt.

Ausgangsstoffe:

Stoffe, die menschlicher, tierischer oder mikrobieller Herkunft oder auf gentechnischem Wege hergestellt und die dazu bestimmt sind, bei ihrer Verwendung in der Arzneimittelherstellung zu arzneilich wirksamen Bestandteilen zu werden, sind Wirkstoffe und unterliegen damit der Erlaubnispflicht gemäß §§ 13, 72 AMG sowie den GMP-Regeln.

Die übrigen Ausgangsstoffe sind durch die GMP-Regeln dahingehend erfasst, dass sie durch den Hersteller gemäß Spezifikation zu prüfen sind, bevor sie in der Produktion zum Einsatz kommen. Diese Prüfung umfasst neben der Analytik auch die Lieferantenqualifizierung. Entsprechendes gilt für Hilfsstoffe. Ausgangs- und Hilfsstoffe sollen – soweit vorhanden - den allgemeinen und individuellen Spezifikationen des Arzneibuchs entsprechen.

Wirkstoffe:

Gemäß §§ 13, 72 AMG sind die Herstellung und die Einfuhr von Wirkstoffen, die menschlicher, tierischer oder mikrobieller Herkunft sind oder auf gentechnischem Wege hergestellt werden, zum Zwecke der Abgabe an andere bzw. zur Weiterverarbeitung erlaubnispflichtig.

Gemäß § 14 Abs. 1 Nrn. 6 und 6a AMG i.V.m. § 20 a AMG ist die Erteilung einer Herstellungserlaubnis für Wirkstoffe an personelle, räumliche und wissenschaftlich-technische Voraussetzungen gebunden. Diese Voraussetzungen ergeben sich aus der PharmBetrV und dem EG-GMP-Leitfaden.

Arzneimittel:

Die Weiterverarbeitung des Wirkstoffs bzw. der konzentrierten Wirkstoff-Lösung zum Arzneimittel unterliegt den §§ 13, 14 AMG i.V.m. der PharmBetrV und dem EG-GMP-Leitfaden einschließlich Annexes. Da die Arzneimittel mit bio-/gentechnologisch hergestellten Wirkstoffen überwiegend parenteral verabreicht werden, wird hier besonders auf Annex 1 des EG-GMP-Leitfadens und die dortigen Anforderungen an die aseptische Abfüllung hingewiesen.

Arzneimittel und Wirkstoffe für die klinische Prüfung:

Die Herstellung und Einfuhr von o. g. Wirkstoffen und Arzneimitteln für die klinische Prüfung sind ebenfalls erlaubnispflichtig gemäß §§ 13, 72 AMG und unterliegen den entsprechenden GMP-Regeln.

Im Hinblick auf § 14 Abs. 1 Nrn. 6, 6a AMG sollten folgende Mindestvoraussetzungen eingehalten werden:

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 8 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Ein effektives Konzept zur Vermeidung von Kreuzkontamination muss vorhanden sein.
- Die Qualifizierung von Anlagen und Geräten muss abgeschlossen sein.
- Eine Prozessvalidierung in vollem Umfang wird nicht erwartet. Jedoch sollte ein Plan zur Prozessvalidierung mit Akzeptanzkriterien entsprechend dem Stand der technischen Entwicklung des Prozesses vorhanden sein.
- Die ggf. erforderliche aseptische Abfüllung muss validiert sein.
- Anstelle der Reinigungsvalidierung kann eine Reinigungsverifizierung treten.

- Gemäß „Annex 13, EG-GMP-Leitfaden“ sind bei klinischen Prüfpräparaten hinsichtlich der Virusinaktivierung / -entfernung die einschlägigen Leitlinien einzuhalten. Die Effektivität einzelner Produktionsschritte Viren zu eliminieren soll durch Validierungsstudien belegt werden. Der Umfang dieser Studien ist dabei unter Berücksichtigung des Risikos durch die verwendeten Ausgangsmaterialien/Hilfsstoffe sowie im Kontext der Erfahrung mit bestimmten Inaktivierungs-/Entfernungsmethoden bei standardisierten Herstellungsverfahren zu begründen (3. Bekanntmachung des BfArM und des PEI zur klinischen Prüfung von Arzneimitteln am Menschen).
- Für Phase-III-Präparate ist der Umfang der Virusvalidierung in Abhängigkeit vom hergestellten Produkt zu begründen und durchzuführen.

- Validierung analytischer Methoden:
 - Klinische Prüfpräparate der Phase 1: Keine volle Validierung erforderlich, jedoch müssen in Abhängigkeit von der betrachteten Methode die jeweils relevantesten Parameter der Prüfmethode validiert sein
 - Klinische Prüfpräparate der Phase 2 und 3: Aufbauend auf den Validierungsparametern der Phase 1 stufenweise Anpassung bis zur vollständigen ICH-konformen Validierung vor Beantragung der Zulassung.
 - Zugelassene oder in der Zulassung befindliche Arzneimittel: Validierung gemäß ICH-Leitlinien Q2A und Q2B

Vom Stand von Wissenschaft und Technik werden im Übrigen keine Abstriche gemacht.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 9 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

1 Qualitätssicherung

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

2 Personal

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 1

Das gesamte Personal der Bereiche, in denen biologische pharmazeutische Produkte hergestellt werden (einschließlich der Kräfte für Reinigung, Wartung oder Qualitätskontrolle), sollte eine zusätzliche Schulung erhalten, die speziell auf die hergestellten Produkte und auf die zu verrichtenden Tätigkeiten ausgerichtet ist. Den Mitarbeitern sollten entsprechende Kenntnisse und eine Ausbildung in Hygiene und Mikrobiologie vermittelt werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 2

Die für die Produktion und Qualitätskontrolle verantwortlichen Personen sollten über ausreichende Grundkenntnisse in den einschlägigen wissenschaftlichen Disziplinen verfügen verbunden mit ausreichenden praktischen Erfahrungen, um ihre Leitungsfunktion für den jeweiligen Prozess ausüben zu können.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 3

Für die Unbedenklichkeit des Produkts ist auch der immunologische Status der Beschäftigten zu berücksichtigen. Sämtliche in der Produktion, bei der Wartung, bei der Prüfung und in der Tierpflege beschäftigten Personen (einschließlich Inspektoren) sollten erforderlichenfalls mit geeigneten speziellen Impfstoffen geimpft werden und sich regelmäßigen Gesundheitskontrollen unterziehen. Über das naheliegende Problem der Exposition von Mitarbeitern gegenüber infektiösen Erregern, stark wirksamen Toxinen oder Allergenen hinaus ist es nicht weniger wichtig, die Gefahr der Verunreinigung einer Produktionscharge mit infektiösen Erregern zu vermeiden. Besuchern sollte der Zugang zu den Produktionsbereichen in der Regel verwehrt sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 4

Jede Änderung des immunologischen Status von Mitarbeitern, die die Qualität des Produkts beeinträchtigen könnte, sollte eine Beschäftigung der jeweiligen Personen im Produktionsbereich ausschließen. In der Produktion von BCG-Impfstoff und Tuberkulinpräparaten sollte ausschließlich Personal beschäftigt werden, das durch regelmäßige Überprüfung seines immunologischen Status oder durch Thorax-Röntgenuntersuchungen sorgfältig kontrolliert wird.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 5

Im Laufe eines Arbeitstages sollte das Personal nicht aus Bereichen, in denen eine Exposition gegenüber lebenden Mikroorganismen oder Tieren möglich ist, in Bereiche überwechseln, in denen mit anderen Produkten oder anderen Mikroorganismen gearbeitet wird. Wenn ein solcher Wechsel unvermeidlich ist, sollten die Mitarbeiter dieser Produktionsbereiche eindeutig definierte Dekontaminationsmaßnahmen ausführen, einschließlich des Wechselns der Kleidung und des Schuhwerks sowie, falls erforderlich, des Duschens.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 22

Das in Tierställen beschäftigte Personal muss spezielle Kleidung und die Möglichkeit zum Wechsel der Kleidung haben.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 10 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.32

Das Personal sollte geeignete Schutzkleidung tragen und besondere Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung der Kulturen befolgen.

Inspektionsinhalte:

- Ausbildung und praktische Erfahrung des Personals
- Spezielle Personalschulung vor Aufnahme der Tätigkeiten und fortlaufende Schulung und Information; Kontrolle des Schulungserfolgs
- Gesundheitszustand des Personals
 - Erstuntersuchung vor erstem Arbeitsantritt und Nachuntersuchungen in regelmäßigen Abständen (z.B. alle 12 Monate bei häufigem Kontakt mit infektiösem Material);
 - ggf. Impfungen;
 - Untersuchungen aus besonderem Anlass (Erkrankung oder Verdacht);
 - Untersuchungen nach Beendigung der Beschäftigung
- Zuordnung des Personals zu den jeweiligen Bereichen
- Beschränkung des Zutritts auf benannte Beschäftigte und andere autorisierte Personen
- Einschränkung der Berechtigung zum Zutritt in andere Produktionsbereiche am selben Arbeitstag für Personal, das mit humanpathogenen Viren, sporenbildenden Mikroorganismen oder in Tierställen arbeitet
- Kleidung und Umkleiprozedere einschließlich Dekontaminationsmaßnahmen
- Arbeitsweise des Personals und Kontrolle
 - z.B. durch ein Beobachtungsfenster zur Sichtkontrolle

3 Räumlichkeiten und Ausrüstung

Vorbemerkung

Das Kapitel behandelt die Vorgaben zum Raumkonzept, allgemeine Aspekte zur Ausrüstung und zur Reinigung und Reinigungsvalidierung. Spezielle Anforderungen an Anlagen und Geräte und deren Reinigung sind in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben.

3.1 Produktionsbereiche

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 6

Der Grad der Umgebungskontrolle auf partikuläre und mikrobielle Kontamination sollte dem jeweiligen Produkt und Produktionsschritt angepasst sein; dabei sollten das Kontaminationsniveau der Ausgangsstoffe und das Risiko für das Fertigprodukt berücksichtigt werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 7

Die Gefahr einer Kreuzkontamination zwischen biologischen pharmazeutischen Produkten insbesondere während derjenigen Herstellungsstufen, in denen lebende Mikroorganismen verwendet werden, kann zusätzliche Vorsichtsmaßnahmen im Hinblick auf die Einrichtungen und Ausrüstungen erforderlich machen, so z. B. die Verwendung besonderer Einrichtungen und Ausrüstungen, die Produktion in Kampagnen und die Verwendung geschlossener Systeme. Der Grad der Trennung, der zur Vermeidung einer Kreuzkontamination erforderlich ist, wird durch die Beschaffenheit des Produkts und durch die verwendete Ausrüstung bestimmt.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 11 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 8

Zur Produktion von BCG-Impfstoff und zum Umgang mit lebenden Mikroorganismen, die bei der Herstellung von Tuberkulinpräparaten Anwendung finden, sollten grundsätzlich besondere Einrichtungen verwendet werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 9

*Besondere Einrichtungen sollten für den Umgang mit *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* und *Clostridium tetani* bis zum Abschluss des Inaktivierungsprozesses verwendet werden.*

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 10

Produktion in Kampagnen kann für andere sporenbildende Mikroorganismen unter der Voraussetzung zulässig sein, dass die Einrichtungen nur für diese Produktgruppe verwendet werden und zur selben Zeit nicht mehr als ein Produkt hergestellt wird.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 13

Zur Verarbeitung steriler Produkte sollten Überdruckbereiche verwendet werden, während in bestimmten Bereichen, in denen die Gefahr einer Exposition gegenüber den Erregern besteht, aus Sicherheitsgründen ein Unterdruck zulässig ist. Soweit Unterdruckbereiche oder Sicherheitswerkbänke zum aseptischen Arbeiten verwendet werden, sollten diese von einer sterilen Überdruckzone umgeben sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 14

Jeder Herstellungsbereich sollte eine eigene Luftfiltrationseinheit besitzen; umgewälzte Luft sollte nicht aus Bereichen stammen, in denen mit lebenden pathogenen Erregern gearbeitet wird.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.15

Es sollten geeignete Ausrüstungs- und Umgebungskontrollen vorgenommen werden, um das Risiko einer Kontamination zu minimieren. Die Akzeptanzkriterien für die Umgebungsqualität und die Häufigkeit einer Überwachung hängen vom jeweiligen Produktionsschritt und von den Produktionsbedingungen (offene, geschlossene oder abgegrenzte Systeme oder Anlagen) ab.

Inspektionsinhalte: Maßnahmen zur Vermeidung von Kontamination und Kreuz-Kontamination

- Logischer Material- und Personalfluss
- Separate Herstellungsbereiche: Zwingend für die Produktion von BCG-Impfstoff und lebenden Mikroorganismen für die Herstellung von Tuberkulinpräparaten sowie für den Umgang mit *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* und *Clostridium tetani* bis zum Abschluss des Inaktivierungsprozesses
- Kampagnenbetrieb: generell möglich, wenn adäquate Produktwechselmaßnahmen etabliert sind. Bei Organismen der Risikogruppe 2 ist eine Risikobewertung notwendig
- Getrennte Herstellungsräume für Zellbanketablierung, Vorkultur und Fermentation sowie Aufreinigung und Abfüllung. Für Zellbanketablierung und Vorkultur kann auch eine zeitliche Trennung ausreichend sein.
- Filtration der Zu- und Abluft im Herstellungsbereich (prozessabhängig, siehe unten)
- Belüftungsanlagen für bestimmte Herstellungsbereiche: Normalerweise separate Belüftungssysteme für Fermentation und Aufreinigung, separate Belüftungssysteme für Produktionsschritte vor und nach dem wirksamsten Schritt der Virusanreicherung/-inaktivierung, sofern der Prozess nicht in geschlossenen Systemen abläuft oder die RLT-Anlage nicht mit 100% Frischluft betrieben wird.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 12 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Separate Belüftung für Kontrolllaboratorien, in denen mikrobiologisch gearbeitet wird
- Sinnvolle Platzierung von Zuluft- und Abluftöffnungen
- Kontrollierte Umgebungsbedingungen (siehe unten)
- Geschlossene oder abgegrenzte Systeme: insbesondere für Multifunktionsbereiche erforderlich
- Ausrüstung, die ausschließlich einem Produkt gewidmet ist; Multi-Produkt-Konzept, Produktwechselprozedere
- Reinigung und Dekontamination von Rohrleitungen, Armaturen, Belüftungsfiltren
- Reinigungsvalidierung
- Dekontamination von Ableitungen (Abwasser, Produkt)

Für Produktionsbereiche zur Herstellung von Wirkstoffen sind Umgebungsbedingungen eindeutig festzulegen und zu begründen. Die Reinraumklassen für die Herstellungsbereiche sollen so ausgelegt sein, dass das Risiko einer Kontamination des Prozesses aus dem Umfeld adäquat minimiert ist. Die Festlegung der Reinraumklassen erfolgt unter Berücksichtigung des Anlagendesigns und der Geschlossenheit der Prozesse im Rahmen einer Risikoanalyse.

Als Orientierung für die Anforderungen an die Reinraumklassen bei der Herstellung von Wirkstoffen zur Herstellung steriler Arzneimittel im Produktionsbereich dient die folgende Aufstellung:

Zellbanketablierung:

Klasse C; Sicherheitswerkbank der Klasse A für offene Produktionsschritte

Ansatz von Medien und Puffern:

je nach Kontaminationsrisiko (ggf. Klasse C oder D)

Vorkultur (Startkultur und nachfolgende Passagen bis zur Überführung in geschlossenes Fermentersystem):

Klasse C oder D, je nach Kontaminationsrisiko; LF der Klasse A für offene Produktionsschritte

Fermentation:

Klasse D für geschlossene Systeme, für offene Schritte LF der Klasse C

Ernte, Aufreinigung:

Klasse D für geschlossene Systeme, für offene Schritte LF der Klasse C

Abfüllung Wirkstoff:

Klasse A in Klasse B für sterile Wirkstoffe; Klasse C (alternativ A in D) für nicht sterile Wirkstoffe

Für die Abfüllung von sterilen Arzneimitteln gelten die Anforderungen des Annex 1 des EG-GMP-Leitfadens.

Die Kontrolle der Umgebungsbedingungen hinsichtlich Partikel und Keime sollen in jeder Reinraumklasse einem Monitoring unterliegen. Hierbei sind insbesondere folgende Gesichtspunkte zu beachten:

- Monitoring der Druckkaskade
- Partikelmonitoring (im Betriebszustand falls erforderlich und im Ruhezustand in ausreichender Frequenz gemäß Risikoanalyse)
- Mikrobiologisches Monitoring (Luft, Oberflächen; Personal bei Sterilabfüllung)
- Warn- und Aktionsgrenzen
- Maßnahmen bei Überschreitungen und Unterschreitungen (Druckkaskade)

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 13 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Inspektionsinhalte: Anlagen und Ausrüstung

- Qualifizierung (ICH-Q7A Kapitel 12 und Annex 15 des EG-GMP-Leitfadens), insbesondere folgender Betriebsmittel:
 - Belüftungssysteme
 - Sicherheitswerkbänke
 - Fermenter
 - Chromatographiesäulen
 - Wassersysteme
 - Heiz-/Kühlsysteme
 - Gassysteme
 - Computergestützte Systeme
- Geschlossene Systeme
 - zur Vermeidung einer Freisetzung oder Kontamination insbesondere für Multifunktionsbereiche erforderlich
 - hydrophobe, sterilisierbare BelüftungsfILTER (Tiefen- oder Siebfilter) mit validierter Lebensdauer
 - Dichtigkeit (Flansche oder Verschraubungen mit O-Ring-Dichtungen, Schweißnähte, Dichtungen)
 - Geschlossene, CIP/SIP-fähige Leitungen und Ventile (Membranventile oder Schlauchventile)
 - Sterilisierbare Gleitringdichtungen oder Magnetkupplungen zum Betrieb von Rührern ohne Wellendurchführung
 - Wahrung des geschlossenen Systems z. B. bei Zugabe von Stoffen, Probenahme, Ernte und Produkttransfer
- Ausrüstung, die ausschließlich einem Produkt gewidmet ist
 - Grundsätzlich erforderlich für Säulen-Matrix bei chromatographischen Reinigungsschritten
- Wartung, und Kalibrierung nach festgelegten Intervallen
- Statuskennzeichnung (Wartung, Kalibrierung, Reinigung)

3.2 Tierställe

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 21

Zur Herstellung einer Reihe biologischer pharmazeutischer Produkte werden Tiere verwendet, so z.B. bei Polioimpfstoff (Affen), Schlangenserum (Pferde und Ziegen), Tollwutimpfstoff (Kaninchen, Mäuse und Hamster) und Serumgonadotropin (Pferd). Außerdem können Tiere zur Qualitätskontrolle der meisten Seren und Impfstoffe verwendet werden, so z.B. von Pertussis-Impfstoff (Mäuse), BCG-Impfstoff (Meerschweinchen) und zur Prüfung auf Pyrogene (Kaninchen).

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 22

Tiere, die zur Produktion und Qualitätskontrolle biologischer pharmazeutischer Produkte verwendet werden, sollten von den Produktions- bzw. Qualitätskontrollbereichen getrennt gehalten werden.

Inspektionsinhalte

Es sollten die Vorschriften und deren Einhaltung für folgende Bereiche überprüft werden:

- Art der Tierhaltung und der Tierställe; getrennt vom Produktions- und Qualitätskontrollbereich; Quarantänestall getrennt von den übrigen Ställen
- Reinigung und Desinfektion der Tierställe

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 14 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Wasser und Streu etc.
- Herkunft und Handhabung des Futters
- Überwachung der Gesundheit der Tiere
- Entsorgung von Abfall und Tierkadavern
- Identifizierung und Rückverfolgbarkeit jedes einzelnen Tiers, wo erforderlich
- Isolation und Quarantäne, wo erforderlich

3.3 Reinigung und Reinigungsvalidierung

Vorbemerkung:

In diesem Kapitel werden allgemeine Gesichtspunkte der Reinigung und Reinigungsvalidierung angesprochen. Spezielle Anforderungen an die Reinigung bestimmter Anlagen und Geräte sind in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 15

Anordnung und Gestaltung der Produktionsbereiche und ihrer Ausrüstung sollten eine wirksame Reinigung und Dekontamination ermöglichen (z.B. durch Begasung). Die Eignung der Reinigungs- und Dekontaminationsverfahren sollte validiert werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 17

Rohrleitungen, Armaturen und BelüftungsfILTER sollten so konstruiert sein, dass sie leicht gereinigt und sterilisiert werden können. Dabei sollten bevorzugt In-situ-Reinigungs- und In-situ-Sterilisationssysteme verwendet werden. Die Armaturen an den Fermentern sollten vollständig dampfsterilisierbar sein. Die BelüftungsfILTER sollten hydrophob und für die jeweils vorgesehene Lebensdauer validiert sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 19

Ableitungen, die pathogene Mikroorganismen enthalten können, sollten wirksam dekontaminiert werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 5.21 – 5.26

Siehe Kapitel Reinigung der Ausrüstung

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 12.70 – 12.76

Siehe Kapitel Reinigungsvalidierung

Annex 15 Ziff 36 – 42

Inspektionsinhalte: Reinigung der Ausrüstung:

- Schriftliche Verfahrensanweisungen für die Reinigung und Freigabe der Ausrüstung
 - Zuweisung der Verantwortlichkeiten
 - Reinigungszeitpläne
 - Beschreibung der Methoden und Materialien
 - Beschreibung der (De-)Montage der Ausrüstung wo erforderlich
 - Anbringen/Entfernen der Kennzeichnung (Reinigungsstatus und Ch.-B.)
 - Beschreibung der Aufbewahrungsbedingungen gereinigter Ausrüstung
 - Sicherstellung des adäquaten Reinigungsstatus der Ausrüstung unmittelbar vor Benutzung
 - Einhaltung der maximalen Standzeit
- Reinigung bei kontinuierlicher oder Kampagnenproduktion
- Begründete Wahl der Reinigungsprozeduren und Akzeptanzkriterien für Rückstände
- Reinigung, Sanitisierung sowie Lagerung unter Vermeidung von Kontamination

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 15 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Aufzeichnungen über die Benutzung, Reinigung, Sanitisierung oder Sterilisation
- Erkennbarer Reinigungsstatus
- Abfallentsorgung unter Vermeidung von Kontamination

Inspektionsinhalte: Reinigungsvalidierung:

Siehe Aide mémoire „Inspektion von Qualifizierung und Validierung in pharmazeutischer Herstellung und Qualitätskontrolle“ unter besonderer Berücksichtigung nachfolgender Gesichtspunkte.

Allgemeine Betrachtungen:

- Akzeptanzkriterien für Produktrückstände, Reinigungsmittel-Rückstände und mikrobiologische Verunreinigungen auf produktberührenden Oberflächen
- Widerspiegelung der aktuellen Produktionsverhältnisse
- Risikobetrachtung
- ggf. Berücksichtigung von mikrobiologischen und Endotoxinverunreinigungen (z.B. bei nicht-sterilen Wirkstoffen zur Herstellung von Parenteralia).
- Festlegung von Reinigungs-/Desinfektionsmethoden, -intervallen und Standzeiten
- Validierung durch 3 erfolgreiche, aufeinanderfolgende Anwendungen der Reinigungsprozedur
- Validierung der Standzeiten gereinigter/sanitisierter Ausrüstung
- Periodische Überprüfung der Validität:
 - Keine signifikanten Änderungen: Review
 - Signifikante Änderungen: Revalidierung

Substanzauswahl:

- Auswahl einer repräsentativen Gruppe von Produkten, ggf. Stellvertretersubstanz
- Worst-case-Betrachtung
- In Ausnahmefällen (bei toxischen/gesundheitsschädlichen Substanzen) Simulation mit Substanz ähnlicher physikochemischer Eigenschaften

Probenahme:

- Rinsing, swabbing oder geeignete alternative Methoden

Akzeptanzkriterien und analytische Methoden:

- In der Regel analytische Tests, visuelles Begutachten nur bei validiertem Nachweis, dass Sichtbarkeitslimit < Rückstandslimit.
- Kein „Test until clean“
- Verwendung genügend empfindlicher Analysenmethoden (Detektionslimit < Rückstandslimit)
- Ermittlung der Wiederfindungsrate (bei swab-Tests)

4 Dokumentation

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 16 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

5 Produktion

5.1 Zellbanken

Vorbemerkung:

Zur Produktion von rekombinanten Proteinen werden hauptsächlich Kulturen von Säugerzellen, Hefen, Bakterien oder Insektenzellen verwendet. Zur Produktion von monoklonalen Antikörpern werden Säugerzellen verwendet.

Ausgangsmaterial sind Zellbanken, hier werden Master-Zellbank (MCB) und Arbeitszellbank (WCB) unterschieden. Die MCB stammt von einer einzigen Bakterien- oder Hefekolonie oder einer einzelnen Säugerzelle ab. Die WCBs werden aus der MCB abgeleitet. Die Zellbanken werden cryokonserviert und in den meisten Fällen in oder über flüssigem Stickstoff in der Gasphase gelagert.

Ph.Eur. Monographie DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte (784)

Die Herstellung beruht auf einem validierten Saatgutssystem, bei dem eine Wirt-Vektor-Kombination verwendet wird, die sich als geeignet erwiesen hat und von der zuständigen Behörde genehmigt worden ist. Das Saatgutssystem beinhaltet eine Master-Zellbank und eine Arbeitszellbank, die von dem Master-Saatgut der Wirt-Vektor-Kombination abgeleitet wurden. Eine ausführliche Beschreibung der Kultivierungs-, Extraktions- und Reinigungsschritte sowie eine Definition der Produktionscharge müssen erstellt werden.

Die Validierung der Zellbanken umfasst

- *Nachweis der Stabilität durch Messung der Lebendrate und der Retention des Expressionskonstruktes*
- *Nachweis der Identität der Zellen durch phänotypische Eigenschaften*
- *falls angebracht, den Nachweis darüber, dass die Zellbanken frei von potentiell onkogenen oder infektiösen, zusätzlichen Erregern (Viren, Bakterien, Pilze oder Mycoplasmen) sind.*

Besondere Aufmerksamkeit muss auf Viren gerichtet werden, die üblicherweise die Spezies, von der die Zelllinie abgeleitet worden ist, kontaminieren. Bestimmte Zelllinien enthalten endogene Viren, beispielsweise Retroviren, die nicht ohne weiteres beseitigt werden können. Die Expression dieser Organismen soll, unter verschiedensten Bedingungen, die bekanntermaßen ihre Induktion auslösen, untersucht werden.

- *für Säugetierzellen die Erarbeitung von Einzelheiten über das tumorerzeugende Potential der Zellbank.*

Kontrolle der Zellen:

Herkunft, Form, Lagerung, Verwendung und die Stabilität bei der vorgesehenen Art der Verwendung müssen für alle Zellbanken unter den Bedingungen der Lagerung und der Wiedergewinnung vollständig dokumentiert werden. Neue Zellbanken müssen vollständig validiert werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 30

Die Saatkulturen und Zellbanken sollten in einer entsprechend kontrollierten Umgebung etabliert werden, damit sie selbst und ggf. das Personal geschützt werden. Gleichzeitig mit der Etablierung einer Zellbank darf im selben Bereich oder durch die selbe Person mit keinem andern lebenden oder infektiösen Material (z.B. Viren, Zelllinien, Zellstämme) umgegangen werden.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 17 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 31

Die Lagertemperatur sollte bei Gefriergeräten laufend aufgezeichnet und der Füllstand bei Flüssigstickstoff ordnungsgemäß kontrolliert werden. Jede Abweichung vom festgesetzten Grenzwert und jede vorgenommene Korrektur sollten dokumentiert werden.

Eine ausreichende Anzahl von Ampullen muss insbesondere von der MCB vorhanden sein, um eine langfristige Produktion zu gewährleisten. Aus Sicherheitsgründen erfolgt die Lagerung der Ampullen in der Regel an verschiedenen Orten. Der Zugang und die Entnahme der Ampullen müssen geregelt sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 32

Jeder Umgang mit dem Material sollte ausschließlich dem dazu befugten Personal unter der Kontrolle einer verantwortlichen Person gestattet sein. Der Zugang zu gelagertem Material sollte kontrolliert werden. Unterschiedliche Saatkulturen oder Zellbänke sollten so gelagert werden, dass Verwechslungen oder Kreuzkontaminationen vermieden werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 33

Sämtliche Behältnisse der primären und sekundären Zellbänke und Saatkulturen sollten den gleichen Lagerungsbedingungen ausgesetzt sein. Sie sollten nach der Entnahme aus dem Lager nicht wieder dorthin zurückgegeben werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.20

Der Zugriff auf Zellbanken sollte auf befugtes Personal begrenzt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.21

Zellbanken sollten unter Lagerungsbedingungen gehalten werden, die die Lebensfähigkeit der Zellen erhalten und eine Kontamination verhindern.

EG-GMP-LeitfadenN Teil II Ziff. 18.22

Es sollten Aufzeichnungen über die Verwendung der Vials aus Zellbanken und ihre Lagerbedingungen geführt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.23

Wo erforderlich, sollten Zellbanken periodisch überwacht werden, um ihre Anwendungseignung zu überprüfen.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95) Ziff. 2.1.2

Der Ursprung und die Herkunft (Laboratorium oder Zellsammlung) der Zellen müssen belegt werden.

Ursprung, Geschichte und Produktion der Zellbänke müssen dokumentiert sein, einschließlich Methoden, Reagenzien, Anzahl der Passagen und Lagerungsbedingungen.

Die Herstellung der MCB und WCB sollte unter kontrollierten Bedingungen erfolgen. Gleichzeitiges Arbeiten mit anderen Zellen sollte ausgeschlossen sein. Eine ausreichende Trennung räumlich und zeitlich muss gewährleistet sein.

Eine neue MCB muss vollständig charakterisiert werden und ist zulassungspflichtig.

Bei humanen Zelllinien sollen folgende Charakteristika des ursprünglichen Donors beschrieben werden:

- Ursprungsorgan oder –gewebe
- Donor-Testung
- Geschlecht, Alter, Gesundheitszustand

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 18 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Bei Bakterien und Hefen sollten Spezies, Stamm, geno- und phänotypische Charakteristika beschrieben werden, ebenso, falls vorhanden, mögliche Pathogenität, Toxinproduktion oder anderes biologisches Gefährdungspotential.

Für alle Herstellungsschritte, bei denen die Möglichkeit besteht, dass die Zellen infektiösen Agenzien ausgesetzt sind, muss eine Risikobewertung vorgelegt werden. Für alle Bestandteile des Mediums, die humanen oder tierischen Ursprungs sind, wie Sera, Enzyme, Hydrolysate, Wachstumsfaktoren oder andere lebende Zellen, müssen Herkunft, Herstellungsmethode, Kontrollmethoden, Testergebnisse und Qualitätssicherung belegt werden.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95) Ziff. 2.2.2

Der Hersteller soll das Zellbanksystem, die Größe der Zellbank, die Behältnisse und das Verschlusssystem, die Herstellungsmethode der Zellbank einschließlich der Kryokonservierungsmittel und Medien sowie die Kryokonservierung und Lagerung beschreiben.

Der Hersteller soll die Verfahren zur Vermeidung von Kontamination und Kreuzkontamination durch andere Zellen im Labor beschreiben einschließlich des Dokumentations- und Kennzeichnungssystems.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95) Ziff. 2.3

Die Charakterisierung der Zellbänke ist eine kritische Komponente in der Qualitätskontrolle biotechnologischer Produkte. Die Charakterisierung der MCB schließt die Prüfungen auf Identität, Reinheit, Eignung und Stabilität ein. Der Umfang der Prüfungen hängt von Art und Herkunft der Zelllinien ab.

Die WCB ist ebenfalls auf Identität und Reinheit zu prüfen.

Identitätsprüfungen:

Die Zellbanken sind phänotypisch und genotypisch zu charakterisieren. Identitätstests sind generell bei der MCB, in eingeschränktem Umfang bei der WCB durchzuführen.

Menschliche und tierische Zellen können durch morphologische Analyse oder durch den Einsatz von spezifischen Markern charakterisiert werden.

Bei mikrobiellen Zellen erfolgt eine Analyse des Wachstums auf ausgewählten Medien. Für E. coli sollte eine biologische Charakterisierung wie z.B. Phagentypisierung vorgenommen werden. Für Plasmidbanken kann nach CPMP/ICH/139/95 vorgegangen werden.

Reinheitsprüfungen:

Reinheitsprüfungen sind für MCB und WCB durchzuführen.

Menschliche und tierische Zellen sollten folgenden Prüfungen unterzogen werden: Mikrobiologische Belastung (Ph.Eur.), Mycoplasma (Ph.Eur.), Viren (ICH Q5A), andere Zelllinien (Kreuzkontamination).

Die Tests für mikrobielle Zellen sollten sich nach der wissenschaftlichen Literatur richten und die Herkunft, die Herstellung, das Kulturmedium und Kreuzkontamination berücksichtigen.

Stabilität während der Kultivierung:

Verwendung von Zellen, die minimale Subkultivierungen hinter sich haben und geringes Alter aufweisen.

Stabilität des Zellsubstrats:

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 19 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Für Zelllinien mit rDNA sollte die codierende Sequenz festgestellt werden. Für nicht rekombinante Zelllinien sollte die proteincodierende Sequenz verifiziert werden.

Andernfalls können auch andere Methoden wie morphologische Charakterisierung, Prüfung der Wachstumseigenschaften, biochemische oder immunologische Markierung, Kontrolle der Produktivität herangezogen werden.

Auch ein Vergleich der Zellcharakteristik am Anfang und Ende der Zellhaltbarkeit gibt Aufschluss über die Stabilität des Zellsubstrats.

Ferner ist zu zeigen, dass die Einfrier- und Auftauprozesse geeignet sind.

Prüfungen auf Tumorigenität:

Die Notwendigkeit solcher Prüfungen ist abhängig von der Art der Zellen, des Produkts und des Herstellungsprozesses. Produkte, die lebende Zellen enthalten oder einer geringen Aufreinigung unterzogen werden, sollten basierend auf einer Risikobewertung auf Tumorigenität geprüft werden.

ICH Q5B (CPMP/ICH/139/95)

Die MCB wird umfassender charakterisiert als die aus ihr hervorgehende WCB. Können in begründeten Fällen bestimmte Untersuchungen an der MCB nicht durchgeführt werden, so kann auch die WCB verwendet werden.

Folgende Untersuchungen sollten durchgeführt sein:

- *genotypische Charakterisierung*
- *phänotypische Charakterisierung*
- *molekulare Charakterisierung des Vektors /der eingebrachten DNA*
- *Nachweis von viralen Kontaminationen*
- *Tests zum Nachweis von mikrobiellen Kontaminanten und Mycoplasma*
- *Nachweis der reproduzierbaren Produktion des gewünschten Produkts /Stabilität des Wirt-Vektor-Systems.*

Inspektionsinhalte:

Herstellung der Zellbänke

- Etablierung von MCB und WCB unter kontrollierten Bedingungen
- Herstellung der Zellbänke in ausreichend kontrollierter Umgebung
- Kein gleichzeitiger Umgang mit anderen Zelllinien im Herstellungsraum

Lagerung und Handhabung der Zellbänke

- Lagerung an verschiedenen Lagerorten
- Kontrollierte und gleichartige Lagerungsbedingungen an allen Lagerungsorten: normalerweise in Stickstofftanks bei ≤ -130 °C in der Gasphase
- Füllstandsanzeige und Alarmsystem zur Vermeidung von Kühlmittelverlust, Temperaturanstieg und Überfüllung mit Stickstoff
- getrennte Lagerung, ggf. getrennte Lagertanks für gesperrte, in Quarantäne befindliche und freigegebene Zellbänke (Risikoanalyse)
- Beschränkung der Zugangsberechtigung auf befugte und benannte Personen
- Nachvollziehbare Dokumentation der Einlagerung, Umlagerung, Bilanzierung der Entnahme und des Verbleibs, ausführliche Inventarisierung

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 20 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Einfrier- und Auftaubedingungen, Qualität der Einfrierbehältnisse und sichere Kennzeichnung

Qualität der Zellbänke

- Herkunft und Charakterisierung der Zellbänke
- Ursprung und Charakterisierung der eingebrachten Nukleinsäuren
- Prüfung der Rohdaten zu den Zellbänken entsprechend den Zulassungsunterlagen (sofern vorhanden)
- Stabile und reproduzierbare Produktion der gewünschten Produkte
- Abwesenheit mikrobieller Kontaminationen wie Bakterien, Pilze, Mycoplasma bei eukaryotischen Systemen; Nachweis von Fremdkeimen bei prokaryotischen Systemen
- Virussicherheit, Nachweis der Abwesenheit von Viruskontaminationen, Eignung der eingesetzten Ausgangsstoffe
- Dokumentation der nicht den Spezifikationen entsprechenden Zellbänke, Untersuchung der Abweichung und Ursachenabklärung
- Maßnahmen zur Sicherstellung der Stabilität von Zellbänken während der Lagerung
- Rückstellmuster der WCB
- Änderungskontrolle
 - neue MCB
 - Ausgangsstoffe
 - Herstellung der WCB
 - Lagerungsbedingungen von MCB und/oder WCB

5.2 Ausgangsstoffe, Medien und Wasser

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 20

Wegen der Unterschiedlichkeit biologischer Produkte oder Prozesse müssen einige Hilfs- oder Wirkstoffe während des Produktionsprozesses zugemessen oder eingewogen werden (z.B. Puffer). In diesen Fällen können kleine Vorräte dieser Stoffe im Produktionsbereich aufbewahrt werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff.25

Quelle, Ursprung und Eignung der Ausgangsstoffe sollten klar definiert werden. Bei zeitaufwendigen Prüfungen kann es zulässig sein mit der Verarbeitung der Ausgangsstoffe zu beginnen, bevor die Prüfergebnisse vorliegen. In solchen Fällen ist die Freigabe eines Fertigprodukts davon abhängig ob die Ergebnisse dieser Prüfung zufriedenstellend ausfallen.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 26

Wenn Ausgangsstoffe sterilisiert werden müssen, sollte die Sterilisation nach Möglichkeit durch Hitze erfolgen. Soweit erforderlich, können zur Inaktivierung der biologischen Materialien auch andere geeignete Verfahren verwendet werden. Bei den meisten biologischen Ausgangsmaterialien ist eine Hitzesterilisierung nicht möglich.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 34

Die wachstumsfördernden Eigenschaften der Kulturmedien sollen belegt sein.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.35

Nährmedien sollten gegebenenfalls vor ihrem Einsatz sterilisiert werden, um die Qualität des Wirkstoffs zu schützen.

Ph.Eur. Monographie Fermentationsprodukte (1468)

Die Ausgangsmaterialien, die für die Fermentation und/oder die Aufarbeitung verwendet werden, müssen von geeigneter Qualität sein. Sie müssen geprüft werden,

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 21 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

um sicherzustellen, dass sie den schriftlich festgehaltenen Spezifikationen entsprechen.

Mikroorganismen in Nährmedien... dürfen nur in so kleiner Anzahl vorhanden sein, dass eine dadurch bedingte Kontamination die Qualität, Reinheit und Sicherheit des Produkts nicht beeinträchtigt. Nährstoffe, Vorläufersubstanzen und Substrate müssen während der Fermentation unter aseptischen Bedingungen zugegeben werden.

Ph.Eur. 5.2.3 Zellkulturen für die Herstellung von Impfstoffen für Menschen

Medien und Substanzen tierischen oder menschlichen Ursprungs:

Die Zusammensetzung der für die Isolierung und alle nachfolgenden Kulturen verwendeten Medien wird sorgfältig protokolliert. Substanzen tierischen oder menschlichen Ursprungs müssen frei von fremden Agenzien sein.

Falls Albumin vom Menschen verwendet wird, muss dieses der Monographie Albuminlösung vom Menschen entsprechen.

Das für die Präparation und Herstellung von Zellkulturen verwendete Rinderserum wird mit geeigneten Methoden geprüft und muss nachweislich steril und frei von Mycoplasmen und Rinderviren sein, insbesondere frei von Rinder-Diarrhö-Virus.

Für die Präparation von Zellkulturen verwendetes Trypsin wird mit geeigneten Methoden geprüft und muss nachweislich steril und frei von Mycoplasmen und Viren sein, insbesondere frei von Pestviren und Parvoviren.

Ph.Eur. Monographie: Impfstoffe für Menschen

Allgemeine Anforderungen:

Während der Herstellung können geeignete Hilfsstoffe einschließlich Adjuvantien zugesetzt werden, jedoch darf Penicillin in keinem Stadium der Herstellung verwendet oder dem Impfstoff zugesetzt werden. Ohne ausdrückliche Vorschrift in der Monographie (bzw. in den Zulassungsunterlagen) darf Streptomycin bei der Herstellung von Impfstoffen nicht verwendet werden; wenn sein Zusatz zu Zellkulturen bei der Herstellung von Virusimpfstoffen erlaubt ist, darf Streptomycin nicht nachweisbar sein, wenn die Kulturen mit dem Virus beimpft werden.

Substrat für die Vermehrung:

Substrate für die Vermehrung erfüllen die entsprechenden Anforderungen des Arzneibuchs (wie 5.5.2., 5.2.3.) oder, falls es keine gibt, die Anforderungen der zuständigen Behörde.

Bei der Zubereitung von Zellsuspensionen sowie von Zellkulturmedien müssen Serum und Trypsin nachweislich frei von fremden Agenzien sein.

Kulturmedien:

Kulturmedien sind soweit wie möglich frei von Bestandteilen, die bekanntermaßen toxische, allergische oder andere unerwünschte Reaktionen beim Menschen verursachen. Falls die Verwendung solcher Bestandteile erforderlich ist, muss nachgewiesen werden, dass die in der Fertigzubereitung verbleibende Menge so weit reduziert ist, dass das Produkt unschädlich ist. Zugelassenes Serum von Tieren (Serum vom Menschen darf nicht verwendet werden) kann in den Zellkulturmedien verwendet werden. Das Nährmedium für die Erhaltung des Zellwachstums während der Virusvermehrung darf jedoch kein Serum enthalten, falls nichts anderes vorgeschrieben ist. Dem Nährmedium für die Zellkultur können ein pH-Indikator wie Phenolrot sowie zugelassene Antibiotika in der eben noch wirksamen Konzentration zugesetzt werden. Wann immer möglich ist ein antibiotikumfreies Produktionsmedium vorzuziehen.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 22 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff.2.3.3

Ausgangsmaterialien sollen spezifiziert sein und akzeptable Anforderungen erfüllen. Biologische Ausgangsstoffe müssen sorgfältig charakterisiert sein und auf mögliche Verunreinigungen geprüft werden.

Hilfsstoffe sollten, wenn möglich, die Arzneibuchanforderungen erfüllen. Für Substanzen, die nicht im Arzneibuch monographiert sind, sind akzeptable Akzeptanzkriterien aufzustellen.

CPMP/BWP/3354/99 Ziff. 4.2 und 4.3

Sämtliche biologische Materialien, die in der Produktion von Immunglobulinen/ Immunsera verwendet werden, sollen einem Monitoring auf mikrobielle Kontaminanten wie Mycoplasma, Pilze und Bakterien unterworfen werden. Spezielles Augenmerk soll viralen Kontaminanten geschenkt und Tests auf relevante Viren sollen durchgeführt werden. Bovine Sera, die z.B. in Kulturmedien verwendet werden sollen geprüft und frei sein von potentiellen viralen Kontaminanten (zumindest virale Diarrhoe, infektiöse bovine Rhino-Tracheitis und Para-Influenza 3 Virus). Vorzugsweise soll inaktiviertes bovines Serum verwendet werden.

... Die Spender menschlichen Absorptionsmaterials sollen die Anforderungen an Spender von Blut und Plasma gemäß Ph.Eur. Monographie „Menschliches Plasma zur Fraktionierung“ erfüllen. ... Vorzugsweise sollen diese Materialien einer Virus-Inaktivierung unterworfen werden.

Obwohl das Zufügen antimikrobieller Agenzien gemäß Ph.Eur. Monographie „Immunsera“ erlaubt ist, sollen sie nicht in der Herstellung eingesetzt werden, außer ihre Verwendung ist durch Qualitäts- und Sicherheitsbetrachtungen gerechtfertigt. Sie dürfen keinesfalls als Ersatz für GMP-Aspekte eingesetzt werden. Dies sollte insbesondere bei Produkten berücksichtigt werden, die intravenös und in hohen Dosen appliziert werden.

CPMP/BWP/1793/02 Ziff. 2

Der häufigste Typ von Serum, der in der Produktion biotechnologischer Produkte verwendet wird, ist fötales bovines Kälberserum. Serum anderer Herkunft (z.B. Pferd) kann ggf. auch verwendet werden. Die Anforderungen an FBS treffen auch hier zu.

CPMP/BWP/1793/02 Ziff. 3

Der Serumlieferant muss den Prozess zur Gewinnung des Ausgangsmaterials, zur Formulierung sowie zur Mischung von intermediären Pools/Bulks und zur Herstellung der Serumcharge dokumentieren. Übereinstimmung mit der Guideline EMEA/410/01 muss gezeigt werden. Wenn ein „TSE Certificate of Suitability“ des EDQM vorliegt, brauchen dem Antrag auf Zulassung keine weiteren Daten in Bezug auf die TSE-Sicherheit hinzugefügt werden.

CPMP/BWP/1793/02 Ziff. 4

Der Serumlieferant muss in seinem Serum-Zertifikat die Katalog-Nummer, die Chargennummer, das Land der Herkunft des Tiers, das Chargenvolumen, das Datum der Herstellung und die Haltbarkeit angeben. Der Serumlieferant soll zeigen und zertifizieren, dass das Serum ausschließlich boviner Herkunft ist. Die enthaltenen Serumproteine und die physiko-chemischen Eigenschaften des Serums sollten zusammen mit den Wachstumseigenschaften angegeben werden. In der Endcharge des Serums sollen keine Bakterien, Pilze, Mycoplasma oder Viren detektiert werden.

CPMP/BWP/1793/02 Ziff.7

Es wird dringend empfohlen, das Serum, ergänzend zur direkten Testung auf Viren, durch eine validierte Methode zu inaktivieren. Die Verwendung nicht inaktivierten Se-

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 23 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

rums soll begründet werden. Gammabestrahlung ist die gängigste Methode zur Inaktivierung von Serum, um ein sicheres und biologisch aktives Produkt zu erhalten. Jedoch sind andere validierte Methoden akzeptabel.

CPMP/BWP/1793/02 Ziff.8

Ein neuer Serumlieferant oder eine Änderung des Inaktivierungsprozesses bedingen eine Änderungsanzeige.

EMA/410/01 Rev. 2 Ziff. 2

Gegenstand dieser Leitlinien sind von TSE-relevanten Tierarten stammende Materialien, die verwendet werden für die Herstellung von

- *Wirkstoffen*
- *Präparaten und Adjuvantien*
- *Rohmaterialien, Ausgangsmaterialien und Reagenzien für die Arzneimittelproduktion*
- *Materialien, die bei der Herstellung des Arzneimittels mit den benutzten Ausrüstungsgegenständen bzw. dem Arzneimittel selbst in direkten Kontakt kommen und daher eine Kontamination verursachen könnten....*

Die entsprechenden Informationen sind in den Antragsunterlagen für die Marktzulassung anzugeben. Während der Routinekontrolle wird überprüft, ob sie mit der Guten Herstellungspraxis übereinstimmen.

EMA/410/01 rev. 2 Ziff. 3.1

Die Minimierung der Risiken einer TSE-Übertragung basiert auf folgenden sich ergänzenden Parametern:

- *Der geografischen Herkunft der Tiere*
- *Der Art des zur Herstellung verwendeten Tiergewebes und der Verfahren die zur Verhinderung einer Kreuzkontamination mit Material einer höheren Risikogruppe angewandt werden*
- *Dem/den Herstellungsverfahren einschließlich des vorhandenen Qualitätssicherungssystems zur Sicherstellung der Konsistenz und der Rückverfolgbarkeit des Produkts.*

EMA/410/01 rev. 2 Ziff. 6

Bei den nachstehend genannten, von TSE-relevanten Tierarten gewonnenen Materialien wird davon ausgegangen, dass sie diesen Leitlinien entsprechen, sofern sie zumindest die im Folgenden aufgeführten Bedingungen erfüllen. Der Inhaber der Marktzulassung/Antragsteller liefert die diesbezüglichen Informationen bzw. legt ein vom EDQM ausgestelltes Eignungszertifikat vor.

- *Kollagen*
- *Gelatine*
- *Bovine Blutderivate*
- *Talgderivate*
- *Milch und Milchderivate*
- *Wollderivate*
- *Aminosäuren*

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 24 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

CPMP/QWP/158/01; EMEA/CVMP/115/01 Revision, Mai 2002, Ziff. 5.1
Wasser für die Endformulierung von sterilen Arzneimitteln

- Parenteralia: Wasser für Injektionszwecke

Wasser für die Endformulierung von nichtsterilen Arzneimitteln

- Mindestens gereinigtes Wasser

CPMP/QWP/158/01; EMEA/CVMP/115/01 Revision, Mai 2002, Ziff. 5.2

Wasser für die Herstellung von Wirkstoffen und Arzneimitteln außer Wasser für die Endformulierung des Arzneimittels

Der akzeptable Reinheitsgrad des Wassers hängt stark ab von der Herstellungsstufe, auf der es eingesetzt wird, von anschließenden Prozessschritten und der Art des Endprodukts.

Wasser für die Herstellung des Wirkstoffs, sofern dieses Wasser nicht Bestandteil der Endformulierung ist

- *Generell sollte für die Herstellung von diesen Wirkstoffen bis hin zum letzten Isolations- und Aufreinigungsschritt mindestens Trinkwasserqualität verwendet werden, sofern es keine Anforderungen an Sterilität oder Apyrogenität des Wirkstoffs oder des Arzneimittels, in dem es verwendet wird, gibt.*

Medien für die Fermentation:

- *Mindestens Trinkwasser (gereinigtes Wasser sollte verwendet werden, wo technische Anforderungen für höhere chemische Reinheit bestehen)*

Letzter Extraktionsschritt und Aufreinigung:

- *Keine Anforderungen an Sterilität oder Apyrogenität des Wirkstoffs oder des Arzneimittels, in dem es verwendet wird: mindestens Trinkwasser*
- *Wirkstoff ist nicht steril, ist aber für ein steriles, nicht parenterales Arzneimittel vorgesehen: mindestens gereinigtes Wasser*
- *Wirkstoff ist steril, ist aber nicht für parenterale Applikation vorgesehen: mindestens gereinigtes Wasser*
- *Wirkstoff ist nicht steril, ist aber für ein steriles, parenterales Arzneimittel vorgesehen: mindestens gereinigtes Wasser mit Endotoxingehalt von höchstens 0,25 EU/ml und Kontrolle spezieller Mikroorganismen*
- *Wirkstoff ist steril und pyrogenfrei: Wasser für Injektionszwecke*

Wasser als Produktionshilfsstoff in der Arzneimittelherstellung, sofern dieses Wasser nicht Bestandteil der Endformulierung ist

- *Verwendung für die Formulierung vor nichtsteriler Lyophilisation: mindestens gereinigtes Wasser*
- *Verwendung für die Formulierung vor steriler Lyophilisation: Wasser für Injektionszwecke*

CPMP/QWP/158/01; EMEA/CVMP/115/01 Revision, Mai 2002, Ziff. 5.3

Wasser für die Reinigung von Ausrüstung, Behältnissen und Verschlüssen:

Wirkstoffherstellung:

- *Erstreinigung: mindestens Trinkwasser*
- *Letzter Spülgang: Wasserqualität mindestens wie für die Wirkstoffherstellung*

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 25 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Nichtsterile Arzneimittel:

- *Erstreinigung: mindestens Trinkwasser*
- *Letzter Spülgang: mindestens gereinigtes Wasser oder Wasserqualität wie für Arzneimittelherstellung, falls hier höhere Qualität eingesetzt wird*

Sterile nicht-parenterale Arzneimittel:

- *Erstreinigung: mindestens gereinigtes Wasser*
- *Letzter Spülgang: mindestens gereinigtes Wasser oder Wasserqualität wie für Arzneimittelherstellung, falls hier höhere Qualität eingesetzt wird*

Sterile parenterale Arzneimittel:

- *Erstreinigung: gereinigtes Wasser (einschließlich CIP)*
- *Letzter Spülgang: Wasser für Injektionszwecke (ggf. hochgereinigtes Wasser einsetzbar)*

Inspektionsinhalte:

- Quelle, Ursprung und Eignung der Ausgangsstoffe
- Adäquate Spezifikationen und Prüfmethode für Ausgangsstoffe
- Hilfsstoffe mit Arzneibuchqualität oder ggf. anderer adäquater Spezifikation
- Vermeidung von mikrobieller Kontamination
 - Bakterien
 - Pilze
 - Mycoplasma
- Vermeidung von Virenkontamination bei Ausgangsstoffen menschlichen oder tierischen Ursprungs
 - Testung
 - Hitzebehandlung oder Nanofiltration von Komponenten
 - Gammabestrahlung des Serums
- Zusammensetzung und Qualitätskontrolle der Medien
- Wachstumsfördernde Eigenschaften von Nährmedien
- Sterilisation/Filtration von Nährmedien (Bakterienabreicherung, Integritätstest, Robustheit)
- Standzeit filtrierter Medien
- TSE-Sicherheit
 - Zutreffend für alle risikobehafteten Materialien tierischer Herkunft (Wirkstoffe, Hilfsstoffe, Produktionshilfsstoffe und Substanzen, die mit der Herstellungsausrüstung oder dem Arzneimittel in Berührung kommen)
 - Beispiele: Sera, Peptone, Proteine, Aminosäuren, Lipide, Kulturmedien, Testmedien, Reinigungsmittel, Schmiermittel, Weichmacher
 - Kein weiterer Nachweis für MCBs und WCBs zugelassener Arzneimittel erforderlich, außer wenn Nachweismaterial zu Zellbanken unvollständig ist
 - Nachweis für MCBs bei Zulassungsantrag nach dem 01.07.2000 (bzw. 01.10.2000 für Tierarzneimittel)
 - Nachweis für Materialien neu etablierter WCBs
 - Nachweis für Materialien, die in der Fermentation bzw. Routineproduktion eingesetzt werden

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 26 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Risikobewertung (Art und Herkunft des Gewebes, Art der Gewebesammlung, Gefahr der Kreuzkontamination, Menge des verwendeten Materials, Herstellungs- und Inaktivierungsverfahren)
- Lieferantenqualifizierung (QS-System, Herstellungsprozess, involvierte Betriebsstätten, Vermeidung von Kreuzkontamination, Reinigungsverfahren, Validierung von Inaktivierungsverfahren, Rückverfolgbarkeit)
- Certificate of Suitability des EDQM
- Vergleich des EDQM-Zertifikats mit dem Analysenzertifikat
- Kontrollierte Lagerung und Handhabung der Ausgangsstoffe (ggf. unter aseptischen Bedingungen)
- Inspektion von Wasseraufbereitungsanlagen siehe Aide mémoire Überwachung von Sterilherstellern

5.3 Zellkultur und Fermentation

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 11

Die gleichzeitige Produktion mehrerer Produkte in ein und demselben Bereich unter Verwendung geschlossener Systeme von Biofermentern kann für Produkte wie monoklonale Antikörper und mittels der rDNA-Techniken gewonnene Produkte zulässig sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 16

Die beim Arbeiten mit lebenden Mikroorganismen eingesetzte Ausrüstung sollte so ausgelegt sein, dass die Kulturen während der Verarbeitung rein bleiben und durch fremde Quellen nicht kontaminiert werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 17

Rohrleitungen, Armaturen und BelüftungsfILTER sollten so konstruiert sein, dass sie leicht gereinigt und sterilisiert werden können. Dabei sollten bevorzugt In-situ-Reinigungs- und In-situ-Sterilisationssysteme verwendet werden. Die Armaturen an den Fermentern sollten vollständig dampfsterilisierbar sein. Die BelüftungsfILTER sollten hydrophob und für die jeweils vorgesehene Lebensdauer validiert sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 18

Der primäre Containmentbereich sollte so ausgelegt und geprüft sein, dass keine Gefahr einer Freisetzung besteht.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 19

Ableitungen, die pathogene Mikroorganismen enthalten, sollten wirksam dekontaminiert werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 35

Die Zugabe von Materialien oder Kulturen in die Fermenter und andere Gefäße und die Probenahme sollen unter sorgfältig kontrollierten Bedingungen vorgenommen werden, um diese frei von Verunreinigungen zu halten. Dabei ist Sorge zu tragen, dass die Gefäße vor der Zugabe oder Probenahme ordnungsgemäß verbunden werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff.36

Das Zentrifugieren und Mischen von Produkten kann zur Aerosolbildung führen; diese Vorgänge sind deshalb absolut abzuschirmen, um die Übertragung lebender Mikroorganismen zu verhindern.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 27 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 37

Falls möglich, sollten die Medien in situ sterilisiert werden. Soweit möglich, sollen für die routinemäßige Zugabe von Gasen, Medien, Säuren oder Laugen, Antischaummitteln usw. in die Fermenter in-line-Sterilfilter verwendet werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.30

Wo eine aseptische Zugabe von Zellsubstraten, Medien, Puffer und Gasen notwendig ist, sollten wenn möglich geschlossene oder abgegrenzte Systeme verwendet werden. Werden die Beimpfung des anfänglichen Behälters oder anschließende Transfers oder Zugaben (Medien, Pufferlösungen) in offenen Behältern durchgeführt, sollten Kontrollen und Verfahren zur Minimierung eines Kontaminationsrisikos vorhanden sein.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.31

Wo die Wirkstoffqualität durch mikrobielle Kontamination beeinträchtigt werden kann, sollten Manipulationen unter Einsatz offener Behälter in einer Biosicherheitswerkbank oder einer ähnlich kontrollierten Umgebung vorgenommen werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.33

Kritische Prozessparameter, zum Beispiel Temperatur, pH-Wert, Rührgeschwindigkeit, Zugabe von Gasen, Druck, sollten überwacht werden, um ihre Übereinstimmung mit dem festgelegten Prozess sicherzustellen. Zellwachstum, Lebensfähigkeit (für die meisten Zellkulturprozesse) und falls erforderlich Produktivität sollten ebenfalls überwacht werden. Kritische Parameter unterscheiden sich in der Regel von Prozess zu Prozess.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.34

Zellkulturausrüstung sollte nach ihrer Verwendung gereinigt und sterilisiert werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.36

Für den Nachweis von Kontamination und die Festlegung der zu ergreifenden Maßnahmen sollten geeignete Verfahren vorhanden sein. Dies sollte Verfahren einschließen, mit Hilfe derer die Auswirkungen der Kontamination auf das Produkt bestimmt sowie die Ausrüstung dekontaminiert und in einen Zustand zurückversetzt werden kann, in dem sie für anschließende Chargen verwendbar ist. Fremdorganismen, die während des Fermentationsprozesses festgestellt werden, sollten gegebenenfalls identifiziert und ihre Wirkung auf die Produktqualität wenn nötig bewertet werden. Die Ergebnisse einer solchen Bewertung sollten bei der Verfügung über das hergestellte Material berücksichtigt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.37

Es sollten Aufzeichnungen über Kontaminationsvorfälle geführt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.38

Für mehrere Produkte eingesetzte Ausrüstungsgegenstände müssen zwischen verschiedenen Produktkampagnen zusätzlich gereinigt oder getestet werden, um das Risiko einer Kreuzkontamination zu minimieren.

Ph.Eur. Monographie DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte (784)

Die Herstellung mit begrenzter Passage wird durch eine begrenzte Zahl von Verdopplungen der Population gekennzeichnet, die während der Herstellung in keinem Fall überschritten werden darf. Die größte Zahl der Zellverdopplungen, während der der Herstellungsprozess routinemäßig die beschriebenen Anforderungen erfüllt, muss angegeben werden.

Bei der kontinuierlichen Herstellung wird die Zahl der Verdopplungen der Population vom Beginn der Herstellung an nicht begrenzt. Kriterien für das Ernten sowie für das

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 28 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Beenden des Herstellungsprozesses müssen vom Hersteller festgelegt werden. Während der gesamten Lebensdauer der Kultur ist eine Überwachung notwendig. Die erforderliche Häufigkeit und die Art der Überwachung hängt von der Art des Herstellungsverfahrens und vom Produkt ab.

Informationen über die molekulare Integrität des exprimierten Gens und über die phänotypischen und genotypischen Eigenschaften der Wirtszelle nach Langzeitkultivierung sind erforderlich. Die Annahmekriterien der Ernten für eine Weiterverarbeitung müssen eindeutig mit dem verwendeten Überwachungsplan verknüpft sein. Eine Produktionscharge für die Weiterverarbeitung muss eindeutig definiert sein.

Ph.Eur. Monographie Fermentationsprodukte (1468)

Zur Kontrolle der Herstellungsbedingungen können Parameter wie Temperatur, pH, Durchflussgeschwindigkeit der zur Belüftung verwendeten Luft, Rührgeschwindigkeit Druck angewendet werden. Die Konzentration des angestrebten Fermentationsprodukts kann aufgezeichnet werden.

EG-Dok. III/5271/94

Die maximale Zahl der Ernten sollte anhand bestimmter Parameter (Charakteristik, Konsistenz, Ausbeute) festgelegt werden.

Die maximal zulässigen Passagen, basierend auf der Stabilität des Wirt – Vektor – Systems sind festzulegen (bei Produktion in endlichen Passagen). Ober- und Untergrenzen sollten bei den Ausbeuten angegeben werden.

EG-Dok. III/3477/92 (Rev. 1994); EG-Dok. III/5271/94; WHO TRS No. 823, 1992

Normalerweise sollten keine anderen Zelllinien im selben Raum kultiviert werden. Andernfalls muss belegt werden, dass Kreuzkontamination ausgeschlossen wird.

Fermentation und Kultur sind detailliert zu beschreiben. Für jeden Produktionsgang muss das Vorhandensein, ggf. Ausmaß und Art der mikrobiellen Kontamination überprüft werden. Hierzu sind adäquat empfindliche Methoden zu verwenden, Akzeptanzkriterien festzulegen und kontaminierte Produktionsansätze/Chargen sind zurückzuweisen.

Produktion in endlichen Passagen:

Die maximal zulässigen Passagen sind festzulegen basierend auf der Stabilität des Wirt-Vektor-Systems. Die Konsistenz der Fermentation und die Konstanz der Ausbeute sollte gezeigt werden. Kriterien für die Zurückweisung von Ernten sind zu erstellen. Ein geeignetes Monitoring des Wirt-Vektor-Systems am Ende des Produktionszyklus sollte durchgeführt werden.

Kontinuierliche Produktion:

In diesem Fall ist ein Monitoring der Produktion erforderlich, wobei dessen Art und Umfang von verschiedenen Faktoren abhängt. Information sollte vorhanden sein über die Integrität des exprimierten Gens und die phänotypischen und genotypischen Charakteristiken der Wirtszelle nach Langzeitkultivierung. Der Zeitraum kontinuierlicher Kultivierung sollte anhand bestimmter Informationen (Stabilität, Konsistenz) spezifiziert werden. Eine Chargendefinition ist zu etablieren.

Inspektionsinhalte: Vorkultur

- Vorkulturbereich abgetrennt vom Fermentationsbereich, wenn mehrere Zelllinien in einem Herstellungsbereich kultiviert werden und keine geschlossenen Systeme eingesetzt werden.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 29 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Kampagnenproduktion
- Dokumentiertes Changeover
- Reinigung und Desinfektion des Raums nach jeder Kultivierungskampagne
- Belegbücher / Logbücher für Räume und Inkubatoren
- Kennzeichnung von Räumen und Ausrüstung
- Einhaltung der Prozessparameter der Zulassungsunterlagen (sofern vorhanden)
- Durchführung offener Prozessschritte unter Sicherheitswerkbank
- Vermeidung von Kontaminationen bei der Inokulation und Probenahme
- Vollständige Prozessdokumentation
- Liste der Abweichungen

Inspektionsinhalte: Fermentation

Vermeidung von Kontaminationen

- Kreuzkontamination
- Kontaminationen bei Zugabe von Medien, Hilfsstoffen, Probenahme und Ernte
- Methoden zur Überprüfung der mikrobiellen Kontamination und Akzeptanzkriterien
- Häufigkeit der Kontaminationen
- Untersuchungen bei Kontaminationen (Inaktivierung, Identifizierung, Rückverfolgung, Korrekturmaßnahmen)
- Kriterien zur Zurückweisung kontaminierter Chargen

Qualifizierung, Validierung und Kalibrierung von geschlossenen Systemen

- Qualifizierungsdokumentation (R + I – Schemata einschl. Änderungshistorie)
- Sterilisierung/Sanitisierung von Fermentern, Leitungen, Probenahmesystemen (CIP/SIP)
- Druckhaltetest von Bioreaktoren
- Sterilläufe (Medienläufe) zum Nachweis der Systemintegrität
- Inaktivierungsschritte (nach Inokulation, Probenahme, Materialzugabe)
- Verwendungsdauer/Wechsel von Filtern
- Kalibrierung (Soll/Ist-Vergleich) und Kalibrierungsintervalle

Monitoring der Fermentation

- Reproduzierbare Aufzeichnungen
- Abgleich mit Referenzangaben
- Dokumentation, Untersuchung und Bewertung von Abweichungen
- Beispiele für Parameter des Monitorings:
 - Temperatur
 - pH
 - Belüftung
 - Rührgeschwindigkeit
 - Druck
 - Dichte
 - Wachstumsrate
 - Anteil von Metaboliten und Nebenprodukten, Konzentration essentieller Nährsubstrate

Herstellung in endlichen Passagen

- Einhaltung der festgelegten maximalen Zahl der Zellverdopplungen
- Konsistenz der Fermentation
- Konstanz der Ausbeute

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 30 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Nachweis der Stabilität des Wirt/Vektor-Systems

Kontinuierliche Herstellung

- Monitoring
- Nachweis der Stabilität und der Integrität des exprimierten Gens
- Charakterisierung der Wirtszelle nach Langzeitkultivierung
- Etablierung einer Chargendefinition

Validierung von Computerprogrammen zur Kontrolle, Dokumentation und Analyse von Fermentationsprozessen

- Siehe Aide mémoire „Kommentar zur Ergänzenden Leitlinie für Computer-gestützte Systeme

Changeover Procedures bei Produktwechsel

- Geeignete analytische Methoden für Produkt- und Reinigungsmittelrückstände (z.B. TOC-, Leitfähigkeitsmessung)
- Personaltraining
- Dokumentenaustausch
- Wechsel von produktspezifischen Filtern
- Verifizierung durch qualifiziertes Personal

Änderungskontrolle

- Ausgangsstoffe: neuer Lieferant, andere Spezifikation, Zufügen/Ersatz/Elimination eines Ausgangsstoffs, Zusammensetzung von Medien
- Zellkulturbedingungen: pH-Wert, Sauerstoff, Temperatur, Zeit, Modus
- Scale up in der Zellkultur bzw. Fermentation
- Ausrüstung

5.4 Ernte, Extraktion, Isolierung, Aufreinigung

Vorbemerkung:

Während Ernte und Extraktion z.B. durch Filtration, Zentrifugation und ggf. Zellaufschluss erfolgen, geschieht die Aufreinigung meistens durch eine oder mehrere säulenchromatographische Methoden wie z.B. Affinitätschromatographie, Ionenaustauschchromatographie (IEC), Gelfiltration, Hydrophobe Interaktionschromatographie (HIC) oder Umkehrphasen-HPLC. Besondere Bedeutung hat die Validierung des Prozesses. Die Anforderungen an die Virussicherheit und Virusvalidierung sind in Kapitel 5.5 beschrieben.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 12

Die Produktionsschritte nach der Ernte können gleichzeitig in demselben Produktionsbereich ausgeführt werden, wenn geeignete Vorkehrungen zur Vermeidung einer Kreuzkontamination getroffen werden. Für abgetötete Impfstoffe und Toxoide sollten solche parallelen Produktionsschritte erst nach der Inaktivierung der Kultur oder nach der Entgiftung durchgeführt werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 40

Für chromatographische Trennungen wird eine breite Auswahl von Ausrüstungen verwendet; diese Ausrüstungen sollten im allgemeinen ausschließlich zur Reinigung eines einzigen Produkts eingesetzt und zwischen der Behandlung verschiedener Chargen sterilisiert oder desinfiziert werden. Die Verwendung ein und derselben Aus-

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 31 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

rüstung in unterschiedlichen Produktionsstufen sollte vermieden werden. Für die Säulen sollten die Anforderungen und die Lebensdauer festgelegt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II II Ziff 18.40

Ernteschritte, entweder zur Entfernung von Zellen oder Zellkomponenten nach dem Abbruch (der Reaktion) sollten in Ausrüstung und Bereichen, die dazu geeignet sind, das Kontaminationsrisiko zu minimieren, durchgeführt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.41

Ernte- und Reinigungsverfahren, die produzierende Organismen, Zellreste und Medienbestandteile entfernen oder inaktivieren und dabei Abbau, Kontamination und Qualitätsverlust minimieren, sollten geeignet sein sicherzustellen, dass das Zwischenprodukt oder der Wirkstoff mit gleich bleibender Qualität gewonnen wird.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.42

Alle Ausrüstungsgegenstände sollten nach Gebrauch ordnungsgemäß gereinigt und gegebenenfalls desinfiziert werden. Es können mehrere Chargen ohne Reinigung hintereinander gefahren werden, wenn die Qualität des Zwischenprodukts oder Wirkstoffs dadurch nicht beeinträchtigt wird.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.43

Werden offene Systeme verwendet, soll die Reinigung unter Umgebungsbedingungen, die für den Erhalt der Produktqualität geeignet sind, stattfinden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.44

Zusätzliche Kontrollen, wie z.B. die Verwendung von Chromatographie-Harzen für nur ein Produkt oder zusätzliche Prüfungen können erforderlich sein, wenn die Ausrüstung für verschiedene Produkte eingesetzt werden soll.

*Ph.Eur. Monographie DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte
Validierung des Herstellungsprozesses – Extraktion und Reinigung*

Die Leistungsfähigkeit jedes Schritts des Extraktions- und Reinigungsverfahrens zur Entfernung oder Inaktivierung verunreinigender Substanzen, die von der Wirtszelle oder aus dem Kulturmedium stammen, insbesondere fremde Erreger, Viren, Proteine, Nukleinsäuren und zugesetzte Substanzen muss validiert werden.

Untersuchungen zur Validierung werden durchgeführt um nachzuweisen, dass der Herstellungsprozess routinemäßig die folgenden Kriterien erfüllt:

- *Ausschluss fremder Agenzien aus dem Produkt, Untersuchungen, die beispielsweise Viren mit entsprechenden physikalisch-chemischen Merkmalen einschließen, werden durchgeführt. Für jede wichtige Reinigungsstufe wird das Reduktionsvermögen für solche Verunreinigungen festgestellt*
- *angemessene Entfernung von Verunreinigungen aus dem Produkt, die auf Vektor, Wirtszelle, Nährmedium und Reagenzien zurückzuführen sind. Das Reduktionsvermögen für DNA wird durch Spiking überprüft. Die Verringerung von Proteinen tierischer Herkunft kann durch immunchemische Methoden bestimmt werden*
- *Einhaltung der angegebenen Grenzen bei der Produktausbeute aus der Kultur*
- *angemessene Stabilität jedes Zwischenprodukts der Herstellung oder Verarbeitung, für das eine Zwischenlagerung im Produktionsprozess vorgesehen ist.*

EG-Dok. III/3477/92 Ziff. 6

Die für das Produkt eingesetzten Reinigungsmethoden und ihre In-Prozess-Kontrollen mit den Spezifikationsgrenzen sollten detailliert beschrieben werden, gerechtfertigt und validiert sein. Bei der verfahrensmäßigen Anwendung der Affini-

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 32 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

tätschromatographie, z.B. mit monoklonalen Antikörpern, müssen geeignete Maßnahmen vorgesehen sein, mit denen sich gewährleisten lässt, dass diese Substanzen oder alle zusätzlichen potentiellen Kontaminanten, die sich aus ihrer Verwendung ergeben können, die Qualität und Unbedenklichkeit des Endproduktes nicht gefährden. In diesem Zusammenhang wird auf die entsprechenden Leitlinien verwiesen.

Inspektionsinhalte:

Vermeidung von Kontamination und Kreuzkontamination

- Dedicated Equipment / Kampagnenproduktion
- Offene / geschlossene Systeme
- Technischer Standard
- Adäquate Separierung von Produkten vor und nach Virusanreicherung
- Reinigungsvalidierung (Medienbestandteile, Wirtszellproteine, Nukleinsäuren, Endotoxine, Reinigungsmittel u.s.w.)
- Routinemonitoring von Chromatographiesäulen

Konsistenz des Prozesses

- Definition der Charge im jeweiligen Herstellungsprozess
- Vergleich von Herstellungsprotokollen verschiedener Chargen (z.B. hinsichtlich unterschiedlicher Chargengrößen)
- Konsistenz bzw. Schwankungen der Ausbeute
- Festlegung der Säulenspezifikation (pro Lauf und Langzeitspezifikation zur Festlegung der Säulenlaufzeit)

Qualifizierung der Säulen

- Kapazität
- Regenerierung
- Reinigung
- Laufzeit
- Requalifizierung, falls erforderlich (z.B. nach Neupacken der Säule)

Säulenmonitoring

- Druck und Flussrate
- Regenerations-/Equilibrationsprofil
- Anzahl der Zyklen
- Lagerungsbedingungen

Qualität der Produktionshilfsstoffe

- Wasser
- Puffer

In-Prozess-Kontrollen

- Detaillierte Spezifikationen und Prüfanweisungen für Bulks, Pools, Fraktionen
- Stabilität zwischengelagerter Materialien und Produkte
- Umgang mit Abweichungen

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 33 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Validierung

- Validierung der Leistungsfähigkeit jedes Extraktions- und Reinigungsschritts
- Festlegung des Reduktionsfaktors für jede relevante Stufe des Reinigungsverfahrens (z. B. für Viren, Wirtszell-DNA und Wirtszellprotein)
- Change Control Verfahren für Equipment und Prozess
- Revalidierung bei signifikanter Änderung des Verunreinigungsprofils
- Bewertung von Fehlern und Abweichungen
- Computersysteme

Reprocessing-Verfahren

- Soll in der Regel nur einen Reinigungsschritt umfassen
- validiertes und registriertes Reprocessing

FreigabeprocEDURE

- Überprüfung des Chargenprotokolls
- Bewertung aller relevanten Daten
- Bewertung aller Abweichungen und unerwarteten Ergebnisse

Änderungskontrolle

- Säule/Packmaterial: Säulengröße, Lieferant, Reinigungs- und Lagerungsbedingungen
- Reagenzien: neuer Lieferant, andere Spezifikation, Ersatz eines Rohstoffs
- Addition, Ersatz oder Elimination eines Aufreinigungsschrittes
- Scale up/down
- Ausrüstung

5.5 Virussicherheit und Validierung der Virusabreicherung

Vorbemerkung

Die Virussicherheit und Studien zur Virusentfernung und Virusinaktivierung („Virusvalidierungsstudien“) sind überaus komplexe und schwierige Themen. Es empfiehlt sich, die Experten der Bundesoberbehörden bei der Beurteilung einzubeziehen.

Virale Kontaminationen können von den eingesetzten Zelllinien stammen oder während des Produktionsprozesses eingebracht werden.

Die Virussicherheit von Zelllinien humanen und tierischen Ursprungs (d.h. Säuger-, Vogel-, Insektenzellen) muss gezeigt werden.

Der Herstellungsprozess muss so angelegt sein, dass Viren abgereichert und inaktiviert werden.

Grundsätzlich wird die Virussicherheit durch komplementäre Ansätze gewährleistet:

- Auswahl und Testen der Zelllinien und Rohstoffe, wie etwa Medienzusätze, hinsichtlich der Abwesenheit von unerwünschten Viren, die infektiös und /oder pathogen sein können
- Bewertung des Herstellungsprozesses hinsichtlich der Kapazität Viren abzureichern oder zu inaktivieren
- Testen der Abwesenheit von infektiösen Viren bei festgelegten Stufen des Herstellungsprozesses

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 34 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.50

Siehe ICH-Leitfaden Q5A Qualität biotechnologischer Produkte: Bewertung der Virussicherheit biotechnologischer Produkte, die aus Zelllinien menschlichen oder tierischen Ursprungs stammen, für detailliertere Information.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.51

Virusbeseitigungs- und –inaktivierungsschritte sind bei einigen Prozessen kritische Prozessschritte und sollten innerhalb validierter Parameter vollzogen werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.52

Es sollten geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um eine potentielle Viruskontamination von Schritten vor der Virusbeseitigung/-inaktivierung auf solche danach zu verhindern. Deshalb sollte die offene Verarbeitung in Bereichen, die von anderen Verarbeitungsaktivitäten getrennt sind und eigene Belüftungseinheiten haben, vorgenommen werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.53

Für verschiedene Reinigungsschritte wird normalerweise nicht die gleiche Ausrüstung verwendet. Soll jedoch die gleiche Ausrüstung benutzt werden, sollte sie vor der Wiederverwendung ordnungsgemäß gereinigt und desinfiziert werden. Es sollten geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um eine potentielle Virusübertragung (z.B. durch die Ausrüstung oder die Umgebung) aus vorherigen Schritten zu verhindern.

Annex 13, rev. EU GMP-Leitfaden Ziff. 17

Falls erforderlich, ist zur Gewährleistung der Sicherheit von biotechnologisch hergestellten Produkten die Virusinaktivierung und –abreicherung sowie die Abreicherung anderer Verunreinigungen biologischen Ursprungs nachzuweisen. Dabei sind die wissenschaftlichen Prinzipien und Methoden, die in den für diesen Bereich vorhandenen Leitlinien beschreiben sind, zu berücksichtigen.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Virustestung von Zelllinien soll so angelegt sein, dass ein weites Spektrum von Viren nachgewiesen werden kann. Basierend auf der Kultivierungshistorie der Zelllinie sollen entsprechende „Screening“-Tests und relevante, spezifische Testmethoden angewendet werden.

Bei MCBs soll ein „Screening“ auf Anwesenheit von endogenen und nicht-endogenen Viren durchgeführt werden.

Das Testen auf nicht-endogenen Viren soll in vitro und in vivo Inokulationstests und andere spezifische Tests beinhalten.

Bei jeder WCB sollte ein „adventitious virus testing“ durchgeführt werden. In vitro Tests werden durchgeführt mittels Inokulation von mehreren Indikator-Zelllinien, die suszeptibel für ein breites Spektrum von humanen und tierischen Viren sind. (mind. 3 Zelllinien, mind. 14 Tage)

In vivo Tests beinhalten das Inokulieren von Zellen in Tiere (z.B. Babymäuse) oder embryonierte Eier. Die Krankheits- und Überlebensrate der Tiere wird beobachtet.

ICH Q5A (CPMP/ICH/295/95)

Bei der MCB und bei Zellen, die über die maximale in vitro Passagenzahl kultiviert wurden, sollen Tests auf Retroviren durchgeführt werden, u.a.

- Infektiösitätstest (Co-Kultivierung, S+L- Infektivität Assay)*
- Elektronenmikroskopische Untersuchungen*

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 35 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

– Reverse Transkriptase Assays

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Das Testen einer repräsentativen Probe vom nicht-prozessierten Bulk, die aus dem Produktionsfermenter vor einem weiteren Prozessieren entnommen wurde, ist eine geeignete Stufe, bei der mögliche Viruskontaminationen mit hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden können (adventitious virus testing, evtl. PCR oder andere Methoden).

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Erntematerial in dem eine virale Kontamination gefunden wurde, darf nicht weiter verarbeitet werden.

Die Ursache für die Kontamination muss untersucht werden und Maßnahmen eingeleitet werden.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95); CPMP/BWP/268/95

Die Bewertung und Charakterisierung der Kapazität des Herstellungsprozesses Viren abzureichern und zu inaktivieren ist von Bedeutung bei der Bewertung der Sicherheit von biotechnologischen Produkten. Validierungsstudien sind nützlich in ihrem Beitrag zur Absicherung eines akzeptablen Sicherheitslevels im Endprodukt, begründen aber selbst keine Sicherheit.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Bei den Virusvalidierungsstudien sollte mehr als ein Herstellungsschritt, der zur Abreicherung/Inaktivierung von Viren beiträgt untersucht werden. Jeder Schritt sollte individuell bewertet werden.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Ein wesentlicher Punkt bei den Validierungsstudien ist die Auswahl der zu verwendenden Viren. Viren die für die Virusvalidierungsstudien verwendet werden, sollen so ausgewählt werden, dass sie den Viren ähnlich sind, die das Produkt kontaminieren könnten und sollten ferner ein weites Spektrum von physikochemischen Eigenschaften repräsentieren um die allgemeine Virus-eliminierende Kapazität des Prozesses zu analysieren.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Die Validität des „Down-Scales“ muss gezeigt sein. Der Reinigungsprozess sollte so genau wie möglich repräsentiert sein. Dazu gehören z.B. Chromatographiematerial, Betthöhe der Säulen, lineare Fließrate, Kontaktzeit, Puffer, Gelmaterial, pH, Temperatur, Proteinkonzentration.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Mit zunehmender Zeit und wiederholter Verwendung kann bei Chromatographiesäulen und anderen für die Aufreinigung verwendeten Materialien (z.B. Filter) die Virusabreicherung beeinflusst werden. Zur wiederholten Verwendung von Säulen sollten Daten vorliegen.

Es sollte sicher gestellt sein, dass ein Virus welches eventuell im Produktionssystem verbleibt, vor einer erneuten Verwendung zerstört oder beseitigt wird. Es sollte z.B. nachgewiesen werden, dass die Reinigungs- und Regenerierungsverfahren für die Säulen und andere Materialien Viren inaktivieren und/oder entfernen.

ICH Q5D (CPMP/ICH/294/95)

Für jeden Herstellungsschritt, der in die Bewertung einfließt, sollte der wahrscheinliche Mechanismus der Verminderung der viralen Infektiosität beschrieben werden (Inaktivierung oder Abreicherung).

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 36 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

CPMP/BWP/268/95

Viren dürfen nicht in die Produktionsräume verbracht werden, deshalb müssen die Virusvalidierungsstudien in einem separierten Labor durchgeführt werden, das von den Produktionsräumen strikt getrennt ist.

Das Labor sollte für virologisches Arbeiten im „Down-scale“ Maßstab geeignet sein, das Personal sollte virologische Expertise haben und mit Personal aus dem Herstellungsbereich zusammenarbeiten.

Die Studien sollten unter GLP-Bedingungen durchgeführt werden.

CPMP/BWP/268/95

Das GMP-Prinzip, dass Material, das einen effektiven virusinaktivierenden oder – abreichernden Schritt durchlaufen hat, von „unbehandeltem“ Material zu trennen ist, sollte strikt eingehalten werden.

Inspektionsinhalte:

- Gründliche Charakterisierung und „Screening“ der Zellbänke zur Identifizierung eventuell vorhandener Viren und Nachweis der Abwesenheit von zufällig aus der Umgebung oder durch Medienbestandteile eingeschleppten Viren („Adventitious Virus“), sowie endogener Viren (z.B. Retroviren)
- Ausreichende Tests am nicht-prozessierten Bulk auf „adventitious“ Viren, sofern erforderlich
- Kontrolle aller Rohmaterialien humanen und tierischen Ursprungs hinsichtlich ihrer Herkunft, ausreichender Virustestung und ggf. Inaktivierung (z. B. Gamma- Bestrahlung)
- Nachweis des virusinaktivierenden/ -abreichernden Potentials des Reinigungsprozesses in „Down-scale“-Validierungsstudien basierend auf verschiedenen Prinzipien, so dass eine adäquate Virusentfernung erreicht wird
- Widerspiegelung des Produktionsprozesses durch das „Down-scale“-Modell
- Risikobewertung des Herstellungsprozesses und angemessene Trennung des Materials/Wirkstoffs/Intermediats, das einen virusinaktivierend/ -abreichernden Schritt durchlaufen hat, von vorhergehenden Stufen
- Konzeption der entsprechenden „Reinigungsstraße“
- Geeignete Maßnahmen, die sicherstellen, dass eine potentielle Virusübertragung aus vorherigen Schritten verhindert wird
- Nachweis, dass Reinigungs- und Regenerierungsverfahren für die Chromatographiesäulen und sonstige produktberührenden Materialien Viren inaktivieren und entfernen
- Bewertung und adäquate Testung zum Nachweis der Virussicherheit vor Beginn der klinischen Prüfungen (siehe auch 3. Bekanntmachung zur klinischen Prüfung des BfArM/PEI)
- Hinreichende Untersuchungen zur Ursachenklärung und geeignete Maßnahmen bei aufgetretener Kontamination

5.6 Abfüllung des Wirkstoff-Bulks

Vorbemerkung

Die Abfüllung ist der letzte Schritt zur Gewinnung des Wirkstoff-Bulks.

In den allermeisten Fällen handelt es sich dabei um flüssige Zubereitungen, die dann in weiteren Schritten zu sterilen Arzneiformen weiterverarbeitet werden (vgl. Kap 5.7).

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 37 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Generell sollte zwischen sterilem und keimarmem Wirkstoff-Bulk (vgl. firmeninterne Spezifikation / Zulassungsunterlagen) unterschieden werden.

Der Nachweis der Eignung (ausreichende Qualität des Wirkstoff-Bulks) als Ausgangsstoff zur Arzneimittelherstellung muss geführt werden, ebenso muss die Validierung von Abfüllprozess, Lagerungsbedingungen und –zeit durchgeführt werden.

Inspektionsinhalte:

Abfüllung / Räume und Ausrüstung

- Minimierung der mikrobiellen, partikulären oder Pyrogenkontamination und Vermeidung von Kreuzkontamination (Produktschutz)
 - Reinraumklassen (vgl. Kap. 3.1)
 - ausreichende Hygienemaßnahmen (Reinigung und Desinfektion)
- Reinigung und deren Validierung
- Kennzeichnung der Räume und Anlagen
- keine Schädigung des Produktes durch evtl. Filtrationsschritte

(Zwischen)Lagerung

- Haltbarkeit des Wirkstoffes / der Lösung
- Lagerungsbedingungen und Lagerungszeit
- Transportbehältnisse und -bedingungen

Wirkstoff-Bulk

- Chargendefinition
- Freigabepfung entsprechend der Spezifikation

5.7 Zubereitung und Abfüllung des Arzneimittels

Vorbemerkung:

Biotechnologisch hergestellte Arzneimittel werden überwiegend aseptisch hergestellt. Grundsätzlich gelten für den aseptischen Prozess die Anforderungen des Annex 1 des EG-GMP-Leitfadens.

Annex 1 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 41

Präparate mikrobiologischen Ursprungs sollten nicht in Bereichen hergestellt oder abgefüllt werden, in denen andere pharmazeutische Produkte verarbeitet werden; allerdings können Impfstoffe aus abgetöteten Organismen oder Bakterienextrakten nach der Inaktivierung in denselben Räumen wie andere sterile pharmazeutische Produkte abgefüllt werden.

Annex 1 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 82

Wenn das Produkt nicht im Endbehältnis sterilisiert werden kann, können Lösungen oder Flüssigkeiten durch ein steriles Filter mit einer nominellen Porengröße von 0,22 µm (oder weniger) oder ein anderes Filter mit mindestens gleichen Rückhalteigenschaften für Mikroorganismen in ein zuvor sterilisiertes Behältnis filtriert werden. Solche Filter können die meisten Bakterien und Schimmelpilze, aber nicht alle Viren oder Mycoplasmen entfernen.

Annex 13 EG-GMP-Leitfaden rev. 2 Ziff. 17

Bei sterilen Produkten sollte die Validierung des Sterilisationsprozesses denselben Standard aufweisen wie für zugelassene Produkte.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 38 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Annex 13 EG-GMP-Leitfaden rev. 2 Ziff. 18

Die Validierung aseptischer Verfahren bringt besondere Probleme mit sich, wenn es sich um kleine Chargen handelt. In diesen Fällen kann die Anzahl der abgefüllten Einheiten mit der Höchstzahl der während der Herstellung abgefüllten Einheiten identisch sein. Gerade bei weniger automatisierten Abfüllvorgängen (z.B. Abfüllung und Verschluss von Hand) ist der Schulung des involvierten Personals besondere Aufmerksamkeit zu schenken und die aseptische Arbeitstechnik der betreffenden Personen zu validieren.

Ph.Eur. Impfstoffe für Menschen

Der fertige Impfstoff als Bulk wird durch Mischung der Bestandteile des Impfstoffs unter aseptischen Bedingungen hergestellt.

Die Impfstoffe können an Aluminiumhydroxid, Aluminiumphosphat, Calciumphosphat oder andere geeignete Adsorbentien adsorbiert sein. Die Adsorbentien werden unter besonderen Bedingungen hergestellt, die ihnen die geeignete physikalische Form und adsorptiven Eigenschaften verleihen.

Ein geeignetes Konservierungsmittel darf sterilen und inaktivierten Impfstoffen zugesetzt werden; ein solcher Zusatz ist zwingend notwendig, wenn diese Zubereitungen in Mehrdosenbehältnissen in den Handel gebracht werden, sofern nichts anderes vorgeschrieben ist.

Impfstoffe zur parenteralen Anwendung werden zur Herstellung der Fertigzubereitung aus dem fertigen Impfstoff als Bulk unter aseptischen Bedingungen in sterile Behältnisse mit Sicherheitsverschluss abgefüllt, die, falls zutreffend, nach Gefriertrocknung so verschlossen werden, dass eine Verunreinigung ausgeschlossen ist.

Inspektionsinhalte:

Herstellung des Final Bulk

- Ansatz unter den Bedingungen des Annex 1 EG-GMP-Leitfaden
- Minimierung der mikrobiellen oder partikulären Kontamination (häufig nur einfache Sterilfiltration möglich)
- Keine Schädigung des Produkts durch Filtrationsschritte
- Begrenzung des Zeitraums zwischen Ansatz und Abfüllung

Abfüllung

- Abfüllung unter den Bedingungen des Annex 1 EG-GMP-Leitfaden
- Separate Abfüllbereiche für Präparate mikrobiologischen Ursprungs, die lebende / lebensfähige Organismen enthalten
- Handhabung sauerstoffempfindlicher Produkte (ggf. Abfüllung unter Inertgas)
- Unter- und Überfüllungen, z.B. bei lyophilisierten Produkten

Änderungskontrolle

- Hilfsstoffe
- Anlagen und Ausrüstung
- Änderung des Herstellungsverfahrens
- Chargengröße bzw. Chargendefinition
- Behältnisse, Verschlüsse
- Haltbarkeit
- Transportbedingungen

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 39 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

6 Qualitätskontrolle

Vorbemerkung

Die Prüfung von Ausgangsstoffen ist unter Punkt 5.2 „Ausgangsstoffe und Medien“ beschrieben.

6.1 Spezifikationen

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 23.

In den Spezifikationen für biologische Ausgangsstoffe können zusätzliche Angaben zu Quelle, Ursprung, Herstellungsverfahren und zu den angewandten Kontrollen insbesondere zu den mikrobiologischen Kontrollen, erforderlich sein.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 24

Spezifikationen sind bei biologischen pharmazeutischen Produkten routinemäßig für Zwischenprodukte und Bulkware erforderlich.

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 3

Begründung von Spezifikationen

Spezifikationen beziehen sich auf einen festgelegten Herstellungsprozess.

Spezifikationen berücksichtigen die Stabilität des Wirkstoffs und des Arzneimittels.

Spezifikationen beziehen sich auf präklinische und klinische Studien.

Die festgelegten Spezifikationen sind an bestimmte Prüfmethode gebunden.

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 4

Die Auswahl der Prüfmethode hängt vom Produkt ab. Die Rationale für die Festlegung von Spezifikationsgrenzen muss beschrieben werden.

Akzeptanzkriterien und Actionlimits sind basierend auf Chargenergebnissen der präklinischen, klinischen und Konsistenzchargen festzulegen.

Die Charakterisierung von Stoffen und Produkten umfasst Identität, Reinheit, Gehalt, physikochemische und immunochemische Eigenschaften, biologische Aktivität, Verunreinigungen und Stabilität.

Inspektionsinhalte:

Spezifikationen

- für Ausgangsstoffe, Zwischenprodukte, Bulk und Endprodukt
- entsprechend den Zulassungsunterlagen
- Rationale für die Festlegung von Spezifikationsgrenzen
- Überprüfung der Einhaltung von Spezifikationsgrenzen

Spezifikationen für klinische Prüfpräparate

- Entsprechend dem Stand von Wissenschaft und Technik sowie den Anforderungen der Behörden und des Arzneibuchs
- Wissenschaftliche Begründung von Akzeptanzkriterien
- „Product Specification File“

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 40 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Aktualisierung und Rückverfolgbarkeit der vorgenommenen Änderungen (Change Control)
- Vergleich des Verunreinigungsprofils von klinischen Prüfpräparaten mit dem in der Präklinik verwendeten Material

6.2 In-Prozess-Kontrollen und Freigabepfung des Wirkstoffes und des Arzneimittels

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 41

Inprozesskontrollen spielen eine besonders wichtige Rolle bei der Sicherung einer gleichbleibenden Qualität biologischer pharmazeutischer Produkte. Diejenigen Kontrollen, die hinsichtlich der Qualität entscheidend sind (z.B. Virusentfernung), jedoch nicht am Fertigprodukt vorgenommen werden können, sollten in einer geeigneten Produktionsphase durchgeführt werden.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 42

Es kann erforderlich sein, Proben von Zwischenprodukten in ausreichender Menge und unter geeigneten Lagerungsbedingungen zurückzubehalten, um die Wiederholung oder Bestätigung einer Chargenkontrolle zu ermöglichen.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 43

Eine laufende Kontrolle bestimmter Produktionsprozesse z.B. der Fermentation ist erforderlich. Die entsprechenden Daten sollten in die Dokumentation der Charge eingehen.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 44

Wenn Dauerkulturen verwendet werden, sollte den Anforderungen an die Qualitätskontrolle, die sich aus diesem Produktionsverfahren ergeben, besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden.

EG-GMP-Leitfaden Teil II Ziff. 18.13

...Die verwendeten Rohmaterialien (Medien, Pufferbestandteile) können Wachstumspotential für mikrobiologische Kontaminanten bieten. In Abhängigkeit von der Quelle, der Herstellungsmethode und der beabsichtigten Verwendung eines Wirkstoffs oder Zwischenprodukts ist evtl. während bestimmter Stadien der Herstellung und der Überwachung des Prozesses eine Kontrolle der mikrobiellen Belastung, der Viruskontamination und/oder Endotoxine erforderlich.

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.2.2

Zum Zeitpunkt der Einreichung des Zulassungsantrags sollen die Prüfmethoden entsprechend der ICH-Leitlinien Q2A und Q2B validiert sein.

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.3.2

Nach kritischen Herstellungsschritten sind laufend Prüfungen durchzuführen (Monitoring). Hierfür sind Akzeptanzkriterien und Actionlimits festzulegen (z.B. Abwesenheit von Mycoplasmen und Viren nach der Ernte).

Ph.Eur. Monographie Fermentationsprodukte (1468)

In-Prozess-Kontrollen gewährleisten während der Fermentation und der Aufarbeitung gleichmäßige Bedingungen und damit die Qualität des isolierten Produkts. Insbesondere ist darauf zu achten, dass jede mikrobielle Verunreinigung, die Qualität, Reinheit und Sicherheit des Produkts beeinträchtigen kann, durch Kontrolle nachgewiesen wird.

Ph.Eur. Monographie DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte (784)

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 41 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Das fertige Bulkprodukt wird zunächst durch ein breites Spektrum chemischer, physikalischer, immunchemischer und biologischer Prüfungen auf Identität, Reinheit, Aktivität und Stabilität geprüft. Vor der Freigabe muss der Hersteller jede Charge des Produkts auf Identität und Reinheit prüfen und eine geeignete Gehaltsbestimmung durchführen.

EG-Dok. III/5271/94 Ziff. 12., EG-Dok. III/3477/92 Ziff. 9., ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.2.1, WHO TRS Nr. 823 Ziff. 8.

Referenzmaterialien sind vollständig zu charakterisieren. Sofern keine Referenzsubstanzen erhältlich sind (z.B. bei neuen Produkten) muss ein geeigneter Hausstandard hergestellt werden. Hierzu sollte eine geeignete Produktcharge voll charakterisiert und als chemisches und biologisches Referenzmaterial dienen. Arbeitsstandards sollten gegen den Hausstandard kalibriert werden. Häufig sind verschiedene Standards erforderlich, z.B. für produktbezogene Substanzen, produktbezogene Verunreinigungen usw.

Herstellung, Reinigung, Charakterisierung, Verwendung und Lagerung der Referenzmaterialien sind zu dokumentieren. Wenn möglich sollten die verwendeten Standards mit dem natürlich vorkommenden Molekül verglichen werden.

Kriterien für die Festlegung von Verfalldaten und Retest-Terminen sollten etabliert werden.

Inspektionsinhalte:

Prüfmethoden

- Validierung der relevanten Parameter je nach der betrachteten Prüfmethode und je nach Phase des Entwicklungsprozesses
 - Validierung gemäß ICH-Guideline für zugelassene oder in der Zulassung befindliche Arzneimittel: Validierung der Prüfmethode entsprechend der ICH-Leitlinien Q2A und Q2B
 - Klinische Prüfpräparate der Phase 1: Keine volle Validierung erforderlich, jedoch müssen in Abhängigkeit von der betrachteten Methode die jeweils relevantesten Parameter der Prüfmethode validiert sein
 - Klinische Prüfpräparate der Phase 2 und 3: Aufbauend auf den Validierungsparametern der Phase 1 stufenweise Anpassung bis zur vollständigen ICH-konformen Validierung vor Beantragung der Zulassung
- Siehe Aide mémoire „Inspektion der Qualifizierung und Validierung in pharmazeutischer Herstellung und Qualitätskontrolle“

Referenzsubstanzen

- Beschreibung der Art und Herkunft der Referenzsubstanzen
- Dokumentation von Herstellung, Reinigung, Charakterisierung, Verwendung und Lagerung der Referenzsubstanzen
- Verfügbarkeit von Referenzsubstanzen für produktbezogene Substanzen und Verunreinigungen
- Vorschriften zum Umgang mit Referenzsubstanzen
- Festlegung von Verfall- bzw. Retest-Daten

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 42 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Durchführung von Prüfungen

- Qualifizierung, Kalibrierung und Wartung von analytischen Geräten
- Kalibrierung von Pipetten (Kalibrierbereich)
- Verwendung der festgelegten Referenzsubstanzen und Reagenzien
- SOPs für die Testmethoden
- nachvollziehbare Rohdaten
- Umgang mit OOS(out of specification)-Ergebnissen
- Statistische Methoden zur Erfassung von Trends
- Quarantäne, Kontrolle und Identifizierung von Tieren, die bei der Prüfung eingesetzt werden

In-Prozess-Kontrollen

- Durchführung entsprechend den Zulassungsunterlagen (sofern vorhanden)
- Monitoring kritischer Produktionsschritte
- Probenahmeplan, Genehmigung durch die Qualitätskontrolleinheit
- Festlegung von Akzeptanzkriterien und Aktionsgrenzen
- Genehmigung sämtlicher Methoden zur In-Prozess-Kontrolle durch die Qualitätskontrolleinheit
- Ggf. Rückstellmuster von Zwischenprodukten für Wiederholungs- und Bestätigungskontrollen

Freigabeproofung

- Freigabe- und Laufzeitspezifikation
- Prüfung zugelassener Produkte gemäß Zulassungsunterlagen
- Prüfung klinischer Prüfpräparate gemäß vorläufig festgelegter Spezifikation
- Die Prüfung sollte eine geeignete Auswahl von Prüfmethoden für die folgenden Parameter umfassen:
 - Identität (siehe 6.3)
 - Reinheit (siehe 6.4)
 - Produktbezogene Verunreinigungen
 - Prozessbedingte Verunreinigungen
 - Wirtszell-DNA (residual DNA)
 - Wirtszell-Protein (HCP)
 - Mikrobielle Kontaminationen
 - Prüfung auf Sterilität (bei sterilen Wirkstoffen und Arzneimitteln)
 - Keimzahl
 - Endotoxine
 - Mycoplasmen
 - Gehalt (siehe 6.5)
 - Biologische Aktivität (siehe 6.6)

Der für die Freigabeproofung erforderliche Prüfumfang wird im Rahmen der Zulassung festgelegt.

- Statistik von Analysendaten

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 43 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

6.3 Identitätsprüfungen

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.1 und 6.1, EG-Dok. III/3477/92 Ziff. 7.1, EG-Dok III 5271/94 Ziff. 10.1, WHO TRS Nr. 823 Ziff. 6.1

Häufig sind mehrere Identitätstests erforderlich (physikochemische, biologische und/oder immunologische Tests). Die Bestimmung der immunochemischen Eigenschaften muss bei Antikörpern umfassend erfolgen:

- *Genaue Beschreibung der Bindungseigenschaften und –regionen am Antigen zur Bestimmung von Affinität und Immunreaktivität (einschließlich Kreuzreaktivität)*

Inspektionsinhalte:

Für Identitätsprüfungen sollte eine sinnvolle Auswahl aus folgenden Parametern getroffen werden:

Parameter zur Identitätsprüfung von Proteinen

- Molekulargewicht
- Aminosäure-Analyse (Aminosäurezusammensetzung)
- N- und C-terminale Aminosäuresequenz
- Elektrophoresemuster
- Peptidkartierung
- Disulfidbrücken
- Glykosylierungsmuster
- Mikroheterogenität
- Klasse und Subklasse (Antikörper)
- Schwere Kette/leichte Kette (Antikörper)

Parameter zur Identitätsprüfung von Nukleinsäuren

- Restriktionsanalyse
- Sequenzierung
- Größe der DNA (z. B. über Agarose-Gelelektrophorese oder Kapillarelektrophorese)
- Hybridisierung mit komplementären Sonden (Southern Blot bei DNA, Northern Blot bei RNA)

Physikochemische Eigenschaften und analytische Methoden

- Molekulargewicht
 - Ausschlusschromatographie
 - SDS PAGE (reduzierend und nicht-reduzierend)
 - Massenspektrometrie
- Isoforme Eigenschaften
 - Isoelektrische Fokussierung
 - Kapillarelektrophorese
- Elektrophoretische Eigenschaften
 - Gelelektrophorese/SDS PAGE
 - Kapillarelektrophorese
 - Isoelektrische Fokussierung
 - Western Blot
- Chromatographische Eigenschaften
 - Ausschlusschromatographie

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 44 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Affinitätschromatographie
- HPLC (reversed phase)
- Ionenaustauschchromatographie
- Spektroskopisches Profil
 - UV-Vis-Spektroskopie
 - Kernresonanzspektroskopie
 - Circular dichroismus
- Glykosylierung
 - Kohlenhydratstruktur
 - Glykanprofil
 - Sialinsäuregehalt
 - Monosaccharide
 - Bestimmung des terminalen Kohlenhydrates durch Exoglycosidase-Abbau
 - Antennarität
- Biologische Aktivität
 - Bioassay (ggf. Bindungsstudie, enzymatische Umsetzung, zellbasierte Tests, Tiermodell)

Immunochemische Eigenschaften von Antikörpern und analytische Methoden

- Bindungsassay zur Bestimmung von Affinität und Immunreaktivität einschließlich Kreuzreaktivität
- Biochemische Definition der Zielstruktur (Epitop)
- ELISA
- Western Blot

6.4 Reinheit

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.1.4 und 6.2, EG-Dok. III/3477/92 Ziff. 7.2, EG-Dok III 5271/94 Ziff. 10.2, WHO TRS Nr. 823 Ziff. 6.2

Die Reinheit des Produkts ist durch eine Kombination aus analytischen Verfahren festzustellen.

Es ist zwischen produktverwandten Substanzen und prozess- oder produktbezogenen Verunreinigungen zu unterscheiden.

Wenn möglich sollten die Verunreinigungen identifiziert, ggf. auch deren biologische Aktivität bestimmt werden.

Prozessbezogene Verunreinigungen können in 3 Kategorien eingeteilt werden:

- Verunreinigungen aus Zellsubstrat des Wirtsorganismus: Proteine, Polypeptide, Nukleinsäure (von der Wirtszelle, vom Vektor, Gesamt-DNA), Polysaccharide, .
- Verunreinigungen aus der Zellkultur: Sera, andere Medienzusätze, Antibiotika, Induktoren.

Nachweis durch geeignete Testmethoden.

- Verunreinigungen aus dem Reinigungsprozess: Enzyme, Prozessreagenzien (z.B. Guanidin, reduzierende oder oxidierende Substanzen), Chromatographiemedien, anorganische Salze (Schwermetalle, Nichtmetalle), Lösungsmittel, Liganden (Protein A, monoklonale Antikörper).

Nachweis durch geeignete Testmethoden.

Produktbezogene Verunreinigungen einschließlich Abbauprodukte

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 45 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- *Abspaltungsprodukte (Peptidasen können die Abspaltung von Aminosäuren oder andere Spaltungen katalysieren).*
Testmethoden: HPLC, Gelelektrophorese, Peptidmapping.
 - *Produkte aus Deamidierung, Isomerisierung, S-S-Verknüpfungen, Oxidation.*
Testmethoden: Chromatographische oder elektrophoretische Methoden.
 - *Aggregate (Dimere, Multimere).*
Testmethoden: SEC.
Reaktionsprodukte mit Hilfsstoffen
- Kontaminanten:* *Es handelt es sich um Verunreinigungen von außen wie mikrobielle Verunreinigungen (Viren, Bakterien, Pilze, Mycoplasmen). Sie sollten streng vermieden werden und durch entsprechende In-Prozess-Kontrollen überprüft werden.*

Inspektionsinhalte:

Für Reinheitsprüfungen sollte eine sinnvolle Auswahl aus folgenden Parametern getroffen werden:

Testmethoden für Proteine

- HPLC (High performance liquid chromatography, Hochleistungsdruckflüssigchromatographie), wie die Reversed Phase-(RP)-HPLC, die Size Exclusion (SE)-HPLC und die Ionenaustausch (IE)-HPLC
- Immunoassay (z. B. wirtsspezifische Multiantigen-ELISAs zum Nachweis von Wirtszellproteinen)
- ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)
- Westernblot
- Elektrophoretische Methoden, wie SDS-PAGE, Isoelektrische Fokussierung (IEF) und Kapillarelektrophorese (CE)
- Peptidmapping

Testmethoden für Nukleinsäuren

- DNA-Hybridisierung
- Sequenzunabhängige Techniken (z.B. Threshold-Assay)
- PCR (polymerase chain reaction, Amplifikation von Nukleinsäuren)
- ELISA

Testmethoden für Kontaminanten

- Prüfung auf Sterilität
- Prüfung auf mikrobielle Verunreinigung bei nichtsterilen Produkten
- Prüfung auf Mycoplasmen

Testmethoden für Endotoxine und Pyrogene

- LAL-Test
- Kaninchentest

Testmethoden für Viren

- Prüfung auf Retroviren

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 46 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Test auf Retroviren durch Nachweis des Enzyms Reverse Transkriptase (z. B. PERT/RT Assay)
- Nachweis über Elektronenmikroskopie
- Prüfung auf Fremdviren unter Verwendung von Zellkulturen
- Prüfung auf Fremdviren unter Verwendung von Bruteiern
- Prüfung auf Leukoseviren
- Prüfung auf fremde Agenzien in Virus-Lebend-Impfstoffen

Anmerkung:

Einige der aufgeführten Tests sind nicht Bestandteil der Routineprüfung, sondern werden im Rahmen der Produktcharakterisierung bzw. Prozessvalidierung geprüft. Die für die Freigabe durchzuführenden Reinheitsprüfungen werden im Rahmen der Zulassung festgelegt.

6.5 Gehalt

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.1.5

Die Bestimmung des Proteingehalts sollte durch physikochemische Methoden erfolgen. In manchen Fällen ist die Korrelation zum biologischen Assay vorteilhaft.

Inspektionsinhalte:

Testmethoden zur Proteinbestimmung

- Gesamtprotein (Ph.Eur.)
 - UV-Spektroskopie bei 280 nm
 - „Lowry-Methode“
 - „Bradford-Methode“
 - „BCA-Methode“
 - „Biuret-Methode“
 - Fluorimetrie nach Derivatisierung mit 2-Phthalaldehyd
 - Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl
- HPLC

6.6 Biologische Aktivität

ICH Q6B (CPMP/ICH/365/96) Ziff. 2.1.2, EG-Dok. III/3477/92 Ziff. 7.1.5, EG-Dok III 5271/94 Ziff. 10.1, WHO TRS Nr. 823 Ziff. 6.1

Es sind validierte biologische Assays erforderlich z.B.:

- *Messung der biologischen Wirkung im Tierversuch*
- *Messung der biochemischen oder physiologischen Wirkung auf zellulärer Ebene*
- *Messung der biologischen Aktivität, die durch immunologische Interaktionen induziert wird (biochemische Assays)*
- *Ligand/Rezeptor-Bindungsassays*
- *Enzymatische Umsetzungen*

Die Ergebnisse sollten möglichst in Einheiten ausgedrückt werden, die gegen einen internationalen Standard kalibriert sind. Andernfalls können hauseigene Einheiten in Bezug auf charakterisierte Hausstandards angegeben werden.

Ggf. kann die Messung der biologischen Aktivität entfallen wenn:

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 47 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- *genügend physikochemische Informationen vorliegen und*
- *eine gut erstellte und nachvollziehbare Produktionshistorie existiert (Änderung der Zulassung).*

Inspektionsinhalte:

- Prüfmethode zur Bestimmung der biologischen Aktivität und deren Validierung
- Statistische Auswertung

6.7 Stabilität

ICH Q6B Ziff. 3.0

Es müssen Stabilitätsprofile vorhanden sein, die entsprechend der ICH-Leitlinie Q5C erstellt werden sollten.

ICH Q5C Ziff 4., 5., und 6.

Von Wirkstoff und Endprodukt sind mindestens von drei Chargen Stabilitätsdaten zu ermitteln. In den Endproduktchargen sollten unterschiedliche Wirkstoffchargen verarbeitet sein.

Das Stabilitätsprofil muss verschiedene Kriterien beinhalten, die gewährleisten, dass Veränderungen bei der Identität, der Reinheit und der biologischen Aktivität des Produktes entdeckt werden.

Folgende Bereiche sollten erfasst werden.

- *Biologische Aktivität*
- *Reinheit (Bestimmung der Abbauprodukte)*
- *Andere Produktcharakteristika: Aussehen, pH, Feuchtigkeit, Sterilität, Stabilisatoren, Konservierungsmittel.*

Folgende Lagerungsbedingungen sollten erfasst sein:

- *Temperatur, Feuchtigkeit, Stressbedingungen, Licht, Behältnis.*
- *Stabilität nach Rekonstituierung eines gefriergetrockneten Produktes.*

Ph.Eur. Monographie Impfstoffe für Menschen

Falls zutreffend, muss die Stabilität von Zwischenprodukten unter den festgelegten Lagerungsbedingungen geprüft und eine Dauer der Verwendbarkeit festgelegt werden.

Die Wirksamkeit der Fertigungszubereitung muss für die Dauer der Verwendbarkeit durch validierte Studien gewährleistet sein. Der Abfall der Wirksamkeit unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen wird ermittelt, wobei starker Abfall der Wirksamkeit, auch innerhalb der festgelegten Wirksamkeitsgrenzen, darauf hinweisen kann, dass der Impfstoff nicht geeignet ist.

Inspektionsinhalte:

- Stabilität von Bulk und Fertigprodukt
- Organisation der Stabilitätsprüfung, Musterverwaltung, Monitoringprogramm
- fortlaufendes Stabilitätsprogramm (Follow-up Stabilität)
- Abgleich mit den Zulassungsunterlagen
- Qualifizierung und Kontrolle der Lagerungsbedingungen

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 48 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Stabilitätsprofile
- Validierte Testmethoden zur Durchführung von Stabilitätsstudien
- Berücksichtigung von Worst Case Situationen
- Änderungen von Stabilitätsstudien
- Ggf. Lagerung von Zwischenprodukten
 - festgelegte Lagerbedingungen
 - begründete Testmethoden
 - Lagerbehältnisse

6.8 Spezielle Prüfmethoden

Affinitätschromatographie - Die Affinitätschromatographie ist eine Form der Adsorptionschromatographie und wird hauptsächlich zur Reinigung von Biomakromolekülen verwendet. Eingesetzt werden spezielle stationäre Phasen, die spezifische, reversible Wechselwirkungen zwischen einem chemisch an der Matrix gebundenen Liganden und einem dazu komplementären gelösten Molekül ermöglichen. Verwendet man einen Liganden, der die spezifischen Bindungseigenschaften der zu isolierenden Substanz ausnutzt, so spricht man von Bioaffinitätschromatographie. Bei der Immunoaffinitätschromatographie setzt man spezifische Antikörper als Liganden ein. Aufgrund ihrer Fähigkeit spezifische Epitope erkennen zu können, binden sie selektiv die gewünschte Substanz.

Aminosäureanalyse/Ph.Eur. 2.2.56 – Sie wird verwendet, um die Aminosäurezusammensetzung und/oder den Proteingehalt zu bestimmen. Es handelt sich um einen zweistufigen Prozess bestehend aus kompletter Hydrolyse (chemisch oder enzymatisch) des Proteins in seine Aminosäure-Bestandteile gefolgt von chromatographischer Trennung und Quantifizierung per HPLC.

Aminosäuresequenzierung – Es handelt sich um eine partielle Sequenzierung (8-15 Bausteine) von Aminosäuren innerhalb eines Proteins oder Polypeptids entweder durch N- oder C-terminale Sequenzierung. Die Methode wird verwendet, um Informationen über die Primärstruktur des Proteins, seine Homogenität und die An- oder Abwesenheit von Polypeptidspaltprodukten zu erhalten. Die Daten der Sequenzierung, die mittels HPLC bestimmt werden, werden in tabellarischer Form präsentiert und sollten die Gesamtausbeute jeder Aminosäure auf jedem Sequenzierungszyklus einschließen. Eine Gesamtsequenzierung wird oft durchgeführt durch die Sequenzierung von einzelnen Peptidfragmenten, die nach enzymatischer Spaltung des Proteins und HPLC-Fraktionierung isoliert werden.

Amplifikation von Nukleinsäuren / Polymerase-Kettenreaktion (PCR) /Ph.Eur. 2.6.21 - Ein Verfahren, das die spezifische In-vitro-Amplifikation von DNA-Nukleinsäurebereichen definierter Länge und Sequenz oder RNA-Segmenten nach reverser Transkription erlaubt. Die DNA-Amplifikation erfolgt in mehreren Zyklen: Hitzedenaturierung, spezifische Bindung der Primer, Verlängerung der Primer.

Bei der Durchführung der Prüfung sind räumliche und organisatorische Voraussetzungen, Auswertung und Interpretation, Validierung des PCR-Systems (Spezifität, Nachweisgrenze, Robustheit), Qualitätskontrolle der Reagenzien und die Kontrolle des Reaktionsverlaufs zu beachten. Interne Qualifizierungsprogramme und externe Qualitätskontrollen dienen der Qualitätssicherung.

Anormale Toxizität /Ph.Eur. 2.6.9 – Toxizitätsprüfung von Sera und Impfstoffen an Mäusen und Meerschweinchen durch Injektion der zu prüfenden Substanz.

Ausschlusschromatographie/Ph.Eur.2.2.30 - Eine Trennungsmethode, bei welcher Moleküle aufgrund ihrer Teilchengröße im gelösten Zustand getrennt werden (Gelpermeationschromatographie: organische mobile Phase; Gelfiltrationschromatographie: wässrige

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 49 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

mobile Phase). Die Ausschlusschromatographie kann zur Bestimmung von Molekülmassen benutzt werden, indem mit vorgeschriebenen Referenzsubstanzen verglichen wird. Sie kann mit natürlichen oder denaturierten Proteinen durchgeführt werden.

Bakterien-Endotoxine/Limulus-Amoebocyten-Lysat-Test/LAL/Ph.Eur.2.6.14 – Ein empfindlicher Test auf die Anwesenheit von Endotoxinen, bei dem die Fähigkeit der Endotoxine benutzt wird, Koagulationsreaktionen im Blut des Pfeilschwanzkrebse (*Limulus polyphemus*) zu verursachen. Der LAL-Test kann jedoch nur Endotoxine erfassen und nicht alle Typen von Pyrogenen. Er muss entsprechend der Pharmakopoe validiert werden. Varianten des LAL-Tests schließen einen Gelgerinnungstest, einen kolorimetrischen Test, einen chromogenen Test und einen turbidimetrischen Test ein.

Das Vorhandensein von Störfaktoren (und falls erforderlich deren Beseitigung) soll an Proben von mindestens 3 Herstellungschargen geprüft werden.

Carbohydratanalyse/Kohlenhydratanalyse – Sie wird verwendet, um die Konsistenz der Zusammensetzung kovalent gebundener Monosaccharide in Glykoproteinen zu bestimmen. Während die Aminosäuresequenz eines Glykoproteins durch die genetische Information eindeutig determiniert ist, hängt die Abfolge der Zucker-Bausteine in den Kohlenhydratseitenketten vom Angebot an Substraten und von den Aktivitäten der verknüpfenden Enzyme ab. Mikroheterogenität der Kohlenhydratkette ist daher die Regel. Die Bestimmung kann bei unterivatisierten Zuckern nach Hydrolyse und HPLC-Trennung mit amperometrischer Detektion oder durch Gaschromatographie nach Derivatisierung erfolgen.

DNA-Hybridisierung – Die Hybridisierung basiert darauf, dass einzelsträngige DNA unter geeigneten Bedingungen mit ebenfalls einzelsträngiger, komplementärer DNA zu doppelsträngiger DNA zusammenlagert. Die hybridisierte DNA wird über Farbreaktionen (z. B. Chemolumineszenz) oder radioaktive Markierung sichtbar gemacht. Zu DNA-Sonden, Kalibrierung und Standardisierung, Bedingungen der Hybridisierung sowie zu den sequenzunabhängigen Techniken siehe Ph. Eur. Monographie „DNA-rekombinations-technisch hergestellte Produkte“.

Elektrophorese/Ph.Eur. 2.2.31 — Bei den elektrophoretischen Methoden (z. B. Gelelektrophorese) werden die zu untersuchenden Proben nach Art und Anzahl ihrer Ladungen und der Größe getrennt: das Masse/Ladungsverhältnis ist für die Mobilität der Teilchen ausschlaggebend. Die Visualisierung der gelelektrophoretisch getrennten Produkte erfolgt beispielsweise durch Anfärben mit Coomassie Blau, Fluoreszenzfarbstoffen oder Silberfärbung. Die Anfärbemethode mit Coomassie Blau ist quantitativ auswertbar, wenn ein Laser-Densitometer mit geeigneter Software zum Lesen des Gels verwendet wird. Die Anfärbemethode mit Silber ist wesentlich empfindlicher und wird deshalb für die Detektion von Proteinverunreinigungen im Spurenbereich verwendet, kann jedoch durch die unterschiedliche Färbung von Protein zu Protein nicht für die Quantifizierung benutzt werden. Zur Absicherung der Identität wird meistens eine Kombination elektrophoretischer Methoden mit immunochemischen Färbetechniken durchgeführt (s. a. Western-Blot-Techniken).

ELISA/enzyme linked immunosorbent assay Ein ELISA Test kann nach entsprechender Validierung zur Identitätsprüfung und zur Bestimmung der biologischen Aktivität eines therapeutischen Proteins herangezogen werden. Durch geeignete mono- oder polyklonale Antikörper wird hierbei das korrekt gefaltete Protein hochselektiv erkannt und detektiert. ELISA-Tests werden auch als Multiantigen-Tests zur Prüfung auf Verunreinigungen durch Wirtszell-Proteine (host cell proteins, HCP) eingesetzt. Der ELISA-Test auf Wirtszell-Proteine erfordert die Herstellung eines Referenzstandards von Proteinverunreinigungen der Wirtszelle, der als Immunogen für die Herstellung von polyklonalen Antikörpern dient, die für den Assay verwendet werden. Siehe auch Immunchemische Methoden Ph.Eur. 2.7.1.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 50 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Flüssigchromatographie/LC/Ph.Eur. 2.2.29 – Die LC (liquid chromatography) ist eine chromatographische Trennmethode, die auf Unterschieden in der Verteilung von Substanzen zwischen 2 nicht mischbaren Phasen beruht, wobei eine flüssige mobile Phase, die in einer Säule befindliche stationäre Phase durchläuft. Die LC beruht in Abhängigkeit von den verwendeten Phasensystemen auf den Prinzipien der Adsorption, der Massenverteilung, des Ionenaustauschs, des Molekülgrößenausschusses oder auf stereochemischen Wechselwirkungen.

Bewertungskriterien und Eignung des Systems müssen beschrieben sein. Hierzu sind folgende Parameter zu beachten:

Leistungsfähigkeit der Säule: Retentionszeit, Massenverteilungsverhältnis, Auflösung, Peak-Symmetriefaktor.

Chromatographiebedingungen (cave: Änderungen): mobile Phase (Zusammensetzung und pH), stationäre Phase (Säulenlänge, innerer Durchmesser, Porosität, Art und Größe der Teilchen), Wellenlänge des Detektors, Durchflussrate, Temperatur, Druck, Einspritzvolumen. Systemeignung (Minimalforderungen): Peak-Symmetriefaktor 0,8 – 1,5; Wiederholpräzision für Gehaltsbestimmungen; Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze für einen Peak bei der Prüfung auf verwandte Substanzen: Signal-Rausch-Verhältnis mind. 3 bzw. 10.

Fremde Agenzien unter Verwendung von Küken/Ph.Eur. 2.6.6 – Prüfung von Impfstoffen auf fremde Agenzien durch i.m.-Injektion und i.o. Verabreichung an Küken, die aus SPF-Beständen (spf = specific pathogen free) stammen.

Fremde Agenzien in Virus-Lebend-Impfstoffen für Menschen/Ph.Eur. 2.6.16 – Bei den Prüfungen, die eine vorherige Virusneutralisation erfordern, werden spezifische Antikörper verwendet, die nicht vom Menschen oder Affen stammen. Falls das Virus in Geflügelgewebe vermehrt wurde, dürfen die Antikörper außerdem auch nicht vom Geflügel stammen. Um das Antiserum herzustellen, wird ein immunisierendes Agens verwendet. Das Antigen ist frei von fremden Agenzien und wird in einer Zellkultur einer Art, die nicht für die Herstellung des Impfstoffs verwendet wurde, hergestellt. Falls die Verwendung von SPF-Eiern vorgeschrieben ist, müssen die Eier von Herden stammen, die den Anforderungen an Hühnerherden, frei von spezifizierten, pathogenen Mikroorganismen, zur Herstellung und Kontrolle von Impfstoffen entsprechen.

Fremdviren unter Verwendung von Bruteiern /Ph.Eur. 2.6.3 – Impfung von SPF-Eiern, 7-tägige Beobachtung, Untersuchung der Embryonen auf Todesfälle und Anomalien.

Fremdviren unter Verwendung von Zellkulturen/Ph.Eur. 2.6.5 – Impfung von Zellkulturen aus Nierenzellen von Küken oder aus Leberzellen von Hühnerembryonen aus SPF-Herden. Untersuchung auf zytopathische Effekte und Hämadsorption.

Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie/high performance liquid chromatography/HPLC / Ph.Eur. 2.2.29 - Eine instrumentelle Trenntechnik, die verwendet wird, um die Reinheit eines biotechnisch hergestellten Produkts zu charakterisieren oder zu bestimmen, indem das Produkt (oder seine Peptide oder Aminosäuren) gelöst in einer flüssigen Phase über eine chromatographische Säule mit fester Matrix gegeben wird. Die Art der Trennung, d.h. Umkehrphase, Ionenaustausch, Gelfiltration oder hydrophobe Interaktion, wird durch die Säulenmatrix und die mobile Phase bestimmt (siehe auch Flüssigchromatographie, LC).

Hydrophobe Interaktionschromatographie (HIC) - HIC wird in stark salzigem Medium durchgeführt, indem die hydrophoben Teile eines Proteins bei hoher Salzkonzentration an eine leicht hydrophobe Oberfläche gebunden werden, die chemische Gruppen wie Phenyl- oder kurzkettige Kohlenwasserstoffe enthält. Das Protein kann in einem Gradienten abnehmenden Salzgehalts eluiert werden, wobei das am stärksten hydrophobe Protein zuletzt eluiert wird.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 51 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Immunchemische Methoden (Ph.Eur. 2.7.1) - Immunchemische Methoden beruhen auf der selektiven, reversiblen und nichtkovalenten Bindung von Antigenen mit Antikörpern. Sie werden zum Nachweis oder zur Bestimmung von Antigenen oder Antikörpern eingesetzt. Hierzu gehören auch Methoden, bei denen ein markiertes Antigen oder ein markierter Antikörper verwendet wird. Als Marker kommen z.B. Enzyme, Fluorophore, Luminophore oder Radioisotope in Frage.

Immunpräzipitationsmethoden sind Methoden, bei denen ein unmarkiertes Antigen oder ein unmarkierter Antikörper verwendet wird (Immundiffusion s.u.). Sie beruhen auf Flockungs- und Präzipitationsreaktionen. Wenn eine Lösung eines Antigens unter geeigneten Bedingungen mit seinem zugehörigen Antikörper gemischt wird, bilden die Reaktanden Aggregate, die ausflocken oder ausfallen.

Immunelektrophorese (IE) ist eine Technik, die zwei Methoden miteinander kombiniert: Gelelektrophorese mit darauffolgender Immundiffusion (s.u.).

Immunoassay – Eine qualitative oder quantitative Prüfmethode, die auf der Messung von Interaktionen von Antikörpern und Antigenen von hoher Affinität beruht, um Proteine zu identifizieren und zu quantifizieren.

Immunoblotting – Eine Technik für den Transfer von Antikörpern/Antigenen von einem Gel auf eine Membran (z. B. Nitrocellulosefilter), auf dem sie mit ihrem komplementären Antigen/Antikörper komplexiert werden können.

Immundiffusion (eindimensionale einfache Immundiffusion nach Oudin) – Eine Diffusionsmethode, bei der eine Lösung des Produktes (Antigen) in einem Reaktionsgefäß auf ein Gel aufgebracht wird, das den jeweiligen komplementären Antikörper in homogener Verteilung enthält. Antigene, wie Makromoleküle, Bakterien oder Viren diffundieren in das Gel und bilden ringförmige Präzipitate, deren Lage von den Antigenkonzentrationen abhängen

Immundiffusion (zweidimensionale Immundiffusion nach Ouchterlony) – Eine Technik, bei der Lösungen von Antigenen und Antikörper in benachbarte Stanzlöcher einer Agaroseplatte verbracht werden. Bei der Diffusion durch das Medium bilden beide Partner einen Konzentrationsgradienten und es entstehen sichtbare Präzipitationslinien der Antigen/Antikörper-Komplexe an dem Punkt, wo die entsprechenden Konzentrationen für eine Präzipitation optimal sind.

Ionenaustauschchromatographie/ion exchange chromatography/IEC – Grundlage für den Ionenaustausch ist die kompetitive Wechselwirkung geladener Ionen: Ein Probenmolekül konkurriert mit Salz-Ionen um die geladenen Positionen auf einer Ionenaustauscher-Matrix. Die Methode ist für Proteine gut geeignet, da Proteine in Abhängigkeit vom pH-Wert negative oder positive Ladungen tragen. Hierfür sind einerseits die N-terminale Amino- und die C-terminale Carboxylgruppe, sowie die Seitenketten der Aminosäuren Lysin, Arginin und Histidin bzw. Asparaginsäure und Glutaminsäure verantwortlich.

Isoelektrische Fokussierung (IEF)/Ph.Eur. 2.2.54 – Die IEF ist eine elektrophoretische Methode, bei der Moleküle aufgrund ihres amphoteren Charakters getrennt werden. Wandern Proteine in einem elektrischen Feld durch einen pH-Gradienten, so erreichen sie irgendwann einen Punkt, an dem ihre Nettoladung gleich Null ist. Dieser pH-Wert wird isoelektrischer Punkt (pI) genannt. Ein gereinigtes Protein sollte deshalb auf dem IEF-Gel nur als eine einzige homogene Bande im Bereich des pI erscheinen. Die IEF ist besonders zur Detektion von Nebenprodukten geeignet, die aufgrund geringer Molekulargewichtsveränderungen durch SDS-PAGE nicht identifiziert werden können (z. B. Mutationen, Oxidationen, Deaminierungen, Formylierungen, Acetylierungen u.s.w.). Daneben eignet sie sich sehr gut zur Trennung von Glykoprotein-Isoformen mit unterschiedlichem Anteil von geladenen Zuckermolekülen in der Seitenkette (z.B. Erythropoietin).

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 52 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Bei der Durchführung und Validierung der Methode sind folgende Gesichtspunkte zu beachten: Art der Gele, Auftragen der Proben, stabiler pH-Gradient, wirksame Kühlung der Unterlage, Entwicklung der Gele, Vergleich mit Referenzsubstanz und Marker-Proteinen mit bekanntem isoelektrischen Punkt zur Kalibrierung.

Kapillarelektrophorese/Ph.Eur. 2.2.47 - Physikalische Analysenmethode, die auf der Wanderung einer geladenen, in einer Elektrolytlösung gelösten Substanz innerhalb einer Kapillare unter dem Einfluss eines elektrischen Gleichstromfeldes beruht. Sie wird in der Bioanalytik häufig als komplementäre Methode zur HPLC verwendet, insbesondere für das Peptidmapping. Diese Technik ist schneller und trennt oft Peptide, die bei der HPLC gemeinsam eluiert werden. Die Nachweisempfindlichkeit ist wegen des kürzeren Lichtweges durch die Kapillare bei gleichem Detektionsverfahren allerdings geringer als bei der HPLC.

Kapillarelektrophorese in freier Lösung: Hier werden die Bestandteile in einer Kapillare getrennt, die nur eine Pufferlösung ohne jeden Zusatz, der einer Konvektion entgegenwirkt, enthält. Die Trennung mit dieser Technik beruht darauf, dass die unterschiedlichen Bestandteile der zu prüfenden Substanz als diskrete Banden mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten wandern.

Kapillar-Gelelektrophorese: Hier findet die Trennung in einer mit einem Gel gefüllten Kapillare statt, die als Molekularsieb wirkt. Bei einem gegebenen Ladungs-Masse-Verhältnis wandern dabei kleinere Bestandteile in der Kapillare schneller als größere. Die Kapillar-Gelelektrophorese kann für die Trennung von biologischen Makromolekülen (Proteine, DNA-Fragmente) entsprechend ihrer relativen Molekülmassen verwendet werden.

Isoelektrische Fokussierung in Kapillaren: siehe unter Isoelektrische Fokussierung

Leukoseviren/Ph.Eur. 2.6.4 – Verimpfung des Impfstoffs auf Hühnerembryo-Fibroblastenkulturen, die nachweislich die Vermehrung von Leukoseviren ermöglichen. Nach 9-tätiger Beobachtung und Aufarbeitung wird ein Komplementbindungs-Test auf gruppenspezifisches Geflügelleukose-Antigen durchgeführt.

Massenspektrometrie – Eine Technik, die für die Analytik von Primärstrukturen nützlich ist, indem die Molekülmasse von Peptiden und kleinen Proteinen bestimmt wird. Sie wird oft gemeinsam mit dem Peptidmapping eingesetzt, um die Peptidzusammensetzung zu identifizieren. Sie ist auch nützlich um Disulfidbrücken zu lokalisieren und Modifikationen zu erkennen. Die Massenspektrometrie wird häufig nach vorangegangener chromatographischer Trennung in direkter Kopplung mit der HPLC eingesetzt (LC/MS-Kopplung). Für Proteine und Peptide werden hierbei schonende Ionisationsverfahren wie ESI (electrospray ionisation) eingesetzt, die es erlauben, die Moleküle ohne weitere Zersetzung in die Gasphase zu bringen.

Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte: Zählung der gesamten vermehrungsfähigen Keime/Ph.Eur. 2.6.12 – Die Prüfung wird in der Biotechnologie zur Überwachung der Qualität von Ausgangsstoffen, Zwischen- und Fertigprodukten und zur Prozessvalidierung angewendet. Die Ausführung der Prüfungen einschließlich der einzusetzenden Probenanzahl und die Interpretation der Ergebnisse können zwischen dem Hersteller und der zuständigen Behörde vereinbart werden.

Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte: Nachweis spezifizierter Mikroorganismen/Ph.Eur. 2.6.13 – In dieser allgemeinen Methode wird die Benutzung bestimmter selektiver Nährmedien vorgeschlagen. Allgemeines Merkmal aller selektiven Nährmedien ist, dass mit ihnen keine subletal vorgeschädigten Mikroorganismen nachgewiesen werden können. Da solche vorgeschädigten Mikroorganismen für die Qualität eines Produkts entscheidend sind, muss das Prüfverfahren, das auf selektiven Nährmedien basiert, eine Möglichkeit zur Reaktivierung beinhalten. Falls das zu prüfende Produkt antimikrobielle Eigenschaften besitzt, müssen diese ausreichend neutralisiert werden.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 53 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Mycoplasmen/Ph.Eur. 2.6.7 – Für die Prüfung auf Mycoplasmen in MCB, WCB, Virussaatgut oder Kontrollzellkulturen wird sowohl der Kulturnachweis als auch der Nachweis der Mycoplasmen-DNA in Zellkulturen mikroskopisch mittels Fluoreszenzfarbstoffs durchgeführt. Für die Prüfung der Virusernte, des fertigen Impfstoffs als Bulk oder der Fertigzubereitung erfolgt die Prüfung im Kulturnachweis. Falls erforderlich kann der Nachweis der Mycoplasmen-DNA in Zellkulturen mittels Fluoreszenzfarbstoffs zur Überprüfung der Medien verwendet werden.

Es müssen unterschiedliche Nährmedien ausgewählt werden. Jede neue Nährmediencharge muss auf ihre Wachstumseigenschaften geprüft werden. Das Produkt muss auf Hemmstoffe untersucht werden. Die beimpften Nährmedien werden je zur Hälfte unter aeroben oder mikroaerophilen Verhältnissen bebrütet. Die Auswertung erfolgt unter Einbeziehung von Positivkontrollen.

Northern Blot – Eine Technik für den Transfer von RNA-Fragmenten von Agarose-Gel auf einen Nitrocellulose-Filter, auf dem sie mit einer komplementären DNA hybridisiert werden können.

Peptidkartierung/peptide mapping/Ph.Eur. 2.2.55 – Eine Technik, bei der Proteine durch hochspezifische Enzyme in Peptide gespalten werden. Die Enzyme spalten die Proteine an vorhersagbaren und reproduzierbaren Aminosäure-Stellen und die resultierenden Peptide werden per HPLC oder Elektrophorese aufgetrennt. Die Peptidliste einer Probe wird mit der einer Referenzprobe verglichen, was ein Schritt zur Bestätigung der Produktidentität ist. Der Test wird auch für die Bestätigung von Disulfidbrücken, zur Lokalisierung von Kohlenhydratgruppen, zur Sequenzanalyse und für die Identifizierung von Verunreinigungen und Proteinabbau eingesetzt. Die Identitätsbestimmung kann durch massenspektrometrische Analyse der Peptidbruchstücke, häufig in online-Kopplung mit der HPLC oder CE, weiter abgesichert werden.

Proteinquantifizierung/Gesamtprotein/Ph.Eur.2.5.33 – Die Quantifizierung der Gesamtmenge an Protein kann anhand der UV-Absorption bei 280 nm, durch Fluorimetrie nach Derivatisierung mit 2-Phthalaldehyd oder durch eine Reihe von kolorimetrischen Prüfungen (Methoden nach Biuret, Lowry, Bradford und Kjeldahl sowie „BCA-Methode“ erfolgen.

Pyrogene/Ph.Eur. 2.6.8 – Bei der Prüfung wird der Anstieg der Körpertemperatur bei Kaninchen gemessen, der nach intravenöser Injektion einer sterilen Lösung der zu prüfenden Substanz hervorgerufen wird. Die Tiere müssen vorschriftsmäßig ausgewählt und gehalten werden. Die Prüfung besteht aus einer Vorprüfung der Tiere und einer Hauptprüfung mit einer Gruppe von 3 Kaninchen. Auswertung und Akzeptanzkriterien sowie Bedingungen, unter denen die Prüfung wiederholt werden darf, sind in der Monographie festgelegt.

Radioimmunoassay (RIA) – Ein Oberbegriff für Immunoassays, die entweder auf dem Antigen oder dem Antikörper eine radioaktive Markierung tragen. Übliche Markierungen sind ¹²⁵I und ³H, die für die Detektion und die Quantifizierung verwendet werden. Klassische RIAs sind kompetitive Bindungs-Tests, wo das Antigen und das markierte Antigen um eine bestimmte limitierte Anzahl von Bindungsstellen auf dem Antikörper konkurriert. die Konzentration des markierten, an den Antikörper gebundenen Komplexes ist umgekehrt proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Antigens.

SDS PAGE (Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese)/ Ph.Eur. 2.2.31

Eine elektrophoretische Trennung von Proteinen basierend auf deren Molekulargewicht. Durch die Addition von SDS erhalten die Moleküle eine einheitliche negative Ladung. Unter diesen Bedingungen erlaubt die Wanderung durch die Gelmatrix zur Anode eine Trennung nach Größe nicht nach Ladung, wobei die kleinen Moleküle am weitesten wandern.

Die Proteine werden durch Coomassie Blau oder Silber angefärbt oder können auf Membranen zur spezifischen Antigen/Antikörper-Prüfung weitertransferiert werden.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 54 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Southern Blot – Technik für den Transfer von DNA-Fragmenten von Agarose-Gel auf eine Membran (z. B. Nitrocellulosefilter), auf der sie zu einer komplementären DNA hybridisiert werden können.

Sterilitätsprüfung/Ph.Eur. 2.6.1- Die Prüfung ist bei Substanzen, Zubereitungen oder Produkten durchzuführen, für die Sterilität vorgeschrieben ist. Die Prüfung hat unter aseptischen Bedingungen entsprechend den EG-GMP-Regeln zu erfolgen. Die Prüfung kann mit der Membranfilter-Methode oder der Direktbeschickungsmethode unter Einbeziehung von Negativ-Kontrollen durchgeführt werden. Alternative Methoden sind erlaubt, sofern sie von der zuständigen Behörde akzeptiert werden und das so geprüfte Material den Anforderungen des Arzneibuchs entspricht.

Umkehrphasenchromatographie/reversed phase chromatography – Eine chromatographische Trennmethode, die auf einer stationären Säulenphase mit unpolarer hydrophober Oberfläche beruht. Die Retention hängt von den hydrophoben Interaktionen zwischen Analyt und stationärer Phase ab. Sie wird ferner durch die Länge und die Belegungsdichte der auf der stationären Phase gebundenen Kohlenstoffketten und durch den Anteil an organischem Lösungsmittel in der mobilen Phase beeinflusst. ist proportional zu den hydrophoben Reaktionen zwischen Lösung und Oberfläche. Die Retention ist ungefähr proportional zur Länge der gebundenen Kohlenstoffkette.

UV-VIS-Spektroskopie/Ph.Eur. 2.2.25 – Eine quantitative Technik für Proteine, bei der die UV-Absorptionseigenschaften von Seitenkettenchromophoren der Aminosäuren Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin ausgenutzt werden. Da diese Absorption linear von der Konzentration abhängt, ist, können hochgereinigte Proteine über ihren molaren Extinktionskoeffizienten quantifiziert werden. Die Methode ist nicht sehr selektiv, da Verunreinigungen häufig ebenfalls im UV-Bereich absorbieren.

Western Blot – Bei der Western Blot Technik werden die Proteine zunächst mittels SDS-PAGE aufgetrennt und durch Elektrotransfer auf eine Nitrocellulose-Membran übertragen. Anschließend werden die freien Bindungsstellen auf der Membran abgesättigt und die Membran mit der gewünschten Antikörperlösung (primärer Antikörper) inkubiert. Die Antikörper liegen zumeist markiert vor, so dass der Antigen-Antikörperkomplex beispielsweise durch eine enzymatische Reaktion sichtbar gemacht werden kann. Biotinylierte Antikörper in Kombination mit Streptavidin markierter alkalischer Phosphatase haben sich aufgrund ihres breiten Anwendungsbereiches besonders bewährt.

Zirculardichroismus /circular dichroism (CD)/Ph.Eur. 2.2.41 – Die Zirculardichroismus-Spektroskopie (CD) analysiert die Absorption von linear polarisiertem Licht durch gelöste chirale Proteine in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Sie wird für die Bestimmung der Sekundärstruktur und Quantifizierung spezifischer Strukturformen (α -Helix, β -Faltblatt, zufällige Spirale) innerhalb eines Proteins verwendet. Die resultierenden Spektren werden mit den Spektren der natürlichen Proteinform oder dem Referenzstandard des rekombinanten Produkts verglichen.

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 55 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

7 Herstellung Prüfung im Lohnauftrag

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

8 Beanstandungen und Produktrückruf

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

9 Selbstinspektion

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

Literaturverzeichnis

- 2003/94/EG
Richtlinie der Kommission zur Festlegung der Grundsätze und Leitlinien der Guten Herstellungspraxis für Humanarzneimittel und für zur Anwendung beim Menschen bestimmte Prüfpräparate
- 91/412/EG
Richtlinie der Kommission zur Festlegung der Grundsätze und Leitlinien der Guten Herstellungspraxis für Tierarzneimittel
- Eudralex Volume 4 GMP-Leitfaden
Part II: GMP-Anforderungen für Wirkstoffe
Annex 2: Herstellung biologischer pharmazeutischer Produkte zur Anwendung beim Menschen
- Europäisches Arzneibuch (Ph.Eur.)
- EMEA/410/01 rev. 2
Note for Guidance on Minimising the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents via Human and Veterinary Products (CPMP/CVMP adopted Feb 2004)
- CPMP/BWP/3734/03
Guideline on the Scientific Data Requirements for Vaccine Antigen Master File (VAMF) Certification (CPMP adopted Feb 04)
- CPMP/BWP/3734/03
Guideline on the Scientific Data Requirements for Vaccine Antigen Master File (VAMF) (CPMP adopted Dec 03)
- CPMP/BWP/3207/00 rev.1
Note for Guidance on Comparability of Medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Quality Issues (CPMP adopted Dec 2003)

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 56 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- CPMP/BWP/3297/02
Note for Guidance on Comparability of Medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Non-clinical and Clinical Issues (CPMP adopted Dec 2003)
- CPMP/BWP/1793/02
Note for Guidance on the Use of Bovine Serum in the Manufacture of Human Biological Medicinal Products (CPMP adopted Jul. 03)
- CPMP/BWP/3068/03
Guidance on the Description of Composition of Pegylated (Conjugated) Proteins in the SPC (CPMP adopted Jul 03)
- CPMP /QWP/158/01; EMEA/CVMP/115/01 Rev.
Note for Guidance on Quality of Water for Pharmaceutical Use (CPMP adopted May 02)
- CPMP/BWP/2490/00
Note for Guidance on Cell Culture Inactivated Influenza Vaccines (CPMP adopted Jan. 2002)
- CPMP/BWP/3354/99
Note for Guidance on Production and Quality Control of Animal Immunoglobulin and Immunoserum for Human Use
- CPMP/ICH/365/96 = ICH Q6B
Note for Guidance on Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (CPMP adopted Mar. 99)
- CPMP/BWP/477/97
Note for Guidance on Pharmaceutical and Biological Aspects of Combined Vaccines (CPMP adopted Jul. 98)
- CPMP/ICH/302/95 = ICH S6
Note for Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Products (CPMP adopted Sept. 97)
- CPMP/ICH/294/95 = ICH Q5D
Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterisation of Cell substrates used for Production of Biotechnological/Biological Products (CPMP adopted Sept. 97)
- CPMP/ICH/295/95 = ICH Q5A
Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Viral safety Evaluation of Biotechnology Products derived from Cell Lines of Human or Animal Origin (CPMP adopted April 97)
- CPMP/BWP/214/96
Note for Guidance on Harmonisation of Requirements for Influenza Vaccines (CPMP adopted March 97)
- CPMP/BWP/243/96
Note for Guidance on Allergen Products (CPMP adopted March 96)
- CPMP/BWP/268/95 (EudraLex 3AB8A)
Virus Validation Studies: The Design and Interpretation of Studies Validating the Inactivation and Removal of Viruses (CPMP adopted Feb. 96)
- CPMP/ICH/138/95 = ICH Q5C (EudraLex: 3AB5A)

Aide mémoire 07121002	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 57 von 58
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products (CPMP adopted Dec. 95)

- CPMP/ICH/139/95 = ICH Q5B (EudraLex 3AB2A)

Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cell Lines used for Production of rDNA derived Protein Products (CPMP adopted Dec. 95)

- EG-Dok. III/3477/92 Final, revision 1994 (Eudralex 3AB1A)

Production and quality control of medicinal products derived by recombinant DNA technology

- EG-Dok. III/5271/94 (EudraLex 3AB4A)

Production and quality control of monoclonal antibodies

- EG-Dok. III/3612/93 Final (EudraLex 3AB7A)

Use of transgenic animals in the manufacture of biological medicinal products for human use

- 90/219/EWG

Richtlinie des Rates über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen (vom 23.4.1990)

- WHO Technical Report Series, No. 822, 823

Stichwortverzeichnis

Abfüllung	7, 8, 11, 12, 37, 38, 39	LAL-Test	46, 50
Affinitätschromatographie.....	31, 45, 49	Leukoseviren.....	47, 53
Akzeptanzkriterien	8, 11, 15, 16, 23, 29, 30, 40, 41, 43	Massenspektrometrie	44, 53
Aminosäureanalyse	49	Master-Zellbank.....	17
Aminosäuresequenzierung	49	Medien.....	19, 21, 22, 25, 26, 28, 30, 31, 40, 41, 54
Amplifikation von Nukleinsäuren	46	Mikrobiologische Prüfung	53
Änderungskontrolle.....	21, 31, 34, 39	Monitoring	12, 23, 29, 30, 31, 41, 43
Anlagen	6, 8, 10, 11, 13, 15, 38, 39	Mycoplasma.....	21
Anormale Toxizität	49	Nährmedien.....	21, 26, 53, 54
Arbeitszellbank	17	Nukleinsäuren	20, 32, 33, 44, 46
Arzneimittel	3, 5, 6, 7, 12, 24, 25, 26, 38	Passage.....	28
Aufreinigung	11, 12, 20, 25, 31, 36	Peptidkartierung.....	44, 54
Ausgangsstoffe.....	7, 10, 21, 23, 26, 27, 31, 40	Personal	9, 10, 12, 17, 18, 37
Ausrüstung ..	10, 12, 13, 15, 16, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 38, 39	Personalschulung	10
Ausschlusschromatographie	44, 49	Pilze	17, 21, 23, 26, 46
Bakterien	16, 17, 18, 21, 23, 26, 38, 46, 50	Proteine.....	3, 26, 32, 45, 46, 50, 52, 53, 54, 55
Bakterien-Endotoxine.....	50	Proteinquantifizierung.....	54
Belüftungsanlagen.....	11	Prüfmethode.....	26, 40, 41, 42, 48, 49
Biologische Aktivität.....	45, 47, 48	Prüfpräparate.....	40, 43
Changeover	30, 31	Pyrogene	13, 46, 54
Dedicated Equipment	33	Qualifizierung	8, 13, 16, 30, 33, 42, 43, 48
Definitionen	5	Qualitätskontrolle.....	4, 9, 13, 16, 19, 26, 40, 42, 43, 49
DNA-Hybridisierung.....	46	Radioimmunoassay	54
Elektrophorese.....	54	Räume	30, 38
ELISA	45, 46, 50	Referenzsubstanzen.....	42, 43, 50
Endotoxine	33, 41, 46, 50	Reinheit.....	19, 21, 25, 40, 41, 42, 45, 48, 51
Ernte	12, 13, 30, 31, 32, 41	Reinigung.....	9, 10, 12, 15, 25, 30, 31, 32, 33, 38, 42
Extraktion.....	3, 5, 31, 32	Reinigungsvalidierung	8, 10, 12, 15, 16, 33
Fermentation ...	5, 6, 11, 12, 21, 22, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 41	Reinraumklassen.....	38
Final Bulk.....	39	Reprocessing.....	34
Flüssigchromatographie	51	Saatgutssystem	17
Freigabeprüfung	7, 38, 41, 43	Säulen	13, 32, 33, 36
Fremde Agentien	51	SDS PAGE.....	44, 54
Fremdviren.....	47, 51	Serum.....	22, 23, 57
Gehalt	40, 47	Southern Blot	44, 55
Geräte.....	10, 15	Spezifikationen	7, 21, 26, 33, 40
Geschlossene Systeme.....	13	Stabilität.....	17, 19, 20, 29, 32, 33, 40, 42, 48
Gesundheitskontrollen.....	9	Sterilitätsprüfung	55
Gesundheitszustand.....	10, 18	Tierställe	13
GMP-Regeln	5, 6, 7, 55	TSE-Sicherheit.....	23, 26
HPLC	31, 45, 46, 47, 49, 51, 53, 54	Tumorigenität	20
Hydrophobe Interaktionschromatographie	31, 51	UV-Vis-Spektroskopie.....	45
Identitätsprüfungen.....	19, 44	Vektor	17, 20, 29, 31, 32, 45
Immunchemische Methoden	50, 52	Verunreinigungen ...	16, 23, 27, 32, 40, 42, 45, 46, 50, 54, 55
In-Prozess-Kontrollen	32, 33, 41, 43, 46	Viren ..	10, 17, 19, 21, 22, 23, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 41, 46
Ionenaustauschchromatographie	45, 52	Virusentfernung	34, 37, 41
Isoelektrische Fokussierung	44, 53	Virusinaktivierung	34
Isolierung	22, 31	Virussicherheit.....	21, 31, 34, 35, 37
Kapillarelektrophorese	44, 53	Virusvalidierungsstudien	34, 36, 37
Kleidung.....	9, 10	Vorkultur	11, 12, 29
Kontaminanten	20, 23, 33, 41, 46	Western Blot	44, 45, 55
Kontamination... ..	10, 11, 13, 15, 18, 19, 21, 24, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 39	Wirkstoff-Bulk.....	37, 38
Kreuzkontamination ..	8, 10, 19, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 38	Wirkstoffe	3, 5, 6, 7, 12, 21, 26
Kryokonservierung	19, 20	Wirkstoffe für die klinische Prüfung.....	7
Lagerung	15, 17, 18, 19, 20, 27, 38, 42, 49	Zellbänke	7, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 37
Lagerungsbedingungen	18, 20, 21, 33, 38, 41, 48	Zellkultur	6, 22, 27, 31, 45, 51, 20, 45
		Zirculardichroismus	55