

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 1 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Geltungsbereich	Inspektorat	
Schlüsselwörter	Biotechnologie; Gentechnologie	
Querverweise	071201; 071206; 071211; 071212	
erstellt	EFG 04	Januar 2004
		Datum / Unterschrift
fachlich geprüft	Dr. Gabriele Wanninger	16.06.2004
formell geprüft	Dr. Oliver Onusseit	16.06.2004
beschlossen	Humanarzneimittelbereich Dr. Frank Bendas, Vorsitzender AG AATB	
	Tierarzneimittelbereich Dr. Heinrich Bottermann, Vorsitzender AG TAM	
	Tierimpfstoffbereich Dr. Klaus Reimer, Vorsitzender AG TT	
genehmigt		
in Kraft gesetzt		
	gültig ab	

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 2 von 59
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	15
5.1 Zellbänke	15
5.2 Ausgangsstoffe, Medien und Wasser	21
5.3 Zellkultur und Fermentation	27
5.4 Ernte, Extraktion, Isolierung, Aufreinigung	31
5.5 Virussicherheit und Validierung der Virusanreicherung	35
5.6 Abfüllung des Wirkstoff-Bulks	38
5.7 Zubereitung und Abfüllung des Arzneimittels	39
6 Qualitätskontrolle	40
6.1 Spezifikationen	40
6.2 In-Prozess-Kontrollen und Freigabeproofung des Wirkstoffes und des Arzneimittels	41
6.3 Identitätsprüfungen	44
6.4 Reinheit	45
6.5 Gehalt	47
6.6 Biologische Aktivität	47
6.7 Stabilität	48
6.8 Spezielle Prüfmethode	49
7 Herstellung Prüfung im Lohnauftrag	56
8 Beanstandungen und Produktrückruf	56
9 Selbstinspektion	56
Literaturverzeichnis	56
Stichwortverzeichnis	59

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 3 von 59
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.

Folgende Produkte und Herstellungsmethoden werden hierbei erfasst:

Produkte:

- Impfstoffe
- Proteine und Polypeptide
- Monoklonale Antikörper
- Immunsere
- Antigene
- Peptidhormone
- Zytokine
- Enzyme
- u.a.

Herstellungsmethoden:

- Mikrobielle Kulturen mit Ausnahme der mit rDNS-Rekombinationstechniken hergestellten;
- Mikrobielle Kulturen und Zellkulturen, einschließlich der mit Hilfe der rDNS- oder Hybridomtechnik gewonnenen;
- Extraktion aus biologischen Geweben
- Vermehrung lebender Agenzien in Embryonen oder Tieren

Im Allgemeinen gelten die GMP-Prinzipien, wie sie für Arzneimittel im EG-GMP-Leitfaden, für Wirkstoffe in der Leitlinie ICH Q7A bzw. im Annex 18 des EG-GMP-Leitfadens niedergelegt sind. Sie werden in diesem Aide mémoire nicht wiedergegeben, vielmehr werden 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 Computer-gestützte Systeme“ vorausgesetzt.

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.

Das Aide mémoire ist eine Zusammenstellung der Expertenmeinung in der EFG 04 und hat keinen bindenden Charakter. Abweichungen von diesem Aide mémoire 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 4 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 5 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Definitionen und Abkürzungen

Begriffsbestimmungen und Geltungsbereich der GMP-Regeln

Vorbemerkung:

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

Definitionen:

AMG § 4 Abs. 19 (12. AMG-Novelle)

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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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.
- eine Substanz ist, die durch Fermentationsverfahren gewonnen wird und wenn die einbezogenen Mikroorganismen entweder nach herkömmlichen Verfahren oder durch DNA (rDNA)-Rekombinationstechniken verändert sind, dann muss die Substanz falls anwendbar, außerdem den Anforderungen der allgemeinen Monographie „Fermentationsprodukte“ entsprechen.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 6 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

EG-Dok. III/3477/92, EG-Dok. III/5271/94, WHO TRS No. 823

“Bulk final active ingredient”:

Es handelt sich um das Endprodukt, das nach Durchführung aller Produktionsprozesse aus einer Bulk-Ernte erhalten wird. Es wird in einem oder mehreren Behältnissen aufbewahrt und für die Herstellung der letztendlichen Darreichungsform verwendet.

„Finished product“:

Der Wirkstoff wird formuliert und in verschlossene Endbehältnisse abgefüllt, die das Produkt in seiner letztendlichen Darreichungsform, d.h. das Endprodukt, enthalten.

Anwendbarkeit der GMP-Regeln:

PharmBetrV § 1 Abs. 1 und 3 (12. AMG-Novelle)

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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00)

Anmerkung:

Bis diese Vorschrift in Kraft tritt, ist die Forderung der GMP-gerechten Herstellung von Wirkstoffen und damit die Anwendung dieses Leitfadens in der EU nicht rechtsverbindlich. Wenn allerdings Gründe für Bedenken vorliegen oder wenn durch bestimmte Mitgliedstaaten gefordert, können GMP-Inspektionen von Herstellern von Wirkstoffen durch die zuständigen Behörden der Mitgliedstaaten durchgeführt werden. Für diese Fälle und insbesondere wenn diese Inspektionen im Rahmen eines Verfahrens für eine zentralisierte Zulassung erfolgen, ist man übereingekommen, dass die Inspektoren der zuständigen Behörden in der EU bei der Inspektion die Anforderungen dieses Leitfadens zugrunde legen.

Anwendbarkeit:

In verschiedenen Ländern können sich Materialien hinsichtlich ihrer rechtlichen Einstufung als Wirkstoff unterscheiden. Wenn ein Material in der Region oder dem Land, in dem es hergestellt oder für ein Arzneimittel verwendet wird, als Wirkstoff klassifiziert ist, sollte es gemäß dem vorliegenden Leitfaden hergestellt werden.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 19.11

Die Kontrolle von für klinische Prüfungen hergestellten Wirkstoffen sollte mit dem Entwicklungsstadium des Arzneimittels, dessen Bestandteil der Wirkstoff ist, kon-

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 7 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

gruent 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.

Zellbänke:

Eine Herstellungserlaubnis und GMP-Bedingungen für die Herstellung von Zellbänken 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.

Zellbänke sollen beim Eingang in den Herstellungsbetrieb einer Freigabeprüfung entsprechend einer festgelegten Spezifikation unterzogen werden, die mindestens die Identitätsprüfung umfassen muss. Ferner muss aufgrund weiterer Prüfungen, Zertifikate oder entsprechender Dokumentationen gewährleistet sein, dass die Zellbank für den vorgesehenen Zweck geeignet ist und kein Sicherheitsrisiko darstellt.

Ausgangsstoffe:

Ausgangsstoffe, 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 ist 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, dem EG-GMP-Leitfaden einschließlich der ICH-Leitlinie Q7A bzw. aus dem entsprechenden Entwurf für einen Annex 18 zum 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-

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 8 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Leitfaden einschließlich Annices. Da die bio-/gentechnologisch hergestellten Arzneimittel 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 ist ebenfalls erlaubnispflichtig gemäß § 13 Abs. 1 AMG und unterliegt den entsprechenden GMP-Regeln.

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

- 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 vorhanden sein.
- Die ggf. erforderliche aseptische Abfüllung muss validiert sein.
- Anstelle der Reinigungsvalidierung kann eine Reinigungsverifizierung treten.
- Bezüglich der Virussicherheit bei Phase-I/II-Präparaten sind eine azentrische Virus-
testung (Zelllinien, Ausgangsstoffe, Ernte), eine Prüfung auf endogene Retroviren
und eine qualifizierte Abreicherung zu fordern, für Phase-III-Präparate ist bereits eine
Virusvalidierung erforderlich.
- Die Validierung der zum Einsatz kommenden Prüfmethode für die Freigabe der Arznei-
mittel für die klinische Prüfung muss abgeschlossen sein. Für die Prüfung von
Wirkstoffen für die klinische Prüfung sind Prüfmethode nach dem Stand von Wis-
senschaft und Technik erforderlich, eine volle Validierung wird nicht erwartet.
- Vom Stand von Wissenschaft und Technik werden im übrigen keine Abstriche ge-
macht.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 9 von 59
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 Ausbildung 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 Wechsels 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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 10 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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 (siehe GenTSV § 12 Abs. 5 und 8, Anhang VI, BioStoffV § 14, Anhang IV, Merkblätter der BG Chemie „Sichere Biotechnologie“, Unfallverhütungsvorschriften der BG (BGV A 4 „Arbeitsmedizinische Vorsorge“, BGV C 8 „Gesundheitsdienst“ sowie Berufsgenossenschaftliche Grundsätze für arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen (G 42 Infektionskrankheiten, G 43 Biotechnologie)
 - Erstuntersuchung vor erstem Arbeitsantritt und Nachuntersuchungen in regelmäßigen Abständen (alle 12 Monate bei häufigem Kontakt mit gefährdendem 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
- Einschränkung der Berechtigung zum Zutritt in andere Produktionsbereiche für Personal, das mit humanpathogenen Viren, sporenbildenden Mikroorganismen oder in Tierställen arbeitet
- Kleidung und Umkleiprozedere einschließlich Dekontaminationsmaßnahmen
- Arbeitsweise des Personals und Kontrolle
 - 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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 11 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

dung einer Kreuzkontamination erforderlich ist, wird durch die Beschaffenheit des Produkts und durch die verwendete Ausrüstung bestimmt.

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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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
- Getrennte Herstellungsräume für Zellbanketablierung, Vorkultur, Fermentation, Aufreinigung und Abfüllung
- Filtration der Zu- und Abluft im Herstellungsbereich (prozessabhängig, siehe unten)
- Separate Belüftungsanlagen für bestimmte Herstellungsbereiche: Normalerweise separate Belüftungssysteme für Fermentation und Aufreinigung, getrennte Belüftungssysteme für Produktionsschritte vor und nach der Virusbeseitigung/-inaktivierung
- Getrennte Belüftung für Kontrolllaboratorien, in denen mikrobiologisch gearbeitet wird
- Sinnvolle Platzierung von Zuluft- und Abluftöffnungen
- Kontrollierte Umgebungsbedingungen (siehe unten)

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 12 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Kampagnenbetrieb: für bestimmte sporenbildende Mikroorganismen möglich, wenn Räume und Einrichtungen ausschließlich für eine bestimmte Produktgruppe verwendet werden und nur ein Produkt zur selben Zeit hergestellt wird
- Geschlossene oder abgegrenzte Systeme: insbesondere für Multifunktionsbereiche erforderlich
- Ausrüstung, die ausschließlich einem Produkt gewidmet ist
- Reinigung und Dekontamination von Rohrleitungen, Armaturen, Belüftungsfiltren
- Reinigungsvalidierung
- Dekontamination von Ableitungen

Für die Herstellung von Wirkstoffen zur Herstellung steriler Arzneimittel sind normalerweise folgende Anforderungen an die Reinraum-Klassen im Produktionsbereich zu stellen:

Zellbanketablierung:

Klasse C; Sicherheitswerkbank der Klasse A für offene Produktionsschritte

Probenahme, Dispensierung, Medien, Puffer:

Klasse D für geschlossene Systeme, für offene Produktionsschritte Klasse C

Vorkultur:

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

Fermentation:

Klasse D für geschlossene Systeme, für offene Schritte Klasse C

Ernte, Aufreinigung:

Klasse D für geschlossene Systeme, für offene Schritte Klasse C

Abfüllung Wirkstoff:

Klasse A in Klasse B (für sterile Wirkstoffe) oder C (für nichtsterile Wirkstoffe)

Anmerkung:

Für bestimmte Produkte/Prozesse können auch andere Reinheitsklassen erforderlich sein. Für die Abfüllung von sterilen Arzneimitteln gelten die Anforderungen des Annex 1 des EG-GMP-Leitfadens, wonach die aseptische Abfüllung in Klasse A mit Hintergrund Klasse B zu erfolgen hat.

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 Betriebs- und im Ruhezustand)
- Mikrobiologisches Monitoring (Luft, Oberflächen, Personal)
- Warn- und Aktionsgrenzen
- Maßnahmen bei Überschreitungen

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 13 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Geschlossene Systeme
 - zur Vermeidung einer Freisetzung oder Kontamination insbesondere für Multifunktionsbereiche zur Vermeidung von Infektionen erforderlich
 - hydrophobe, sterilisierbare Belüftungsfilter (Tiefen- oder Siebfilter) mit validierter Lebensdauer
 - Dichtigkeit (Flansche, Schweißnähte, Verschraubungen, Dichtungen)
 - Geschlossene, CIP/SIP-fähige Leitungen und Ventile (Membranventile oder Schlauchventile)
 - Sterilisierbare Gleitringdichtungen oder Magnetkupplungen zur Durchführung von Rührerwellen
 - 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

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 14 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 5.21 – 5.26

Siehe Kapitel Reinigung der Ausrüstung

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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
 - Überprüfung der Sauberkeit der Ausrüstung unmittelbar vor Benutzung
 - Einhaltung der maximalen Standzeit
- Reinigung bei kontinuierlicher oder Kampagnenproduktion
- Begründete Wahl der Reinigungsprozeduren und Akzeptanzkriterien für Rückstände
- Reinigung, Sanitisierung und Lagerung unter Vermeidung von Kontamination
- Aufzeichnungen über die Benutzung, Reinigung, Sanitisierung oder Sterilisation
- Erkennbarer Reinigungsstatus
- Abfallentsorgung unter Vermeidung von Kontamination

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 15 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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/sanitisierte 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 kristallinen Substanzen
- Kein „Test until clean“
- Verwendung genügend empfindlicher Analysemethoden (Detektionslimit < Rückstandslimit)
- Ermittlung der Wiederfindungsrate

4 Dokumentation

Siehe Aide mémoire „Überwachung von Arzneimittelherstellern“

5 Produktion

5.1 Zellbänke

Vorbemerkung:

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 16 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Ausgangsmaterial sind Zellbänke, 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 Zellbänke werden cryokonserviert und in den meisten Fällen in flüssigem Stickstoff (Gasphase) gelagert.

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

Die Herstellung beruht auf einem validierten Saatgutsystem, bei dem eine Wirt-Vektor-Kombination verwendet wird, die sich als geeignet erwiesen hat und von der zuständigen Behörde genehmigt worden ist. Das Saatgutsystem 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 Zellbänke 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 Zellbänke 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 Zellbänke unter den Bedingungen der Lagerung und der Wiedergewinnung vollständig dokumentiert werden. Neue Zellbänke müssen vollständig validiert werden.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 17 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Ph.Eur. Monographie Fermentationsprodukte (1468)

Die Master-Zellbank ist eine homogene Suspension oder ein homogenes Lyophilisat der originären Zellen verteilt auf einzelne Lagerbehältnisse. Die Viabilität und Produktivität der Zellen unter ausgewählten Lagerbedingungen und ihre Eignung für die Initiierung eines zufriedenstellenden Produktionsprozesses nach Lagerung müssen gezeigt werden.

Die Propagierung der MCB kann mittels Saatgutssystem stattfinden, das eine WCB verwendet.

Die Arbeitszellbank ist eine homogene Suspension oder ein homogenes Lyophilisat von Zellmaterial, das von der MCB stammt und auf Lagerbehältnisse gleichen Volumens verteilt ist (z.B. in flüssigem Stickstoff).

Die Produktion kann chargenweise oder kontinuierlich stattfinden und wird unter festgelegten Bedingungen beendet.

Alle Behältnisse einer Zellbank werden unter gleichen Bedingungen gelagert. Einzelne Ampullen oder Vials, die aus dem Lagerbereich entnommen werden, dürfen nicht in die Zellbank zurückgeführt werden.

Die Zellbank kann zur Herstellung auf endlichem Passageniveau oder zur kontinuierlichen Herstellung eingesetzt werden.

Wird die Master-Zellbank ersetzt, müssen die kritischen Schritte des Herstellungsverfahrens erneut validiert werden, um zu zeigen, dass die Qualität und Sicherheit des Produkts nicht beeinträchtigt werden. Besonders zu beachten sind Änderungen im Verunreinigungsprofil, wenn im Verfahren ein modifizierter oder neuer Mikroorganismus für die Herstellung verwendet wird.

Annex 2 EG-GMP-Leitfaden Ziff. 30

Die Saatkulturen und Zellbänke 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.

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 18 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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. Entnahme und Verbleib müssen dokumentiert sein. Die Möglichkeit zur Rückverfolgung vom Fertig-arzneimittel zur individuellen Ampulle der Zellbank muss gewährleistet sein.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 18.20

Der Zugriff auf Zellbanken sollte auf befugtes Personal begrenzt werden.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 18.21

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

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 18.22

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

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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 Reinraumbedingungen 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*

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 19 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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

Der Hersteller soll das Zellbanksystem , die Größe der Zellbank, die Behältnisse und das Verschlussystem, 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. Phagen-Typisierung 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:

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 20 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Ferner ist zu zeigen, dass das Zellsubstrat während der Kryokonservierung und nach dem Auftauen stabil ist.

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 GMP-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 – 158 ° C in der Gasphase
- Füllstandsanzeige und Alarmsystem zur Vermeidung von Kühlmittelverlust und Temperaturanstieg
- Verschiedene Lagertanks für gesperrte, in Quarantäne befindliche und freigegebene Zellbänke
- Beschränkung der Zugangsberechtigung auf befugte und benannte Personen
- Nachvollziehbare Dokumentation der Einlagerung, Umlagerung, Bilanzierung der Entnahme und des Verbleibs, ausführliche Inventarisierung
- 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)

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 21 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Stabile und reproduzierbare Produktion des gewünschten Proteins
- Abwesenheit mikrobieller Kontaminationen wie Bakterien, Pilze, Mycoplasma
- Virussicherheit, Nachweis der Abwesenheit von Viren, Eignung der eingesetzten Ausgangsstoffe
- Dokumentation der nicht den Spezifikationen entsprechenden Zellbänke, Untersuchung der Abweichung und Ursachenabklärung
- Periodische Überprüfung der Zellbänke
- Rückstellmuster
- 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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, 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 22 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

*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 ein, insbesondere frei von Pestviren und Parvoviren.

Ph.Eur. Monographie: Impfstoffe für Menschen (153)

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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 23 von 59
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 Diarrhoea, 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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 24 von 59
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.

EMEA/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.

EMEA/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.*

EMEA/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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 25 von 59
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 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 parenterales Arzneimittel vorgesehen: mindestens Trinkwasser*
- *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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 26 von 59
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
 - 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 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
 - Risikobewertung (Art und Herkunft des Gewebes, Art der Gewebesammlung, Gefahr der Kreuzkontamination, Menge des verwendeten Materials, Herstellungs- und Inaktivierungsverfahren)

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 27 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- 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.

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 28 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) Ziff. 18.34

Zellkulturausrüstung sollte nach ihrer Verwendung gereinigt und sterilisiert werden.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) Ziff. 18.37

Es sollten Aufzeichnungen über Kontaminationsvorfälle geführt werden.

ICH Q7A (CPMP7ICH/4106/00) 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 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 29 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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
- Kampagnenproduktion
- Dokumentiertes Changeover
- Reinigung und Desinfektion des Raums nach jeder Kultivierungskampagne
- Logbücher für Räume und Inkubatoren
- Kennzeichnung von Räumen und Ausrüstung
- Einhaltung der Prozessparameter der Zulassungsunterlagen (sofern vorhanden)

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 30 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- 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)
- Sterilisation von Fermentern, Leitungen, Probenahmesystemen (CIP)
- Druckhaltetest von Bioreaktoren
- Medienläufe
- Inaktivierungsschritte (nach Inokulation, Probenahme, Materialzugabe)
- Häufigkeit der Verwendung von Filtern (Validierung)
- 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 Abfall-/Nebenprodukten, Konzentration essentieller Nährsubstrate

Herstellung in endlichen Passagen

- Festlegung der maximalen Zahl der Zellverdopplungen
- Konsistenz der Fermentation
- Konstanz der Ausbeute
- Monitoring des Wirt/Vektor-Systems

Kontinuierliche Herstellung

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 31 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Validierung von Computerprogrammen zur Kontrolle, Dokumentation und Analyse von Fermentationsprozessen

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

Changeover Procedures

- TOC- und Leitfähigkeitsmessungen
- Personaltraining
- Dokumentenaustausch
- Wechsel von produktspezifischen Filtern
- Abschlussprüfung durch Supervisor

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, Ionen-Austauschchromatographie (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 Ausrüstung in unterschiedlichen Produktionsstufen sollte vermieden werden. Für die Säulen sollten die Anforderungen und die Lebensdauer festgelegt werden.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 32 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 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 gleichbleibender Qualität gewonnen wird.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 Ziff. 18.43

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

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00 Ziff. 18.53

Schritte zur Virusbeseitigung und –inaktivierung:

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.

Ph.Eur. Monographie Fermentationsprodukte (1468)

Aufarbeitung:

Am Ende der Fermentation wird der produzierende Mikroorganismus inaktiviert oder entfernt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt so, dass Überreste des Kulturmediums auf eine annehmbare Konzentration vermindert werden und somit sichergestellt ist, dass das gewünschte Produkt in gleich bleibender Qualität gewonnen wird.

Für die angewendeten Reinigungsverfahren, wie zum Beispiel Aktivkohlebehandlung, Ultrafiltration oder Lösungsmittelextraktion muss gezeigt werden, dass

- Überreste von Mikroorganismen, die zur Herstellung verwendet werden*
- Kulturmedien, Substrate und Vorläufersubstanzen,*
- unerwünschte Umwandlungsprodukte von Substraten und Vorläufersubstanzen*

weitgehend oder vollständig entfernt werden. Falls erforderlich werden geeignete Prüfungen als In-Prozess-Kontrollen oder am isolierten Fermentationsprodukt durchgeführt.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 33 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Kontrolle bei Verfahrensänderungen:

Wenn der Produktionsprozess verändert wird, sodass eine signifikante Änderung im Verunreinigungsprofil des Produkts auftritt, sind die kritischen Prozessschritte zu revalidieren.

Wenn eine signifikante Änderung des produzierenden Mikroorganismus stattgefunden hat, die eine Änderung des Verunreinigungsprofils verursacht, sind die kritischen Prozessschritte, insbesondere die Verfahren der Aufreinigung und Isolierung zu revalidieren.

Die Revalidierung muss zeigen, dass neue Verunreinigungen im Produkt, als Ergebnis einer Änderung, durch die Prüfverfahren adäquat kontrolliert werden.

Wenn erforderlich, sind zusätzliche oder alternative Tests mit geeigneten Limits einzusetzen. Wenn die Änderung zu einer Erhöhung des Verunreinigungslevels führt, ist zu begründen, dass dies akzeptabel ist.

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

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 Affinitätschromatographie, 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 34 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Inspektionsinhalte:

Vermeidung von Kontamination und Kreuzkontamination

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

Validierung

- Validierung der Leistungsfähigkeit jedes Extraktions- und Reinigungsschritts
- Festlegung des Reduktionsfaktors u.a. für Viren, Wirtszell-DNA und Wirtszell-Protein für jede Stufe des Reinigungsverfahrens
- Change Control Verfahren für Equipment und Prozess
- Revalidierung bei signifikanter Änderung des Verunreinigungsprofils
- Bewertung von Fehlern und Abweichungen
- Computersysteme

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 35 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Reprocessing-Verfahren

- Soll in der Regel nur einen Reinigungsschritt umfassen
- Festgelegte validierte Bedingungen
- Kein Reworking

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 der 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 des Produkts hinsichtlich der Abwesenheit von infektiösen Viren bei festgelegten Stufen des Herstellungsprozesses

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) Ziff. 18.51

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

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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 an-

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 36 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

deren Verarbeitungsaktivitäten getrennt sind und eigene Belüftungseinheiten haben, vorgenommen werden.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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. 2

Die Virusinaktivierung/-entfernung muss für klinische Prüfpräparate genauso gründlich durchgeführt werden wie für zugelassene Produkte.

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.

- Infektiositätstest (Co-Kultivierung, S+L- Infektivity Assay)
- Elektronenmikroskopische Untersuchungen
- 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 37 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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).

CPMP/ICH/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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 38 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

CPMP/ICH/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 eingeschleppten Viren („Adventitious Virus“), sowie endogener Viren (z.B. Retroviren)
- Ausreichende Tests am nicht-prozessierten Bulk auf „adventitious“ Viren
- Kontrolle aller Rohmaterialien humanen und tierischen Ursprungs hinsichtlich ihrer Herkunft/ ausreichender Virustestung,/ Inaktivierung, eventuell gamma-Bestrahlung
- Nachweis des virusinaktivierenden/ -abreichernden Potentials des Reinigungsprozesses in „down-scale“- Validierungsstudien basierend auf verschiedenen Prinzipien, so dass eine maximale Virusentfernung erreicht wird
- Widerspiegelung des Produktionsprozesses durch das „Down-scale“-Modell
- strikte Trennung des Materials/Wirkstoffs/Intermediats, das einen virusinaktivierend/ -abreichernden Schritt durchlaufen hat, von vorhergehenden Stufen
- Konzeption der entsprechenden „Reinigungsstraße“
- Nachweis, dass Reinigungs- und Regenerierungsverfahren für die Chromatographiesäulen und sonstige produktberührenden Materialien Viren inaktivieren und entfernen
- Durchführung der Tests zur Virussicherheit vor Beginn der klinischen Prüfungen
- Hinreichende Untersuchungen zur Ursachenklärung und geeignete Maßnahmen bei auftretender 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).

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 39 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

(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..

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 40 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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
- Handhabung sauerstoffempfindlicher Produkte (ggf. Abfüllung unter Inertgas)
- Vermeidung von Unter- und Überfüllungen bei lyophilisierten Produkten

Änderungskontrolle

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

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 41 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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 bestimmten Prüfmethoden gebunden.

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

Die Auswahl der Prüfmethoden 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
- Festlegung von Spezifikationsgrenzen anhand der Produktionshistorie und der Validierungsdaten

Spezifikationen für klinische Prüfpräparate

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 42 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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.

ICH Q7A (CPMP/ICH/4106/00) 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)

Das fertige Bulkprodukt wird zunächst durch ein breites Spektrum chemischer, physikalischer, immunochemischer 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 43 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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

Inspektionsinhalte:

Prüfmethoden

- Validierung gemäß ICH-Guideline (für zugelassene Arzneimittel und klinische Prüfpräparate der Phase 2 und 3; in Phase 1 keine volle Validierung erforderlich, mindestes aber Selektivität, Linearität, Bestimmungsgrenze, Arbeitsbereich).
- Siehe Aide mémoire „Inspektion der Qualifizierung 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

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 Qualitätskontrolle
- Festlegung von Akzeptanzkriterien und Aktionsgrenzen
- Genehmigung sämtlicher In-Prozess-Kontrollen durch die Qualitätskontrolle
- Rückstellmuster von Zwischenprodukten für Wiederholungs- und Bestätigungskontrollen

Freigabeprüfung

- Freigabe- und Laufzeitspezifikation
- Prüfung zugelassener Produkte gemäß Zulassungsunterlagen
- Prüfung klinischer Prüfpräparate gemäß vorläufig festgelegter Spezifikation
- Die Prüfung sollte mindestens umfassen:
 - Identität
 - Reinheit /Quantifizierung
 - Gehalt

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 44 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Biologische Aktivität
- Struktur (Peptide Maps, Teil-Sequenzierung)
- Strukturvarianten
- Bei Glycoproteinen: Glykosilierung
- Verunreinigungen (DNA, HCP, Endotoxin, etc.)
- Aussehen, pH-Wert, etc.
- Bei nichtsterilen Wirkstoffen und Arzneimitteln; Keimzahl
- Bei sterilen Wirkstoffen und Arzneimitteln: Sterilität
- Statistik von Analysendaten

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:

Parameter zur Identitätsprüfung von Proteinen

- Molekulargewicht
- Aminosäure-Analyse (Aminosäurezusammensetzung)
- N- und C-terminale Aminosäuresequenz
- Elektrophoresemuster
- Peptidkartierung
- Disulfidbrücken
- Glykosilierungsmuster
- 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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 45 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Elektrophoretische Eigenschaften
 - Gelelektrophorese/SDS PAGE
 - Kapillarelektrophorese
 - Isoelektrische Fokussierung
 - Western Blot
- Chromatographische Eigenschaften
 - Ausschlusschromatographie
 - Affinitätschromatographie
 - HPLC (reversed phase)
 - Ionenaustauschchromatographie
- Spektroskopisches Profil
 - UV-Vis-Spektroskopie (Ph.Eur.)
 - Kernresonanzspektroskopie (Ph.Eur.)
 - Circular dichroismus (Ph.Eur.)
- Glykosylierung
 - Kohlenhydratstruktur
 - Glycanprofil
 - Sialinsäuregehalt
 - Moosaccharide
 - 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, Avidität (Glossar: Avidität = Bindungsstärke eines Antikörpers zu seinem Antigen) und Immunoreaktivität einschließlich Kreuzreaktivität
- Biochemische Definition des Zielmoleküls
- 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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 46 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- 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

- 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:

Testmethoden für Proteine

- HPLC (High performance liquid chromatography, Hochdruckflüssigchromatographie)
- Immunoassay
- ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)
- Westernblot
- Elektrophoretische Methoden
- Peptidmapping

Testmethoden für Nukleinsäuren

- DNA-Hybridisierung
- Sequenzunabhängige Techniken (z.B. Threshold-Assay)
- PCR (polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion, 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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 47 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

Testmethoden für Viren

- Prüfung auf Retroviren
 - (z.B. PERT/RT-Assay: Test auf Retroviren durch Nachweis des Enzyms reverse Transkriptase
 - EM: 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

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:

- *genügend physikochemische Informationen vorliegen und*

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 48 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- eine gut erstellte und nachvollziehbare Produktionshistorie existiert (Änderung der Zulassung).

Inspektionsinhalte:

- Prüfmethoden zur Bestimmung der biologischen Aktivität und 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
- Monitoringprogramm
- fortlaufendes Stabilitätsprogramm, Abgleich mit den Zulassungsunterlagen
- Qualifizierung und Kontrolle der Lagerungsbedingungen
- Stabilitätsprofile
- Validierte Stabilitätsstudien

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 49 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- Berücksichtigung von Worst Case Situationen
- Änderungen von Stabilitätsstudien
- Lagerung von Zwischenprodukten
 - festgelegte Lagerbedingungen
 - begründete Testmethoden
 - Lagerbehältnisse

6.8 Spezielle Prüfmethoden

Affinitätschromatographie - Eine chromatographische Trennmethode, die auf einer chemischen Interaktion beruht, die für die Zielspezies spezifisch ist. Typen von Affinitätsmethoden sind: Biosorption – Erkennung einer bestimmten Stelle (z.B. monoklonale Antikörper, Protein A); hydrophobe Interaktionen - Kontakte zwischen nicht-polaren Regionen in wässrigen Lösungen; Farbstoffliganden - spezifische Bindung von Makromolekülen an Triazin- und Triphenylmethan-Farbstoffe; Metallchelate – matrixgebundene Chelatkomplexe mit Zielmolekül durch Austausch niedrig-molekularer Metallliganden; kovalente Disulfidbindung, die unter milden Bedingungen reversibel ist.

Aminosäureanalyse – 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. Die vollständige Aminosäurezusammensetzung eines Peptids oder Proteins sollte genaue Werte für Methionin, Cystein und Tryptophan einschließen. Die präsentierte Aminosäurezusammensetzung sollte der Durchschnittswert von mindestens drei verschiedenen Hydrolysaten jeder Chargennummer sein. Vollständige Werte für solche Aminosäurerückstände, die generell in niedrigen Mengen gefunden werden, wie Tryptophan und/oder Methionin, könnten verwendet werden, um die Argumentation bezüglich der Reinheit zu unterstützen.

Aminosäuresequenzierung – Es handelt sich um eine partielle Sequenzierung (8-15 Teile) 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- oder RNA-Segmenten nach reverser Transkription erlaubt. Die DNA-Amplifikation erfolgt in mehreren Zyklen: Hitzedenaturierung, spezifische Bindung der Primer, Verlängerung der Primer. Nukleinsäure kann nach 20 - 30 Zyklen eine Million mal amplifiziert werden.

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.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 50 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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 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 Pfeilschwanzkrebsses (*Limulus polyphemus*) zu verursachen. Der LAL-Test ist einfacher, schneller, billiger und wesentlich empfindlicher als der Kaninchen-Test, jedoch kann er nur Endotoxine erfassen und nicht alle Typen von Pyrogenen. Daher muss er gründlich validiert werden, bevor er als Ersatz für den Kaninchen-Pyrogen-Test verwendet wird. Varianten des LAL-Tests schließen einen Gelgerinnungstest, einen kolorimetrischen Test, einen chromogenen Test und einen turbidimetrischen Test ein.

Das Verfahren und die in der Methode verwendeten Materialien und Reagenzien sind zu validieren. Das Vorhandensein von Störfaktoren (und falls erforderlich deren Beseitigung) soll an Proben von mindestens 3 Herstellungschargen geprüft werden.

Carbohydratanalyse – Sie wird verwendet um die Konsistenz der Zusammensetzung kovalent gebundener Monosaccharide in Glycoproteinen zu bestimmen. Im Gegensatz zur Polypeptidkette des Glykoproteins, wo die Produktion durch den genetischen Code kontrolliert wird, werden die Oligosaccharide von Enzymen synthetisiert. Mikroheterogenität der Carbohydratketten ist üblich. Die Bestimmung kann bei underivatisierten Zuckern nach Hydrolyse und HPLC-Trennung mit amperometrischer Detektion oder durch Gaschromatographie nach Derivatisierung erfolgen.

DNA-Hybridisierung – Detektion von DNA im Nanogrammbereich durch Hybridisierung zellulärer DNA mit spezifischen DNA-Proben. Dies kann durch ³²P-Markierung, Chemolumineszenz und chromogene oder Avidin-Biotin-Assays gezeigt werden. Zu DNA-Sonden, Kalibrierung und Standardisierung, Bedingungen der Hybridisierung sowie zu den sequenzunabhängigen Techniken siehe Ph.Eur. Monographie „DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte“).

Elektrophorese/Ph.Eur. 2.2.31 - Es handelt sich um Methoden, mit denen Moleküle oder molekulare Komplexe auf der Basis ihrer relativen Fähigkeit getrennt werden, in einem elektrischen Feld zu wandern. Eine Probe wird in die entsprechende Ausrüstung verbracht, dann nach Ladung (isoelektrische Fokussierung) oder Molekulargewicht (SDS-PAGE) getrennt. Die Visualisierung wird z. B. durch Anfärben mit Coomassie Blau, Fluoreszenzfarbstoffen oder Silberfärbung bewirkt. Die Anfärbemethode mit Coomassie Blau ist eine quantitative Technik, wenn ein Laser-Densitometer 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.

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 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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 51 von 59
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 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.

Immunchemische Methoden (Ph.Eur. 2.7.1) - Immunchemische Methoden beruhen auf der selektiven, reversiblen und nichtkovalenten Bindung von Antigenen mit Antikörpern. Sie wer-

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 52 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

den 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 (einzeln) – Eine identische Diffusionsmethode, wobei das Produkt (Antigen) in ein Röhrchen verbracht wird, das in ein Medium wie Agar gesteckt wird, das seinen komplementären Antikörper enthält. Das Produkt diffundiert in das Medium und bildet ein ringförmiges Präzipitat, dessen Dichte von der Antigenkonzentration abhängt.

Immundiffusion (doppelt, Ouchterlony-Technik) – Eine Technik, bei der ein Antigen und Antikörper in zwei benachbarte Röhrchen verbracht wird, die in ein Medium wie Agar gesteckt werden. Bei der Diffusion durch das Medium bilden sie sichtbare Präzipitats-Linien der Antigen/Antikörper-Komplexe an dem Punkt, wo die entsprechenden Konzentrationen für die Komplexbildung 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 – Eine elektroforetische Methode, die Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt trennt. Sie bewegen sich durch ein Medium mit pH-Gradient in einem elektrischen Feld, bis sie sich an ihrem isoelektrischen Punkt befinden, wo sie keine Ladung tragen. Vor dem Erreichen des isoelektrischen Punkts hängt die Beweglichkeit des Proteins von der Größe, der Konformation, den Stufen des pH-Gradienten und dem Spannungsgradienten ab. Diese Methode kann zur Identifizierung und zur Grenzprüfung (inkorrekte oder alterierte Formen eines Proteins als auch einer Proteinverunreinigung) eingesetzt werden.

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 IEF-Proteinen 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 häufig als

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 53 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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: Die Moleküle wandern unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes, solange sie geladen sind und in einem pH-Gradienten, der durch in dem Trennpuffer gelöste Ampholyte mit einem pI-Wert in einem weiten Bereich gebildet wird. Die drei wesentlichen Schritte sind: Beladen, Fokussierung, Mobilisation.

Leukoseviren/Ph.Eur. 2.6.4 – Verimpfung des Impfstoffs auf Hühnerembryo-Fibroblastenkulturen, die nachweislich die Vermehrung von Leukoseviren ermöglichen. Nach 9-tägiger 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.

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

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 54 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

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 zu einer komplementären DNA hybridisiert werden können.

Peptidkartierung/peptide mapping – 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 durch eine Reihe von Prüfungen erfolgen. Keine Methode ist besser als die anderen; jede hat ihre Vor- und Nachteile, angefangen von der für den Test erforderlichen Proteinmenge bis zum Problem mit der Unterschiedlichkeit von Proteinen. Manche Typen verwenden Lowry, Bicinchonsäure (BCA), Bradford, Biuret, Kjeldahl und UV.

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. Die Bedingungen für Wiederholungsprüfungen 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. Der markierte, an den Antikörper gebundene Komplex ist umgekehrt proportional zur Konzentration des 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 Technik ist nicht verlässlich für Molekulargewichte unter 8000.
Die Proteine werden durch Coomassie Blau oder Silber angefärbt oder können auf Membranen zur spezifischen Antigen/Antikörper-Prüfung weitertransferiert werden.

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 55 von 59
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 das geprüfte Material den Anforderungen des Arzneibuchs entspricht.

Umkehrphasenchromatographie/reversed phase chromatography – Eine chromatographische Trennmethode, die auf einer stationären Säulenphase mit unpolare hydrophober Oberfläche beruht. Die Retention 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, indem deren unterschiedliche Absorptionsspektren entsprechend der Anwesenheit von Seitenkettenchromophoren (Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin) genützt wird. Da diese Absorption linear ist, können hochgereinigte Proteine durch ihren molaren Extinktionskoeffizienten quantifiziert werden. Die Methode ist nicht sehr selektiv, da Verunreinigungen häufig ebenfalls im UV-Bereich absorbieren.

Western Blot – Dieser Test wird eingesetzt, um kontaminierende Zellsubstrate zu detektieren und rekombinante Polypeptide zu bewerten. Nach elektrophoretischer Trennung werden die negativ geladenen Proteine (die Antigene) elektrophoretisch von Polyacrylamidgel auf eine Nitrocellulosemembran transferiert, die auf der Anoden-Seite des Gels positioniert ist. Durch anschließende Inkubation der Membrane mit einem spezifischen Antikörper werden sie mit einem anderen Antikörper für die Detektion markiert.

Zirculardichroismus/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 -gefaltetes Blatt, 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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 56 von 59
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
Annex 2: Herstellung biologischer pharmazeutischer Produkte zur Anwendung beim Menschen
Entwurf Annex 18: Gute Herstellungspraxis für Wirkstoffe
- 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 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 57 von 59
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/ICH/4106/00 = ICH Q7A = Entwurf Annex 18 EG-GMP-Leitfaden
Note for Guidance on Good Manufacturing Practice for Active Pharmaceutical Ingredients (released for consultation Jul. 2000)
- 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)

Aide mémoire 071210BN	Aide mémoire Bio- und Gentechnologie	Seite 58 von 59
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz bei Arzneimitteln und Medizinprodukten		

- 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)
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	8, 11, 12, 38, 39, 40	LAL-Test.....	46, 50
Affinitätschromatographie	31, 45, 49	Leukoseviren	47, 53
Akzeptanzkriterien ..8, 11, 14, 15, 23, 29, 30, 41, 42, 43		Massenspektrometrie	44, 53
Aminosäureanalyse	49	Master-Zellbank.....	16, 17
Aminosäuresequenzierung	49	Medien 12, 19, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 40, 42, 54	
Amplifikation von Nukleinsäuren.....	46, 49	Mikrobiologische Prüfung	53
Änderungskontrolle.....	21, 31, 35, 40	Monitoring	12, 23, 29, 30, 42, 43
Anlagen	7, 8, 10, 11, 12, 14, 38, 40	Mycoplasma	21
Anormale Toxizität.....	49	Nährmedien	21, 26, 53, 54
Arbeitszellbank	16, 17	Nukleinsäuren	20, 33, 34, 44, 46
Arzneimittel.....	3, 5, 6, 7, 8, 12, 24, 25, 26, 39, 43	Passage	28
Aufreinigung	11, 12, 20, 25, 31, 33, 37	Peptidkartierung	44, 54
Ausgangsstoffe.....	7, 8, 10, 21, 23, 26, 27, 31, 40, 41	Personal	9, 10, 12, 17, 18, 37
Ausrüstung	10, 11, 12, 13, 14, 15, 25, 27, 28, 29, 31, 32, 35, 36, 38, 40, 50	Personalschulung.....	10
Ausschlusschromatographie.....	44, 45, 50	Pilze	16, 21, 23, 26, 46
Bakterien	15, 16, 18, 21, 23, 26, 39, 46, 50	Proteine.....	3, 26, 33, 45, 46, 50, 52, 53, 54, 55
Bakterien-Endotoxine	50	Proteinquantifizierung.....	54
Belüftungsanlagen.....	11	Prüfmethoden	8, 26, 41, 42, 43, 48, 49
Biologische Aktivität.....	44, 45, 47, 48	Prüfpräparate	36, 41, 43
Carbohydratanalyse	50	Pyrogene	13, 46, 54
Changeover.....	29, 31	Qualifizierung	8, 12, 15, 30, 34, 43, 48
Dedicated Equipment	34	Qualitätskontrolle.....	3, 9, 13, 15, 19, 26, 40, 43, 49
Definitionen	5	Radioimmunoassay	54
DNA-Hybridisierung.....	46, 50	Räume.....	12, 29, 38
Elektrophorese	50, 54	Referenzsubstanzen.....	42, 43, 50
ELISA	45, 46, 50	Reinheit	19, 21, 25, 41, 42, 43, 45, 48, 49, 51
Endotoxine	34, 42, 46, 50	Reinigung ..9, 10, 12, 14, 25, 29, 31, 32, 33, 34, 38, 42, 43	
Ernte.....	6, 8, 12, 13, 30, 31, 32, 42	Reinigungsvalidierung	8, 10, 12, 14, 15, 34
Extraktion	3, 5, 31, 33	Reinraumklassen.....	38
Fermentation5, 6, 11, 12, 21, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 42		Reprocessing	35
Final Bulk	40	Saatgutssystem.....	16, 17
Flüssigchromatographie	51	Säulen	13, 31, 34, 37
Freigabeproofung	7, 39, 41, 43	SDS PAGE	44, 45, 54
Fremde Agenzien	51	Serum.....	22, 23, 57
Fremdviren	47, 51	Southern Blot.....	44, 55
Gehalt.....	41, 43, 47	Spezifikationen	7, 21, 26, 34, 40, 41
Geräte	10, 14	Stabilität	16, 19, 20, 29, 33, 34, 41, 42, 48
Geschlossene Systeme.....	13	Sterilitätsprüfung	55
Gesundheitskontrollen.....	9	Tierställe.....	13
Gesundheitszustand.....	10, 18	TSE-Sicherheit	23, 26
GMP-Regeln.....	5, 6, 7, 8, 55	Tumorigenität	20
HPLC.....	31, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 53, 54	UV-Vis-Spektroskopie	45, 55
Hydrophobe Interaktionschromatographie	31, 51	Vektor.....	16, 20, 29, 30, 33, 45
Identitätsprüfungen.....	19, 44	Verunreinigungen 15, 23, 27, 33, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 50, 54, 55	
Immunchemische Methoden.....	50, 51	Viren.. 10, 16, 17, 19, 21, 22, 23, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 42, 46, 47	
In-Prozess-Kontrollen.....	32, 33, 34, 41, 42, 43, 46	Virusentfernung	35, 38, 41
Ionenaustauschchromatographie	45, 52	Virusinaktivierung	35, 36
Isoelektrische Fokussierung	44, 52, 53	Virussicherheit.....	8, 21, 31, 35, 38
Isolierung.....	22, 31, 33	Virusvalidierungsstudien.....	35, 37
Kapillarelektrophorese.....	44, 45, 52, 53	Vorkultur	11, 12, 29
Kleidung	9, 10	Western Blot.....	45, 55
Kontaminanten	20, 23, 33, 42, 46	Wirkstoff-Bulk.....	38, 39
Kontamination10, 11, 13, 14, 18, 19, 21, 24, 26, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40		Wirkstoffe	3, 5, 6, 7, 8, 12, 21, 26
Kreuzkontamination.....	8, 10, 19, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 34, 38	Wirkstoffe für die klinische Prüfung	8
Kryokonservierung	19, 20	Zellbänke.....	7, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 38
Lagerung	14, 16, 17, 19, 20, 27, 39, 42, 43, 49	Zellkultur.....	6, 22, 27, 31, 45, 51
Lagerungsbedingungen....	18, 20, 21, 34, 38, 39, 41, 48	Zellsubstrat.....	20, 45
		Zirculardichroismus	55

BAYERN I DIREKT Tel.: 0180 1 201010

3,9 ct/min aus dem deutschen Festnetz;
max. 42 ct/min aus dem Mobilfunknetz.