

DOPLNĚK 5 – VÝROBA IMUNOLOGICKÝCH VETERINÁRNÍCH LÉČIV

Zásady

Výroba imunologických veterinárních léčiv má některé specifické rysy, které je třeba mít na paměti při vytváření a posuzování systému jistění jejich jakosti.

Vzhledem k velké rozmanitosti zvířecích druhů a také rozmanitosti patogenních agens, která se u nich mohou uplatňovat, existuje i velmi široká paleta vyráběných léčiv, při čemž objem výroby jednotlivých přípravků bývá malý; běžná je tedy výroba kampaňová. Z povahy výrobních operací (výrobní stupně zahrnující kultivaci, často nemožnost terminální sterilizace, apod.) vyplývá nutnost chránit produkty zvláště pečlivě před kontaminací z vnějšku a před kontaminací vzájemnou (zkříženou). Také výrobní prostředí musí být pečlivě chráněno, zejména pokud se při výrobě používá patogenních nebo exotických biologických agens; ochrana pracovníků musí být zvláště dokonalá tam, kde ve výrobě používaná biologická agens jsou patogenní i pro člověka.

Za těchto okolností, a také vzhledem k variabilitě, jež je imunologickým přípravkům vlastní, a vzhledem k poměrně malé přesvědčivosti kontrolních zkoušek prováděných na konečných produktech, pokud jde o poskytnutí spolehlivé výpovědi o jejich jakosti, stává se úloha systematického jistění jakosti tak důležitou, že ji ani nelze plně docenit. Především je podstatné, aby se pečlivě posoudily všechny poznatky načerpané při monitorování různých aspektů SVP (výrobní zařízení, prostorů, produktů, atd.), aby se z nich vyvodila odpovědná rozhodnutí, a aby se provedla potřebná opatření a pořídily se o tom patřičné záznamy.

Pracovníci

1. Všichni pracovníci, kteří se mají pohybovat v prostorách, kde se vyrábějí imunologické přípravky (včetně těch, kteří zde mají úkol jen úklid a údržbu výrobních prostor nebo provádění kontrol jakosti) musí projít specializovaným školením, a poučením o hygieně a mikrobiologii. Dále se jim má dostat zvláštního zacvičení zaměřeného na výrobky; s kterým budou přicházet do styku.
2. Pracovníci na zodpovědných místech, mají mít přiměřenou kvalifikaci v některém z těchto oborů: bakteriologie, biologie, biometrika, chemie, imunologie, lékařství, parazitologie, farmacie, farmakologie, virologie a veterinární lékařství; mají mít také dostatečné znalosti o opatřeních k ochraně pracovního prostředí.
3. Pracovníci mají být chráněni před možností infekce, způsobené biologickými agens používanými při výrobě. Tam, kde je známo, že tato biologická agens mohou vyvolávat onemocnění i u lidí, je třeba zavést přiměřená opatření, aby se předešlo možnosti, že by pracovníci, přicházející do styku s tímto agens nebo s pokusnými zvířaty byli sami infikováni.
Tam, kde je riziko vážné, mají být pracovníci očkováni příslušnými vakcínami a mají procházet pravidelnými lékařskými prohlídkami.
4. Je třeba zavést patřičná opatření, aby se předešlo možnosti, že by biologická agens byla z výroby zanesena mimo výrobní závod prostřednictvím pracovníků, kteří by se stali jejich nosiči. Podle toho, o jaký druh biologického agens jde, mohou taková opatření zahrnovat povinnost kompletního převléknutí a vysprchování pokaždé, když pracovníci opouštějí výrobní zónu.

5. U imunologických přípravků je zvláště vážné riziko kontaminace a zkřížené kontaminace, zavinění pracovníky.
- Ochrany před **kontaminací** způsobenou pracovníky má být dosaženo zavedením systému příkázaných povinných procedur, jimž se pracovníci musí podrobovat a jimiž se dosáhne toho, aby se při všech jednotlivých fázích výrobního procesu vždy používalo správné ochranné oblečení. Ochrany před zkříženou kontaminací zaviněnou pracovníky se má dosáhnout zavedením opatření a příkázaných postupů zajišťujících, aby pracovníci nepřecházeli z jedné pracovní zóny do jiné, dokud nesplnili předepsané úkony k potlačení rizika kontaminace. Během pracovního dne nemají pracovníci opouštět pracovní zónu, v níž může dojít ke kontaminaci živými mikroorganismy nebo kde se nacházejí laboratorní zvířata, a přecházet do jiných částí závodu, kde se pracuje s jinými produkty nebo organismy.. Pokud je nezbytné, aby se pracovníci přesunovali do jiné pracovní zóny, musí všichni, kdo se na takovémto výrobním procesu účastní, projít přesně předepsanou dekontaminační procedurou, jejíž součástí musí být převlečení a přezutí a tam, kde je to třeba, i vysprchování.
- Pokud pracovníci vstupují do uzavřené pracovní zóny (contained area), v níž se v uplynulých 12 hodinách nepracovalo s živými organismy v otevřeném systému, a jejich úkolem je pouze zkontrolovat růst kultur v uzavřeném povrchově dekontaminovaných skleněných kultivačních nádobách, nepokládá seto za situaci, v níž by byli vystaveni riziku kontaminace, ledaže by šlo o exotický organismus.

Výrobní prostory

6. Výrobní prostory musí být řešeny tak, aby v nich bylo možno udržet v mezích riziko ohrožení jak vyráběného produktu, tak okolního prostředí.
- Tohoto cíle lze dosáhnout tím, že se pracuje v zónách uzavřených proti vnějšku (contained areas), v čistých zónách (clean areas), v zónách, které jsou současně uzavřené proti vnějšku i čisté, případně v zónách „kontrolovaných“ (controlled areas).
7. S živými biologickými agens se má pracovat v zónách uzavřených vůči vnějšku. To, jak dokonale mají být vůči vnějšku odisolovány, závisí na stupni patogenicity používaného mikroorganismu a na tom, je-li či není-li klasifikován jako exotický (platí zde i další legislativní opatření, obsažená např. ve směrnících 90/219/EEC a 90/220/EEC).
8. S inaktivovanými biologickými agens se má pracovat v čistých zónách. V čistých zónách se má pracovat i tam, kde se jedná o neinfikované buňky získané z mnoho buněčných organismů, a v některých případech i tehdy, zachází-li se s živými půdami, jež se dají sterilizovat pouze filtrací.
9. Pracovní postupy, při nichž se produkty nebo jejich složky nedají dodatečně sterilizovat, se mají provádět ve skříňových pracovních pultech (work stations) s laminárním prouděním filtrovaného vzduchu třídy A, nacházejících se uvnitř pracovních prostorů, které splňují požadavky na třídu B.
10. Jiné operace, při nichž se rovněž pracuje s živými biologickými agens (zkoušky jakosti, výzkumné a diagnostické práce) mají podléhat přiměřenému uzavření pracovního místa a jeho odisolování od okolí, pokud práce probíhají v budově, v níž se provádějí i výrobní operace.
- Jak dokonalé má být toto odisolování od okolního prostředí, to závisí na tom, jak dalece patogenní je dané biologické agens a zda má či nemá být pokládáno za exotické. Všechny diagnostické práce jsou provázeny rizikem zanesení vysoce patogenních organismů mimo pracovní místo, a míra hermetičnosti uzavření tohoto místa musí být taková, aby se riziko potlačilo. Odisolování vůči vnějšku může být nutné i při provádění

kontrolních, analytických a podobných prací, pokud se provádějí v těch částech budovy, které blízkou sousedí s prostorami užívanými pro výrobu.

Proti vnějšku uzavřené prostory (contained premises) mají být dobře vydesinfikovatelné a mají splňovat tyto požadavky :

- a) jejich větrací vývody nesmí přímo komunikovat s vnějším ovzduším;
 - b) má v nich být zavedeno takové větrání (ventilace), aby tlak zde panující byl nižší než okolní tlak (negativní tlak). Vzduch odtud odsávaný musí procházet HEPA-filtry a nesmí se už vracet do recirkulace; pokud by měl být ještě používán, je to přípustné jen tehdy, vrací-li se do téže pracovní zóny, když by předtím prošel ještě znovu HEPA-filtrem (obvykle se tato podmínka dá pokládat za splněnou, když se do koloběhu vracený vzduch vede tak, normálně přiváděným skrze HEPA-filtry). Je však přípustné společně recyklovat vzduch z více pracovních zón. Pokud vždy na výstupu z nich prochází dvěma HEPA filtry za sebou, při čemž u prvního z nich je trvale monitorována jeho neporušenost, a existuje dostatečné zajištění bezpečného odvětrání výstupného vzduchu v případě selhání tohoto filtru;
 - c) vzduch z výrobních zón, v nichž se pracuje s exotickými organizmy, by měl být odvětrán dvěma sestavami HEPA- filtrů zapojenými v sérii; vzduch ze zóny, kde výroba právě probíhá, se nemá vracet do koloběhu;
 - d) musí být vytvořen sběrný systém pro všechny tekuté odpady, jako je kontaminovaný kondenzát ze sterilizačního autoklávu, odpad z bioreaktorů atd., umožňující jejich dezinfekci. Pevné odpady, včetně mrtvých zvířat, se musí – podle toho co pro ně přichází v úvahu – desinfikovat, sterilizovat nebo spalovat. Musí být také zavedena spolehlivá metoda likvidace kontaminovaných filtrů;
 - e) musí existovat prostory pro převlékání, fungující jako „ propusti „ (air-locks), podle potřeby vybavené také umyvadly a sprchami. Rozdíl v tlaku vzduchu musí být udržován takový, aby nedocházelo k proudění vzduchu mezi pracovní zónou a okolním prostředím, a aby nevznikalo nebezpečí, že dojde ke kontaminaci vnějšího oblečení, které pracovníci nosí mimo uzavřenou zónu;
 - f) musí existovat systém vzduchových propustí , jimiž má být dovnitř zóny dopravováno vše, co je při výrobě zapotřebí; systém musí být řešen tak, aby nedocházelo k proudění kontaminovaného vzduchu a jeho unikání do okolního ovzduší nebo aby se zařízení, která se právě nachází uvnitř propusti, nemohlo zde kontaminovat. Propusti musí být dostatečně velké k tomu, aby se zde dala účinně provést povrchová dekontaminace všech materiálů, které tudy procházejí. Ponechává se na úvaze, zda by vnitřní i vnější dveře propusti neměly být propojeny společným uzamykacím zařízením ovládaným časovým spínačem, aby se tak dekontaminačnímu procesu poskytl dostatek času k účinnému působení.
 - g) Zpravidla má být ve stěně vestavěn prokládací autokláv, aby se tudy daly ze zóny spolehlivě odstraňovat odpadní materiály, a do zóny naopak dopravovat potřebné materiály ve sterilním stavu.
12. Propusti a převlékací prostory mají mít vzájemně propojené uzamykání vnitřních a vnějších dveří, zabraňující tomu, aby se oboje dveře nedaly otevřít současně. Do převlékacích prostorů má být přiváděn vzduch filtrací upravený tak, aby to odpovídalo třídě, jež má být dodržováno v pracovní zóně, a musí zde být dále odsávání vzduchu, zajišťující dostatečné účinné větrání, nezávisle na cirkulaci vzduchu v pracovní zóně. Propusti pro materiál by správně měly být větrány stejným způsobem. Lze však připustit i propusti bez větrání nebo vybavené pouze přívodem vzduchu.
13. výrobní operace jako udržování tkáňových kultur, příprava živných půd, kultivace virů apod., při nichž hrozí nebezpečí kontaminace, se mají provádět v oddělených

- prostorách. Při manipulaci se zvířaty a produkty z nich je třeba dodržovat potřebná bezpečnostní opatření.
14. Výrobní zóny, v nichž se pracuje s biologickým agens zvláště odolným vůči dezinfekci (např. se sporujícími bakteriemi), by měly zůstat oddělené a vyhrazené svému speciálnímu účelu až do fáze, kdy jsou takovými agens již inaktivovaná.
 15. V téže pracovní zóně se má v dané chvíli pracovat vždy jen s jedním biologickým agens; výjimkou jsou operace, při nichž se různé materiály spolu homogenizují a pak rozplňují.
 16. výrobní zóny mají být řešeny tak, aby se mezi jednotlivými kampaňovými výrobními sériemi daly vydezinfikovat; účinnost používaných dezinfekčních způsobů má být validována.
 17. Je přípustné, aby se biologická agens vyráběla v zónách, kvalifikovaných jako „kontrolované“, a to za předpokladu, že výroba probíhá v zařízení, které je dokonale uzavřené a sterilizované parou, a že všechna propojené se také předem vysterilizují parou, což se opakuje i před rozpojením spojů. Propojování je přípustné provádět pod laminárním prouděním, pokud jde jen o několik málo spojů, pokud se dodržuje aseptická technika, a pokud není nebezpečí, že by spoje netěsnily. Parametry sterilizačního způsobu, používaného před rozpojením spojů, musí být validovány pro ten organismus, se kterým se pracuje. Je přípustné, aby v různých biofaktorech (fermentačních tancích), nacházejících se v téže místnosti, probíhala souběžně kultivace různých produktů, pokud jsou učiněna dostatečná opatření, aby nemohlo dojít k náhodné zkřížené kontaminaci. U organismů, u kterých je obecně nutná taková manipulace, aby bylo vyloučeno jejich uniknutí mimo pracovní místo, je však lépe, zůstane-li pro ně vyhrazena zvláštní zóna.
 18. Místnosti, v nichž se nacházejí zvířata určená pro výrobu nebo už ve výrobním procesu použitá, mají mít zaveden režim takových opatření, který z nich udělá buď prostory vůči vnějšku uzavřené („contained“), čisté prostory („clean“), nebo prostory současně uzavřené a čisté; takové místnosti mají být odděleny od ostatních prostorů pro ustájení zvířat.
Přiměřená izolaci vůči vnějšku má být provedena i u místností, v nichž jsou zvířata sloužící ke kontrole jakosti, pokud se při zkouškách na nich používá patogenních biologických agens.
 19. Vstup do výrobních prostor smí být povolen pouze osobám k tomu určeným. Potřebné návody k procedurám, jež je nutno při vstupu dodržet, myjí zde být ve srozumitelné a stručné formulaci vyvěšeny nebo vylepeny.
 20. Pro výrobní prostory musí existovat dokumentace a plány, které musí být v samostatné složce (pořadači) kdykoliv dostupné.
Celá plocha výrobního závodu a jednotlivých budov zde musí být zobrazena v dostatečně podrobném měřítku (ve formě nákrešů se slovními vysvětlivkami), aby z toho bylo zřejmé, jaké určení mají jednotlivé místnosti, jaké podmínky v nich mají být dodržovány, a jaká biologická agens se kde zpracovávají. Mají být také vyznačeny směry pohybu lidí a materiálu.
U prostorů pro pokusná zvířata nebo na jiných místech závodu, kde jsou zvířata chována, má být vyznačeno, jaký druh zvířat se nachází na kterém místě.
Má být také vyznačeno, jaké činnosti probíhají v bezprostřední blízkosti kolem plochy výrobního závodu.
Na nákresech zón uzavřených vůči vnějšku nebo čistých zón musí být popsán jejich systém vzduchotechniky s vyznačením vstupů a výstupů vzduchu, umístění filtrů, jejich specifikací, průtoků vzduchu vyjádřených počtem obměn vzduchu za hodinu, a

tlakových gradientů mezi prostorami. Má být také uvedeno, které z těchto tlakových gradientů jsou monitorovány vlastními indikátory tlaku.

Vybavení

21. Používaná technická zařízení musí být konstrukčně řešena tak, aby splňovala speciální požadavky, vyskytující se při výrobě jednotlivých produktů.
Dříve než se nějaké zařízení uvede do používání, má se provést ověření, zda je pro daný účel vhodné („kvalifikace“), a validací se má potvrdit jeho správná funkce; v dalším se pak musí provádět pravidelná údržba a pravidelné revalidace.
22. Kde je to žádoucí, má zařízení samo obstarávat postačující primární uzavření (odisolování) biologických agens vůči vnějšku.
Kde je to žádoucí, má konstrukční řešení umožňovat snadnou a účinnou dekontaminaci nebo sterilizaci zařízení (nebo obojí).
23. Uzavřené systémy, zajišťující primární odisolování biologických agens vůči vnějšku, musí být vyřešeny tak, aby nemohlo docházet k úniku materiálů, vzniku kapénkového rozprášení nebo aerosolů.
Vstupy a výstupy pro plyny musí být zabezpečeny tak, aby systém zůstal plně zajištěn vůči vnějšku, např. tím, že jsou do nich zařazeny hydrofobní filtry se sterilizujícím účinkem.
Vnášení, napouštění nebo plnění materiálů do jednotlivých zařízení se má provádět v uzavřených systémech, které se dají předem vysterilizovat, případně pod clonou laminárně proudícího filtrovaného vzduchu.
24. Tam, kde je nutné, má se před použitím celé zařízení důkladně vysterilizovat, nejlépe suchou tlakovou parou. Není-li sterilizace parou vzhledem k povaze zařízení proveditelná, je přípustné použít jiné metody. Je důležité přitom nezapomínat na některá jednotlivá zařízení jako malé stolní odstředivky nebo vodní lázně.
Zařízení používaná k purifikačním operacím, izolaci, oddělování nebo zahušťování produktů, se mají sterilizovat nebo dezinfikovat přinejmenším vždy, když se jich má začít používat pro jiný produkt. Má se prověřit, jaký vliv mají různé sterilizační způsoby na účinnost a spolehlivou funkci (validitu) zařízení a na jeho životnost (jak dlouho je bude možno spolehlivě používat).
Všechny používané sterilizační způsoby musí být validovány.
25. Všechna zařízení musí být řešena tak, aby nemohlo docházet k vzájemnému smíchání různých materiálů. Potrubí, ventily a filtry musí být viditelně označeny tak, aby byla zřejmá jejich funkce.
Pro kultivační zkumavky a jiné nádoby již naočkované (infikované) a dosud nenačkované se mají používat odděleně inkubátory, stejně jako by měly být ponechány zvláštní inkubátory pro každý druh organismů nebo buněk. Připustit, aby se v jednom inkubátoru nacházelo více než jeden druh organismu nebo více než jeden typ buněk, je možné jen tehdy, je-li dostatečně zajištěno, aby jednotlivé nádobky nebo nádoby byly dobře zastaveny nebo uzavřeny, na povrchu dekontaminovány, a každý druh aby byl oddělen od ostatních. Každá jednotlivá kultivační nádoba, zkumavky atd. musí být samostatně označena (popsány, oštitkovány). Vnější očištění a dezinfekce předmětů, ukládaných do inkubátorů, se může ukázat být značně obtížnou záležitostí, a je třeba mu věnovat náležitou péči.
Zařízení, v nichž se biologická agens nebo biologické produkty uchovávají a skladují, musí být vyřešena a udržována tak, aby se předešlo možnému promíchání produktů a záměnám. Veškeré skladované předměty musí být zřetelně a jednoznačně označeny, a obsah z nich nesmí nikudy unikat. Zakonzervované šarže inokula buněk a

mikroorganismů (seed lots) se mají uchovávat v zařízeních vyhrazených pouze tomuto účelu.

26. Klíčová důležitá zařízení, u kterých záleží např. na přesném dodržování stanovené teploty, mají být vybavena zapisovačem a hlásičem poruchy.
Aby se předešlo selhání a haváriím takových zařízení, má být zaveden systém preventivní údržby, při němž se sleduje i to, zda se v zaznamenávaných údajích neprojevuje nějaký trend, indikující zhoršenou funkci zařízení.
27. Zakládání produktů do lyofilizačních sušáren se má provádět ze strany čisté, event. uzavřené („zadržené“) zóny. Při vyjímání produktů z lyofilizační sušárny dochází tam, kde se produkt odebírá, ke kontaminaci ovzduší. U lyofilizačního zařízení, které není prokládací, se tedy čistá zóna musí dekontaminovat dříve, než se sem přinesou následující ke zpracování určené šarže, ledaže by šlo o šarže obsahující tentýž organismus. Prokládací lyofilizační sušárny se proto mají vysterilizovat po každém cyklu, při němž byly otevírána na „nečistou“ stranu.
Pro sterilizaci lyofilizačních sušáren platí to, co bylo uvedeno v bodě 24. Pracuje-li se kampaňově, měly by se vysterilizovat nejméně pokaždé po ukončení kampaňové série stejných šarží.

Pokusná zvířata a jejich chovy

28. Obecné zásady pro chovy pokusných zvířat, péči o zvířata a dodržování karanténních dob jsou stanoveny směrnicí 86/609/EEC.
29. Prostory pro pokusná zvířata mají být odděleny od ostatních výrobních prostorů a mají být vhodně označeny.
30. Má být definováno, jaký musí být zdravotní stav zvířat určených k použití ve výrobě, má být plynule sledován a zaznamenáván. S některými zvířaty je třeba zacházet podle zvláštních předpisů, jimž jsou věnovány monografické stati (týká se to např. chovů prostých specifických patogenních zárodků (SPF=“specific pathogen free“).
31. Jak pro pokusná zvířata, tak pro při výrobě požívaná biologická agens a pro jednotlivě prováděné testy má existovat jednotný identifikační systém označování, aby se předešlo jakýmkoliv nedopatřením a aby se udržel přehled o možných zdrojích ohrožení.

Dezinfekce a likvidace odpadů

32. Dezinfekce a likvidace pevných nebo tekutých odpadů mohou být při výrobě imunologických přípravků velmi náročné. Je proto třeba věnovat pozornost používaným způsobům a zařízením, která k likvidaci slouží, aby nedocházelo ke kontaminaci vnějšího prostředí; používané metody i zařízení mají být validovány nebo „kvalifikovány“, plní-li svůj účel.

Vlastní výroba

33. Při pestré škále vyráběných produktů a při uvážení toho, že výrobní proces u imunologických veterinárních léčiv většinou zahrnuje řadu jednotlivých stupňů a že biologické procesy mají obecně značně variabilní e, vyvstává zřejmá důležitost toho, aby se výrobní postupy dodržovaly co nejdůsledněji v přesně oné podobě, v jaké byly

validovány, aby se výroba neustále monitorovaly, a aby se ve všech stupních prováděly mezioperační kontroly.

Zvláštní pozornost má být také stále věnována výchozím materiálům, živým půdám a správnému používání systému zakonzervovaných šarží inokula.

Výchozí materiály

34. To, jaké mají být výchozí suroviny, aby vyhovovaly danému účelu, musí být jasně definováno písemně vypracovanými specifikacemi. Ve specifikacích mají být i podrobné údaje o dodavateli, o způsobu výroby, o zeměpisném, původu nebo o živočišném druhu, z něhož má materiál pocházet. Musí být také uvedeny zkoušky, kterým musí být výchozí materiál podroben. Zvláště důležité jsou zkoušky mikrobiologické.
35. Výsledky zkoušek provedených na výchozích materiálech musí vyhovět požadavkům specifikací. Tam, kde si zkoušky vyžadají delší dobu (např. u vajec z chovů SPF-ptáků) může nastávat nutnost začít s výchozími materiály pracovat ještě dříve, než jsou výsledky analytických kontrol úplné. V takových případech je propuštění hotového výrobku podmíněně vázáno na to, že konečné zkoušky výchozích materiálů musí vyznít příznivě.
36. Zvláštní pozornost má být zaměřena na zjišťování, zda jednotlivý dodavatelé výchozích materiálů mají zaveden systém jistění jakosti; podle toho lze pak posoudit, představují-li vhodný pramen k nákupu těchto materiálů, a jak důkladně je třeba provádět vlastní vstupní kontrolu jakosti dodávek.
37. Při sterilizaci výchozích materiálů se má ve všech případech, kdy je to proveditelné, dávat přednost tepelné sterilizaci. Je-li to nezbytné, lze používat jiné validované metody , např. ozáření.

Živné půdy

38. U živných půd je třeba předem validovat jejich schopnost podporovat požadovaný růst.
39. Kultivační živné půdy se mají nejlépe sterilizovat „in situ“ (přímo v kultivační nádobě) nebo „in line“ (průtokově). Přednost se má dávat tepelné sterilizaci. Plyny, složky receptury živných půd, kyseliny, zásady, odpěňovací činidla a cokoliv jiného, co se přidává do sterilních bioreaktorů- vše má být samo také sterilní.

Systém zakonzervovaných šarží inokula a tkáňových bank

40. Aby se předešlo nežádoucím postupným změnám vlastností („drift“), k jakým může docházet u používaných kmenů mikroorganismů a buněčných linií v pozdějších subkulturách a generacích, musí být výroby imunologických veterinárních léčiv, pokud využívá kultivaci mikroorganismů, buněk a tkání a jejich pomnožování v embryích nebo zvířecích organismu, postavena na systému zakonzervovaných zásobních šarží inokula („seed lots“) nebo na tkáňových bankách („cell banks“).
41. U vyráběného konečného produktu se musí shodovat počet generací (zdvojování, pasáží), jimiž byl získán z výchozího vzorku zakonzervovaného inokula nebo vzorku z tkáňové banky s tím, co je uvedeno v podkladech, přiložených k žádosti o registraci .

42. Šarže zakonzervovaného inokula i šarže v tkáňové bance musí být dostatečně charakterizovány a musí být ověřeno, že nejsou kontaminované. Mají být stanovena pravidla, podle nichž se při přechodu na novou zásobní šarži ověří její použitelnost. Při zakládání zásobních šarží zakonzervovaného inokula nebo buněk je třeba postupovat tak, aby nebezpečí kontaminace nebo trvalých změn (alternací) bylo co nejmenší. V době, kdy se zakládá nová zásobní šarže zakonzervovaného inokula nebo buněčné linie, nesmí v téže pracovní zóně titíž pracovníci souběžně pracovat s žádným jiným živým nebo infekčním materiálem (např. s viry nebo buněčnými liniemi).
43. Zakládání šarže zakonzervovaného inokula nebo buněk musí probíhat ve vhodném prostředí tak, aby byla chráněna jak sama šarže, tak – pokud je to třeba – i pracovníci, kteří s šarží zacházejí, a také vnější prostředí.
44. Má existovat přesný popis zásobního inokula, jeho původu, formy a podmínek pro uchování. Má se podat důkaz o tom, že kmeny a buňky zůstávají stále a jaké je procento výtěžku. Nádobky nebo ampule , v nichž je inokulum konzervováno, musí být hermeticky uzavřeny, zřetelně popsány nebo oštitkovány, a skladovány při stanovené teplotě. Skladovací podmínky se musí patřičně sledovat (monitorovat). Má se vést „inventurní“ seznam, do něhož se zaznamenává, co se stalo s každou jednotlivou konzervovanou dávkou.
45. Zacházet se vzorky konzervovaného inokula má být povoleno pouze zvláště k tomu určeným pracovníkům, a to pod dohledem odpovědné osoby. Jednotlivé vzorky nebo dávky zakonzervovaného inokula nebo buněk musí uloženy tak, aby se vzorky vzájemně nepomíchaly a nekontaminovaly. Velmi se doporučuje zásobní šarže inokula a tkáňové banky rozdělit na více částí, a každou z nich mít uloženu na jiném místě, aby se předešlo případnému znehodnocení celé šarže najednou.

Zásady pro práci

46. Při výrobních operacích je třeba zabránit nebezpečí kapénkového rozprášení nebo vypěnění, nebo se má takové nebezpečí alespoň omezit na nejmenší míru. Operace odstředování a rozmíchávání, při nichž by mohlo docházet k rozprašování drobných kapiček, se mají provádět v zónách navenek uzavřených, případně i současně „čistých“, aby se živá organismy nemohly přenést mimo zónu.
47. Dojde-li k náhodnému rozliti nebo úniku tekutin, zejména obsahují-li živé organismy, je třeba situaci vyřešit rychle a bezpečně. Pro každý organismus mají být vypracovány a validovány postupy k jeho dekontaminaci. Tam, kde se pracuje s různými kmeny téhož bakteriálního druhu nebo s velmi podobnými viry, postačí validovat dekontaminační postup pouze pro jediný kmen, ledaže by byl závažný důvod se domnívat, že se jednotlivé kmeny svou odolností k dekontaminačnímu činidlu (činidlům) výrazně liší.
48. Výrobní stupně, při nichž se různé materiály (např. sterilní živné půdy, kultury nebo konečný produkt) dopravují z jedné nádoby do jiné, by měly probíhat pokud možno uvnitř uzavřených , předem vysterilizovaných systémů. Tam, kde to není možné, měly by být operace spojené s přeléváním a přenášením materiálů prováděny pod ochranou clonou filtrů, produkující laminárně proudící čistý vzduch.
49. Přidávání živných půd nebo kultur do fermentorů (bioreaktorů a jiných nádob se má dít za pečlivě sledovaných podmínek, aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci. Je třeba dohlížet na to, aby nádoby byly během přidávání kultur správně propojeny.
50. Tam, kde je to nutné – např. běží-li v též pracovní zóně dva nebo více fermentačních tanků- musí se vzorkovací ventily a ventily pro přidávání roztoků a napojovací spoje pro hadice prosterilizovat parou (u spojů se to má dít jednak po napojení, pak těsně

před napuštěním produktu, a znovu před rozpojením). V jiných případech se lze omezit na chemickou dezinfekci vstupních otvorů a ventilů, a ochranou spojů pod clonou laminárního proudění vzduchu.

51. Dříve než se z „navenek uzavřené“ zóny začne vyklízet použité zařízení, skleněné nádoby, zásobníky se získaným produktem a jiné podobné materiály, musí být vše povrchově vydezinfikováno za použití validované metody (viz předcházející bod 47). Zvláštní problém představuje šaržová dokumentace (protokoly). Do uzavřené zóny smějí si s sebou pracovníci vzít a opět pak odtud vynést jen nejmenší možné množství formulářů, jaké je nezbytné, má-li výrobní proces splňovat zásady SVP. Pokud došlo ke zřejmé kontaminaci papírů, např. byly-li polity nebo zasažena sprškou aerosolu, nebo jedná-li se o exotický mikroorganismus, musí být dopraveny ven ze zóny propustí pro materiál a zde musí být dezinfikovány, nebo se informace musí dopravit zevnitř zóny ven prostřednictvím fotokopie nebo faxu.
52. Tekuté a pevné odpady, jako např. zbytky po zpracování vajec, kultivační baňky pro jedno použití kultury nebo biologické agens, kterých se nepoužilo, se mají nejlépe ještě v uzavřené zóně vysterilizovat nebo vydezinfikovat dříve, než se odtud vynesou ven. V některých případech je však také možné je dopravovat ven v hermeticky uzavřených sběrných nádobách, nebo je vypouštět zvláštním odpadním potrubím.
53. Předměty a materiál – včetně dokumentace- jež byly dopraveny dovnitř výrobní prostory, se mají pečlivě zkontrolovat a ověřit, že se sem dostaly pouze předměty a materiály, jež jsou pro výrobu nezbytné. Mělo by se stát pravidlem porovnat seznam předmětů a materiálů, které místnost opouštějí, se seznamem věcí, jež sem byly předtím přineseny a ověřit, že seznamy spolu souhlasí; jinak se výrobní prostoře začnou hromadit různé zbytky.
54. Thermostabilní předměty a materiály, jež mají být dopraveny do čisté nebo „ uzavřené čisté“ zóny, mají projít prokládacím autoklávem nebo prokládacím horkovzdušným sterilizátorem. Thermolabilní předměty se do zóny dopravují propustí, jejíž vnitřní a vnější dveře se nedají otevřít současně, a zde se podrobí potřebné dezinfekci. Je přípustné vysterilizovat předměty a materiály i mimo zónu, v tom případě však musí být zabaleny ve dvojnásobném obalu a do zóny dopraveny propustí pro materiál za dodržení obvyklých kautel.
55. Je třeba zavést přísná opatření k zamezení možnosti kontaminace nebo záměn v inkubátorech. Pro inkubátory má být zaveden pevný řád čištění a dezinfekce. Nádobky v inkubátorech musí být pečlivě a zřetelně označeny.
56. Ve výrobní místnosti se smí v dané době manipulovat vždy jen s jediným biologickým agens; výjimkou je případ, kdy se různé produkty spolu mísí a vzápětí rozplňují, nebo když se pracuje ve zcela uzavřených systémech (aparaturách). Pokud se ve výrobních místnostech pracuje s různými biologickými agens, musí se místnost mezi zpracováním jednotlivých agens vždy účinně vydenzifikovat.
57. Produkty se mají inaktivovat přidáním anaktivační přísady a důkladným promícháním. Pak se má směs přenést do jiné sterilní nádoby; v původní nádobě může být ponechána pouze v případě, lze-li tuto nádobu vzhledem k jejím rozměrům a tvaru obrátit dnem vzhůru a protřepat, aby se vzniklou směsí kultivační tekutiny s inaktivační přísadou dokonale smočil celý její vnitřní povrch.
58. Nádoby obsahující inaktivované produkty se nemají otevírat a vzorkovat v zónách kde se pracuje i s živými biologickými agens. Veškeré další zpracování inaktivovaných produktů má probíhat v čistých zónách třídy A-B nebo v uzavřených aparaturách vyhrazených pro inaktivované produkty.
59. Validace metod používaných pro sterilizaci, dezinfekci, odstranění virů a inaktivaci musí být předem pečlivě promyšleny.

60. Rozplňování do konečných obalů má proběhnout co nejdříve po ukončení výroby. Nádoby, v nichž je shromážděn nerozplněný produkt před rozplňováním, musí být těsně uzavřené, přiměřeně označené, a musí být ponechány při předepsané teplotě.
61. Má být zaveden způsob ověřování, že uzávěry nádobek, do kterých byl produkt rozplněn, jsou dokonale těsné a neporušené.
62. Zátkování a nalisování plechových kloboučků na lahvičky s živými biologickými agens („zapertlování“) se musí provádět tak, aby bylo zaručeno, že nemůže dojít ke kontaminaci jiných produktů, a že živá agens nemohou proniknout do jiných částí závodu nebo do vnějšího prostředí.
63. Z různých důvodů může docházet k časovému posunu mezi rozplněním produktu do konečných obalů (ampulí, lahviček) a mezi oštitkováním těchto obalů a jejich adjustací do krabic a kartonů. Mají proto existovat předepsané procedury, jak zajistit šarže dosud neoštitkovaných ampulí nebo lahviček, aby nemohlo dojít k záměnám, ale aby přesto byly dodrženy požadované skladovací podmínky. Zvláštní pozornost musí být v tomto směru věnována uskladnění produktů, které jsou thermolabilní nebo citlivé na světlo. Teploty uskladnění mají být přesně určeny.
64. V každém stupni výroby je třeba překontrolovat, zda výtěžek operace odpovídá tomu, co lze dle předpokladu a dle zkušeností u daného procesu očekávat. Nápadné diskrepance oproti očekávání se musí vždy prošetřit.

Kontrola jakosti

65. K zajištění toho, aby se trvale a soustavně dosahovalo konstantní jakosti biologických léčiv, přispívají a jsou mimořádně důležité mezioperační kontroly. Zkoušky, jež mají rozhodující význam pro jakost produktu (např. zkouška na odstranění virů), ale nedají se provádět v konečném produktu, musí být zařazeny v příslušné fázi výroby.
66. Během výroby může být nutné odebírat vzorky meziproductů v množství dostatečném k tomu, aby se daly zopakovat nebo potvrdit šaržové testy- tyto vzorky musí zůstat uchovány při příslušné teplotě.
67. Při výrobě lze požadovat kontinuální monitorování některých údajů, např. trvalý záznam fyzikálních parametrů v průběhu fermentace.
68. Kontinuální kultivace biologických produktů se stala v praxi běžnou metodou; při tomto způsobu výroby vyvstávají pro kontrolu jakosti některé speciální problémy, jež musí být uvážlivě vyřešeny.