

Langen, den 22.12.2023

## Information für medizinische Fachkreise

### PRÜFUNGEN VON COVID-19-mRNA-IMPFSTOFFEN

#### Methodik der Prüfung von COVID-19-mRNA-Impfstoffen bei angeblichen Verunreinigungen

Das Paul-Ehrlich-Institut informiert aufgrund der Vielzahl an Anfragen aus medizinischen Fachkreisen zum aktuellen Wissenstand zu angeblichen Verunreinigungen in Impfstoffen. Diese Informationen sollen auch dazu dienen, verunsicherte Patientinnen und Patienten sowie Impfwillige aufzuklären.

Vielen der in der Öffentlichkeit kursierenden Daten und Untersuchungen zu mutmaßlichen Kontaminationen der COVID-19-mRNA-Impfstoffe liegen methodische Mängel zu Grunde. Auch stellt sich das Problem der möglicherweise unsachgemäßen Lagerung der untersuchten Impfstoffdosen. Experimentelle Bestimmungen z. B. von Rest-DNA durch Dritte in auf dem Markt verfügbaren Impfstoffdosen müssen folgende Kriterien erfüllen, um wissenschaftlich haltbare Ergebnisse zu erbringen:

(i) Sie dürfen nicht an Proben erfolgen, die aus abgelaufenen (Haltbarkeitsdatum überschritten) Impfstoff-Fläschchen oder aus angebrochenen oder nicht sachgemäß gelagerten Impfstoff-Fläschchen stammen.

(ii) Die angewandte Methodik zur Bestimmung der Rest-DNA-Menge muss nachgewiesenermaßen geeignet und nachvollziehbar sein – insbesondere sollten Testinterferenzen durch das Vorhandensein von Lipid-Nanopartikeln in den Impfstoff-Fläschchen ausgeschlossen worden sein (was bei Testung am finalen Impfstoff-Fläschchen nicht garantiert werden kann).

(iii) Die angewandte Methode muss validiert worden sein, um verlässliche und überprüfbare Ergebnisse zu liefern.





**In den häufig zitierten Preprint-Veröffentlichungen von McKernan et al. (April 2023)<sup>1</sup> und Speicher et al. (Oktober 2023)<sup>2</sup> fehlen ausreichende Angaben, ob die genannten Bedingungen eingehalten wurden, sowie Angaben zur Nachvollziehbarkeit der gewählten Methodik. Eine Methoden-Validierung ist unerlässlich, um sicherzustellen, dass mit der Durchführung der eingesetzten Methode zu jedem Zeitpunkt und unabhängig von der ausführenden Person verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden und dass die Methode für ihren Einsatzzweck geeignet ist. Die o. g. Bedingungen für den Erhalt wissenschaftlich haltbarer Messergebnisse bei der Rest-DNA-Bestimmung werden von den Herstellern eingehalten.**

Für die Herstellung der COVID-19-mRNA-Impfstoffe dient ein Teil der Plasmid-DNA als Matrize (Template). Nach dem Umschreiben der relevanten DNA-Sequenz in mRNA wird die Plasmid-DNA dann mittels eines enzymatischen Verdauens mit DNase zerkleinert und über den Aufreinigungsprozess unter Erhalt der aktiven Substanz (mRNA) abgereichert. Eine Plasmid-DNA-Restmenge ist aber in kleinen, als unschädlich geltenden Mengen unterhalb eines in der Zulassung festgelegten Grenzwerts vorhanden. Bis dato gibt es keine Anhaltspunkte dafür, dass Nebenwirkungen in Verbindung mit DNA-Restmengen in den zugelassenen COVID-19-mRNA-Impfstoffen in Verbindung stehen könnten.

Das Paul-Ehrlich-Institut weist explizit darauf hin, dass bei der Herstellung von COVID-19-mRNA-Impfstoffen keine DNA aus Zellen tierischen Ursprungs eingesetzt werden. Es handelt sich ausschließlich um Plasmid-DNA bakteriellen Ursprungs. Mögliche Risikoaspekte, die bei Rest-DNA aus Zellen tierischen Ursprungs entstehen könnten, sind eine potenzielle Tumorigenität durch Übertragung von Vorläufer-Onkogene (Proto-Onkogene) und eine potenzielle Infektiosität der DNA durch Übertragung vollständiger funktioneller viraler Gene. Diese sind für DNA bakteriellen Ursprungs nicht gegeben. Vor diesem Hintergrund finden die WHO-Guideline „Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks“ und die Guideline der US-amerikanischen FDA “Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological

---

<sup>1</sup> McKernan Kevin, Helbert Yvonne, Kane Liam T, McLaughlin Stephen (April 2023): Sequencing of bivalent Moderna and Pfizer mRNA vaccines reveals nanogram to microgram quantities of expression vector dsDNA per dose.

<sup>2</sup> Speicher David J, Rose Jessica, Gutsch L. Maria, Wiseman David M, McKernan Kevin (Oktober 2023): DNA fragments detected in monovalent and bivalent Pfizer/BioNTech and Moderna modRNA COVID-19 vaccines from Ontario, Canada: Exploratory dose response relationship with serious adverse events.

Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications“ keine Anwendung bei der Herstellung der mRNA-Impfstoffe. Denn beide Guidelines beziehen sich explizit auf Zellen tierischen Ursprungs, nicht auf bakterielle Zellsubstrate. Bakterielle Zellen sind von den Guidelines ausdrücklich ausgenommen.

Unabhängig davon gilt das regulatorische Prinzip, dass so wenige Verunreinigungen wie möglich in einem Impfstoff vorliegen und selbst theoretische Risiken soweit wie möglich reduziert werden sollten. Daher wurden für die zugelassenen COVID-19-mRNA-Impfstoffe sehr konservative Grenzwerte für Rest-DNA angesetzt, die nicht überschritten werden dürfen. Im Laufe des Herstellungsprozesses wird sowohl auf genomische Rest-DNA aus Bakterien als auch auf Rest-Plasmid-DNA getestet. Die Fragmentierung der Plasmid-DNA mittels DNase-Behandlung der mRNA, wie sie in den zugelassenen COVID-19-mRNA-Impfstoffprodukten gegeben ist, sorgt für eine zusätzliche Sicherheit, denn selbst wenn vollständige und funktionelle Gene enthalten wären, würden diese durch den DNase-Verdau bei der Herstellung nahezu vollständig abgebaut und dadurch unschädlich gemacht. Denn kleine DNA-Fragmente werden als unschädlich betrachtet, da sie nicht für funktionelle Proteine codieren können (FDA Guidance for Industry (2010): “Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications”).

Die Testung auf Rest-DNA ist nicht Teil der offiziellen experimentellen OMCL-Testung (Official Medicines Control Laboratory) zur Chargenfreigabe. Experimentelle OMCL-Testungen von Proben jeder Charge von zugelassenen Impfstoffen umfassen die auf Grundlage der Bewertung der Impfstoffe im Zulassungsprozess als relevant identifizierten produktspezifischen Labor-Wirksamkeits (Potency)- und -Sicherheitsparameter. Die Entscheidung hinsichtlich der zu überprüfenden Parameter erfolgt parallel zur und inhaltlich gestützt auf die Nutzen-Risiko-Bewertung des jeweiligen Impfstoffkandidaten im Rahmen des Zulassungsverfahrens. Sie obliegt dem OCABR-Netzwerk (Official Control Authority Batch Release) und basiert auf einem wissenschaftlichen Konsens der amtlichen Expertinnen und Experten, die im Rahmen eines offiziellen Verfahrens die im Labor zu überprüfenden produktspezifischen kritischen Testverfahren, Testparameter und die diesbezüglichen Freigabekriterien identifizieren und festlegen, die relevant für die Wirksamkeit und Sicherheit eines zugelassenen Impfstoffprodukts sind. Die Entscheidung ist evidenzbasiert und wissenschaftlich

begründet, da sie auf Daten und Erkenntnissen basiert, die im Rahmen des Entwicklungsprozesses erhoben und im Zulassungsprozess geprüft wurden.

Neben der experimentellen Prüfung der festgelegten Wirksamkeits- und Sicherheitsparameter durch die amtlichen Prüflabore (OMCL) gehört die Prüfung der Herstellungsdocumentation (Lot Release Protocol, LRP) zum Prüfungsumfang der amtlichen Chargenfreigabe. Das OMCL prüft die Ergebnisse der vom Hersteller durchgeführten experimentellen Chargenuntersuchungen im Hinblick darauf, ob alle in der Zulassung festgelegten kritischen Parameter und deren Grenzwerte (Spezifikationen) eingehalten wurden. Die von den Herstellern verwendeten analytischen Methoden zur Bestimmung von DNA-Restmengen in COVID-19-mRNA-Wirkstoffen sind in den Zulassungsdossiers der zugelassenen mRNA-Impfstoffprodukte beschrieben. Deren Validität wurde entsprechend ICH-Vorgaben (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) überprüft und anhand von vorgelegten Daten nachgewiesen. Jede Wirkstoffcharge des Impfstoffprodukts Comirnaty wird auf DNA-Restmengen untersucht und die Ergebnisse sind Teil des Chargenfreigabeprotokolls des Herstellers, das im Rahmen der amtlichen Chargenprüfung (OCABR) unabhängig behördlich geprüft wird. Für die staatliche Chargenfreigabe in Deutschland werden diese vom Hersteller mit festgelegter und validierter Methode erhobenen Untersuchungsdaten vom Paul-Ehrlich-Institut gegengeprüft, bevor eine staatliche Chargenfreigabe für Deutschland durch das Paul-Ehrlich-Institut erfolgt.

Die Testung der Plasmid-DNA-Restmengen erfolgt bewusst am Wirkstoff der COVID-19-mRNA-Impfstoffe (Drug Substance) und nicht am finalen Produkt (Drug Product). Nur so sind mögliche Testinterferenzen durch Lipid-Nanopartikel (LNPs), die erst im finalen Produkt vorliegen, auszuschließen. In den Produktionsschritten zwischen der Wirkstoffherstellung und der Herstellung des finalen Produkts kann keine DNA mehr in den Prozess bzw. das Produkt gelangen, sodass bei der Herstellung der finalen Impfstoffdosen aus dem Wirkstoff keine Erhöhung des DNA-Gehalts pro Impfstoffdosis möglich ist. Die Rest-DNA am Wirkstoff zu testen ist also sensitiver und repräsentativ hinsichtlich des DNA-Gehalts des finalen Impfstoffprodukts.