

## Stellungnahme zur mikrobiologischen Kontrolle von hämatopoietischen Stammzellpräparaten

---

Die mikrobiologische Kontrolle hämatopoetischer Stammzellpräparate ist gemäß Ph. Eur. General Chapter 2.6.27 „Mikrobiologische Untersuchungen zellbasierter Produkte“ des Europäischen Arzneibuches (Ph. Eur.) durchzuführen.

Davon ausgehend, dass die mikrobiologische Kontrolle hämatopoetischer Stammzellpräparate ausschließlich mittels geeigneter Kulturautomaten durchgeführt wird, geht diese Stellungnahme darauf ein, wo aufgrund entsprechender Erfahrungen Anforderungen aus der zuvor genannten Arzneibuchmethode spezifiziert werden können.

### 1. Geeignete mikrobiologische Kulturmedien für die mikrobiologische Kontrolle in automatisierten Kultursystemen

Der unter Punkt 3-1-1. in o. g. Arzneibuchmethode aufgeführte „Growth promotion Test“ kann entfallen, wenn ein Qualitäts-Zertifikat (Chargen-Freigabe) durch den Medienhersteller vorliegt. Dieses sollte die in Tabelle 2.6.27.-1. aus der o. g. Arzneibuchmethode genannten Keime oder solche mit den gleichen Ansprüchen an das Kulturmedium enthalten.

### 2. Validierung der Methode zur mikrobiologischen Kontrolle

Bei der Validierung der mikrobiologischen Kontrolle sowie einem Wechsel auf andere Kulturmedien (Hersteller, Zusammensetzung) muss der Anwender eine Matrix-Validierung vornehmen. Hierzu werden, jeweils im Doppelansatz, 100 oder weniger KBE von mindestens 4 verschiedenen Mikroorganismen in Proben hämatopoetischer Stammzellpräparate eingebracht und damit anschließend jeweils eine aerobe bzw. anaerobe Kulturflasche inokuliert. Eine Liste zu verwendender Mikroorganismen findet sich in Tabelle 2.6.27.-2. aus o. g. Arzneibuch-Methode. In einer vom Paul-Ehrlich-Institut vorgenommenen Auswertung von in hämatopoetischen Stammzellkonzentraten festgestellten Mikroorganismen fehlten *Aspergillus brasiliensis* und *Clostridium sporogenes* aus zuvor genannter Liste. Verbreitet sind hingegen die in der Liste aufgeführten Mikroorganismen *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans*. Für die o. g. Matrix-Validierung mit mindestens 4 verschiedenen Mikroorganismen bieten sich daher die zuletzt genannten 3 Keime an und als vorwiegend obligat aerob wachsender Vertreter zusätzlich *Bacillus subtilis*, der ebenfalls in der Liste aufgeführt ist. Die Probenvolumina der Validierungsexperimente ergeben sich aus den für die mikrobiologische Kontrolle vorgesehenen Volumina. Diese Matrix-Validierung wird mit mindestens 2 Präparationen von hämatopoetischen Stammzellen verschiedener Spender durchgeführt. Anstelle des Stammzellpräparates kann ein Surrogatpräparat verwendet werden, das hinsichtlich der Zusammensetzung der löslichen Bestandteile dem Stammzellpräparat gleicht, dessen Zellanteil aber beispielsweise durch Buffycoat-Zellen ersetzt wird.

Empfehlung zur Durchführung:

Um den Aufwand zu begrenzen, kann folgende Vorgehensweise gewählt werden: Die Validierung wird mit den ausgewählten Mikroorganismenstämmen für mindestens einen Spender komplett durchgeführt. Pro Stamm werden hierbei 2 aerobe und 2 anaerobe Flaschen verwendet. Wird Wachstum nachgewiesen, kann bei der Wiederholung auf die Verwendung eines Flaschentyps pro Bakterienstamm reduziert werden, d. h. einige Stämme werden nur in den aeroben, andere nur in den anaeroben Flaschen getestet, dabei jeweils in Doppelbestimmung.

Bei der Matrix-Validierung ist es möglich, dass Stämme von Mikroorganismen in einzelnen Stammzellproben nicht nachgewiesen werden können, weil Abwehrmechanismen des Stammzell-Spenders zu deren Abtötung bzw. Wachstumshemmung führen. In diesem Fall ist die Matrix-Validierung mit einer anderen Spezies bzw. einem anderen Stamm von Mikroorganismen zu wiederholen. Es ist empfehlenswert, auf Isolate aus der mikrobiologischen Kontrolle von hämato-

poietischen Stammzellpräparaten zurückzugreifen, falls solche verfügbar sind.

### **3. Inkubation der Untersuchungsproben**

Für die mikrobiologische Kontrolle eines Präparates sind jeweils ein aerobes und ein anaerobes Kulturmedium in Kombination zu verwenden.

Die Inokulum-Volumina sind nach Ph. Eur. 2.6.27 abhängig vom Präparatevolumen. Ein Auffüllen auf die vom Medien-Hersteller für klinisch-mikrobiologische Untersuchungsproben empfohlenen Volumina ist nicht erforderlich.

Die aerobe Inkubation ist bei 30 – 37 °C, die anaerobe Inkubation bei 35 – 37 °C durchzuführen.

### **4. Maximale Lagerungs- und Transportzeiten für beimpfte Kulturmedien**

Die unter Punkt 3-1-4. aus o. g. Arzneibuchmethode festgelegte Vorgehensweise ist ohne Änderung zu übernehmen.

### **5. Ansprechpartner**

Fachgebiet Transfusionsmedizin