

OECD Veröffentlichungen zur Umweltsicherheit und -hygiene
Schriftenreihe über Grundsätze der Guten Laborpraxis
und Überwachung ihrer Einhaltung

Nummer 14

Beratungsdokument der Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis
Die Anwendung der OECD GLP-Grundsätze auf
in vitro Prüfungen

Umweltdirektorat

Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung

Paris 2004



**ENVIRONMENT DIRECTORATE
UMWELTDIREKTORAT
JOINT MEETING OF THE CHEMICALS COMMITTEE AND
THE WORKING PARTY ON CHEMICALS, PESTICIDES AND BIOTECHNOLOGY
JOINT MEETING DES CHEMIKALIENAUSSCHUSSES UND
DER ARBEITSGRUPPE CHEMIKALIEN, PFLANZENSCHUTZMITTEL UND BIOTECHNOLOGIE**

**OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE AND COMPLIANCE
MONITORING**

Number 14

**OECD SCHRIFTENREIHE ÜBER GRUNDSÄTZE DER GUTEN LABORPRAXIS UND
ÜBERWACHUNG IHRER EINHALTUNG**

Nummer 14

**Advisory Document of the Working Group on Good Laboratory Practice
Beratungsdokument der Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis**

**The Application of the Principles of GLP to in vitro Studies
Die Anwendung der OECD GLP-Grundsätze auf in vitro Prüfungen**

JT00174939

Document complet disponible sur OLIS dans son format d'origine
Complete document available on OLIS in its original format

OECD Veröffentlichungen zur Umweltsicherheit und -hygiene

**Schriftenreihe über Grundsätze der Guten Laborpraxis
und Überwachung ihrer Einhaltung**

Nummer 14

**Beratungsdokument der Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis
Die Anwendung der OECD GLP-Grundsätze auf
in vitro Prüfungen**

Umweltdirektorat

Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung

Paris 2004

Ebenfalls in der OECD-Schriftenreihe über die Grundsätze der Guten Laborpraxis und die Überwachung ihrer Einhaltung veröffentlicht:

No. 1, OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

Nr. 1, OECD-Grundsätze der Guten Laborpraxis (Neufassung aus 1997)

No. 2, Revised Guides for Compliance Monitoring Procedures for Good Laboratory Practice (1995)

Nr. 2, Eine deutsche Übersetzung ist nicht vorgesehen

No. 3, Revised Guidance for the Conduct of Laboratory Inspections and Study Audits (1995)

Nr. 3, Eine deutsche Übersetzung ist nicht vorgesehen

No. 4, Quality Assurance and GLP (as revised in 1999)

Nr. 4, Qualitätssicherung und Gute Laborpraxis (1999 überarbeitet)

No. 5, Compliance of Laboratory Suppliers with GLP Principles (as revised in 1999)

Nr. 5, Einhaltung der GLP-Grundsätze durch Lieferanten (1999 überarbeitet)

No. 6, The Application of the GLP Principles to Field Studies (as revised in 1999)

Nr. 6, Die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Freilandprüfungen (1999 überarbeitet)

No. 7, The Application of the GLP Principles to Short-term Studies (as revised in 1999)

Nr. 7, Die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Kurzzeit-Prüfungen (1999 überarbeitet)

No. 8, The Role and Responsibilities of the Study Director in GLP Studies (as revised in 1999)

Nr. 8, Die Rolle und Verantwortlichkeiten des Prüfleiters bei GLP-Prüfungen (1999 überarbeitet)

No. 9, Guidance for the Preparation of GLP Inspection Reports (1995)

Nr. 9, Eine deutsche Übersetzung ist nicht vorgesehen

No. 10, The Application of the Principles of GLP to Computerised Systems (1995)

Nr. 10, Die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Computergestützte Systeme (1995)

No. 11, The Role and Responsibilities of the Sponsor in the Application of the Principles of GLP

Nr. 11, Zur Zeit keine deutsche Übersetzung veröffentlicht

No. 12, Requesting and Carrying Out Inspections and Study Audits in Another Country (2000)

Nr. 12, Eine deutsche Übersetzung ist nicht vorgesehen

No. 13, The Application of the OECD Principles of GLP to the Organisation and Management of Multi-Site Studies (2002)

Nr. 13, Die Anwendung der OECD GLP-Grundsätze auf Organisation und Management von Multi-Site-Prüfungen (2002)

© OECD 2004

*Erlaubnisanträge zur Reproduktion oder Übersetzung dieser Schrift bzw. Teilen davon sind zu richten an:
Head of Publications Service, OECD, 2 rue André-Pascal, 75775 Paris Cedex 16, France.*

Über die OECD

Die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) ist eine internationale Organisation, in der die Regierungsvertreter von 30 Industrienationen aus Nordamerika, Europa, Asien und dem Pazifik sowie Vertreter der Europäischen Kommission zusammentreffen, um ihre Politik zu koordinieren und zu harmonisieren, Themen von gemeinsamem Interesse zu erörtern, und mit dem Ziel zusammenarbeiten, Lösungen für internationale Probleme zu finden. Der überwiegende Teil der Arbeit der OECD wird von mehr als 200 Fachausschüssen und Arbeitsgruppen geleistet, die sich aus den Delegierten der Mitgliedsländer zusammensetzen. Beobachter aus mehreren Ländern, die bei der OECD einen Sonderstatus haben, und Vertreter interessierter internationaler Organisationen nehmen an zahlreichen OECD-Workshops und anderen Tagungen teil. Die Ausschüsse und Arbeitsgruppen werden vom OECD-Sekretariat in Paris unterstützt, welches sich in Direktorate und Abteilungen untergliedert.

Die Abteilung Umweltsicherheit und -hygiene (EHS) veröffentlicht neun unterschiedliche Reihen von kostenlos erhältlichen Dokumenten: **Testing and Assessment; Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring; Pesticides and Biocides; Risk Management; Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, Safety of Novel Foods and Feeds, Chemical Accidents; Pollutant Release and Transfer Registers; and Emission Scenario Documents.** Weitere Informationen über das Programm Umweltsicherheit und -hygiene und die EHS-Veröffentlichungen sind über die World Wide Web-Site der OECD (siehe nächste Seite) erhältlich.

Die vorliegende Veröffentlichung wurde im Rahmen des Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC) erstellt.

Das Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC) wurde 1995 gemäß den Empfehlungen der UN-Konferenz über Umwelt und Entwicklung von 1992 eingerichtet, um die Zusammenarbeit zu stärken und die internationale Koordinierung im Bereich der Sicherheit von Chemikalien zu verbessern. Die teilnehmenden Organisationen waren die FAO, ILO, OECD, UNEP, UNIDO, UNITAR und WHO. Die Weltbank und UNDP sind Beobachter. UNITAR schloss sich 1997 als siebte Teilnehmerorganisation der IOMC an. Ziel der IOMC ist es, die Koordinierung der von den Teilnehmerorganisationen gemeinsam oder einzeln verfolgten Politik und Aktivitäten zu fördern, um zu einem im Hinblick auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt sachgemäßen Umgang mit Chemikalien beizutragen.

**Diese Veröffentlichung kann kostenlos
on-line abgerufen werden.**

**Diese sowie zahlreiche weitere Veröffentlichungen
zum Thema Umweltsicherheit und -hygiene sind über die
World Wide Web-Site der OECD
(<http://www.oecd.org/ehs/>) verfügbar**

oder können direkt angefordert werden bei:

**OECD Environment Directorate,
Environmental, Health and Safety Division**

**2 rue André-Pascal
75775 Paris Cedex 16
France**

Fax: (33-1) 45 24 16 75

E-mail: ehscont@oecd.org

VORWORT

Um den Einsatz von Tieren bei Sicherheitsprüfungen zu reduzieren, gewinnen in vitro Methoden eine immer größer werdende Bedeutung als Alternative oder Ergänzung zu in vivo Prüfungen. Neben der Verwendung von in vitro Prüfsystemen zur Untersuchung der genetischen Toxizität wird erwartet, dass neue Entwicklungen in den Bereichen der Toxicogenomics, Toxicoproteomics, Toxicometabolomics oder den Hoch-Durchsatz-Screening Verfahren zu einer immer breiteren Anwendung von in vitro Methoden bei Sicherheitsprüfungen führen. Die OECD-Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis hielt es daher für sinnvoll, Leitlinien für die Anwendung und Interpretation der OECD GLP-Grundsätze¹ für in vitro Prüfungen zu entwickeln.

Die Arbeitsgruppe richtete eine Task Force ein, die unter der Leitung der Schweiz vom 12. - 13. Februar 2004 in Bern tagte. Vertreten in der Task Force waren Mitglieder der Arbeitsgruppe sowie Experten für in vitro Prüfungen aus Belgien, Frankreich, Deutschland, Japan, den Niederlanden, der Schweiz, den USA und der Europäischen Kommission.

Der durch die Task Force erarbeitete Entwurf des Beratungsdokumentes wurde auf dem 18. Meeting der GLP-Arbeitsgruppe geprüft und anschließend ergänzt und gebilligt. Auf dem 37. Joint Meeting des Chemikalienausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien, Pflanzenschutzmittel und Biotechnologie wurde empfohlen, das dort ebenfalls gebilligte Dokument vom Generalsekretär freizugeben.

¹ siehe NR. 1 der Serie „Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring“

Beratungsdokument der Arbeitsgruppe Gute Laborpraxis**Die Anwendung der OECD GLP-Grundsätze auf in vitro Prüfungen****EINFÜHRUNG**

In vitro Prüfsysteme werden bisher vorwiegend bei gesundheits- und umweltrelevanten Sicherheitsprüfungen von Chemikalien eingesetzt. Nationale gesetzliche Bestimmungen erfordern, dass diese Prüfungen in Übereinstimmung mit den GLP-Grundsätzen durchgeführt werden.² Traditionell werden in vitro Methoden vor allem bei genotoxikologischen Prüfungen verwendet, bei denen die Gefährdungsbeurteilung weitgehend auf Daten aus in vitro Prüfungen basiert. Im Bemühen den Einsatz von Tieren bei Sicherheitsprüfungen zu reduzieren, gewinnen in vitro Methoden eine immer größer werdende Bedeutung als Alternative oder Ergänzung zu in vivo Prüfungen. Darüber hinaus fördern neue Entwicklungen in den Bereichen der Toxicogenomics, Toxicoproteomics, Toxicometabolomics und verschiedene Hoch-Durchsatz-Screening Verfahren (z.B. Microarrays) die Bedeutung der in vitro Methoden bei der Durchführung von Sicherheitsprüfungen.

Die Forderung, dass Sicherheitsprüfungen in Übereinstimmung mit den OECD-Grundsätzen der Guten Laborpraxis (nachfolgend GLP-Grundsätze) geplant, durchgeführt, aufgezeichnet, berichtet und archiviert werden, unterscheidet nicht zwischen den verschiedenen Arten von Prüfungen. Die Anforderungen und die allgemeinen Hinweise der GLP-Grundsätze und der Konsensdokumente³ zur Durchführung aller nicht-klinischen gesundheits- und umweltrelevanten Sicherheitsprüfungen gelten deshalb auch für in vitro Prüfungen. Um die Anwendung und Auslegung der GLP-Grundsätze für die spezifischen Bedingungen von in vitro Prüfungen zu erleichtern, wurde es als sinnvoll angesehen, weitere Erläuterungen und Hinweise zu erarbeiten.

ZIEL DES DOKUMENTES

Das Ziel des Dokumentes ist es, die ordnungsgemäße Anwendung und Auslegung der GLP-Grundsätze für die Organisation und das Management von in vitro Prüfungen zu erleichtern. Sowohl für die Prüfeinrichtungen (Leitung, Qualitätssicherung, Prüfleiter, Personal) als auch für die nationalen GLP Überwachungsbehörden soll ein Leitfaden für eine sachgerechte Anwendung der GLP-Grundsätze für diese Prüfungen erstellt werden.

Das Beratungsdokument stellt Informationen zur Auslegung der GLP-Grundsätze und Leitlinien für deren Anwendung auf in vitro Prüfungen zur Verfügung, die im Rahmen der nationalen Überwachung durchgeführt werden. Der Aufbau des Dokumentes folgt dabei der Reihenfolge der verschiedenen Abschnitte der OECD-Grundsätze der Guten Laborpraxis.

² Revidierte „OECD Principles of Good Laboratory Practice C(97)186 (Final)“

³ siehe “OECD series on Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring”

ANWENDUNGSBEREICH

Dieses Dokument bezieht sich speziell auf die Anwendung der GLP-Grundsätze auf in vitro Prüfungen im Rahmen nicht-klinischer Sicherheitsprüfungen von Prüfgegenständen, die in Arzneimitteln, Pflanzenschutzmitteln und Bioziden, kosmetischen Mitteln, Tierarzneimitteln sowie in Lebensmittelzusatzstoffen, Futtermittelzusatzstoffen und Industriechemikalien enthalten sind. Häufig sind diese Prüfgegenstände chemisch synthetisierte Produkte. Sie können aber auch natürlichen oder biologischen Ursprungs sein, oder es kann sich unter gewissen Umständen auch um lebende Organismen handeln. Der Zweck der Prüfung dieser Prüfgegenstände ist es, Daten über deren Eigenschaften und/oder deren Unbedenklichkeit für die menschliche Gesundheit und/oder die Umwelt zu erhalten.

Falls eine nationale Gesetzgebung nicht entgegensteht, sind die GLP-Grundsätze auf alle nicht-klinischen gesundheits- und umweltrelevanten Sicherheitsprüfungen anzuwenden, die von Bewertungsbehörden zur Registrierung oder Zulassung von Arzneimitteln, Pflanzenschutzmitteln, Lebensmittel- und Futtermittelzusatzstoffen, kosmetischen Mitteln, Tierarzneimitteln und ähnlichen Produkten sowie zur Anmeldung von Industriechemikalien gefordert werden.

BEGRIFFSBESTIMMUNGEN

a) In vitro Prüfungen

In vitro Prüfungen sind Prüfungen, die nicht an vollständigen mehrzelligen Organismen durchgeführt werden, sondern die als Prüfsysteme Mikroorganismen, Isolate aus Organismen oder entsprechende Simulationen davon benutzen.

Viele in vitro Prüfungen werden Kurzzeit-Prüfungen im Rahmen der Definition der GLP-Grundsätze sein. Für diese Prüfungen sollte das GLP-Konsensdokument der OECD „Die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Kurzzeit-Prüfungen“ auch zur Erleichterung der Arbeit der Prüfleiter und der Qualitätssicherung beachtet werden.

b) Referenzgegenstand

Prüfrichtlinien für in vitro Prüfungen erfordern in vielen Fällen den Einsatz geeigneter positiver und negativer Kontrollen bzw. Trägersubstanzen, die jedoch nicht im Sinne der GLP-Definition als Referenzgegenstand zur Bestimmung der Reaktion des Prüfsystems auf den Prüfgegenstand, sondern der Kontrolle der einwandfreien Funktionsfähigkeit des Prüfsystems dienen. Da der Zweck der positiven, negativen und/oder Trägerstoff -Kontrollen analog zu dem Zweck eines verwendeten Referenzgegenstandes angesehen werden kann, kann die Definition des letzteren als deckungsgleich mit den Begriffen „positiven, negativen und/oder Trägerstoff -Kontrollen“ angesehen werden. Der Umfang, mit dem sie analytisch charakterisiert werden sollen, kann jedoch von den Erfordernissen der Referenzgegenstände abweichen.

AUFGABEN

a) Leitung der Prüfeinrichtung

Die meisten Aufgaben der Leitung der Prüfeinrichtung, wie die Anforderungen der Verfügbarkeit qualifizierten Personals, geeignete Räumlichkeiten und Ausrüstung sowie die rechtzeitige und korrekte

Durchführung der Prüfungen, sind genereller Art und gleichermaßen anwendbar für in vivo und in vitro Prüfungen. Allerdings sollte sich die Leitung der Prüfeinrichtung bewusst sein, dass in vitro Prüfungen Einfluss auf die Durchführung einzelner Aufgaben haben können. Zum Beispiel muss die Leitung der Prüfeinrichtung sicherstellen, dass die Mitarbeiter mit den Aufgaben, die sie ausführen sollen, vertraut sind. So kann für die Durchführung von in vitro Prüfungen eine spezielle Einführung in steriles Arbeiten oder für den Umgang mit biologischen Gefahrstoffen erforderlich sein. In vitro Prüfungen können auch die Verfügbarkeit spezieller Bereiche und die Umsetzung von Verfahren zur Vermeidung von Kontaminationen des Prüfsystems erfordern. Ein weiteres Beispiel ist die Forderung, dass die Leitung der Prüfeinrichtung sicherzustellen hat, dass alle Versorgungsgüter in der Prüfeinrichtung den Anforderungen hinsichtlich ihrer Verwendung in der Prüfeinrichtung genügen. Bestimmte in vitro Prüfungen erfordern die Verwendung patentrechtlich geschützter Materialien oder Test Kits. Obwohl das GLP-Konsensdokument Nr. 5 zur „Einhaltung der GLP-Grundsätze durch Lieferanten“ besagt, dass Materialien die in einer GLP-konformen Prüfung verwendet werden, unter einem angemessenen Qualitätssicherungssystem hergestellt und getestet werden müssen, wobei die Hauptverantwortung für die Eignung beim Hersteller oder Lieferanten liegt, hat die Leitung der Prüfeinrichtung sicherzustellen, dass die Herstellungsmethoden, Anweisungen und Richtlinien bewertet und die Eignung gewährleistet ist.

b) *Prüfleiter*

Die allgemeinen Verantwortlichkeiten des Prüfleiters sind unabhängig von der Art der Prüfung und die in den GLP-Grundsätzen aufgeführten Verantwortlichkeiten gelten auch für in vitro Prüfungen. Der Prüfleiter ist weiterhin mit der alleinigen Aufsicht der Prüfung betraut und trägt die Verantwortung für die Gesamtdurchführung und den Abschlussbericht der Prüfung.

Bei in vitro Prüfungen sollte der Prüfleiter der Dokumentation, der Begründung und der Charakterisierung des Prüfsystems besondere Aufmerksamkeit widmen, da diese Aufgaben bei in vitro Prüfungen schwer durchzuführen sind. Siehe den folgenden Abschnitt über Prüfsysteme bezüglich der erforderlichen Dokumentation zur Begründung und Charakterisierung des Prüfsystems. Bei in vivo Prüfungen waren diese Aufgaben eher einfach. Beispielsweise kann die Verwendung einer bestimmten Tierart durch die Dokumentation der Eigenschaften dieser Art begründet werden, die es zu einem geeigneten Model zur Beurteilung der spezifischen Wirkung eines Prüfgegenstandes machen. Die Charakterisierung eines bestimmten Tiers kann durch einfache Dokumentation der Tierart, des Stamms, Unterstamms, der Herkunft, Anzahl, Körpergewichts-Bereich sowie Geschlecht und Alter erfolgen.

Diese erforderlichen Maßnahmen sind unter Umständen bei in vitro Prüfungen schwieriger durchzuführen.

Die Begründung des Prüfsystems kann erfordern, dass der Prüfleiter die Validierung der Prüfmethode oder die strukturelle, funktionelle und/oder mechanistische Ähnlichkeit zu einer validierten Referenz-Prüfmethode dokumentiert. Vor dem Einsatz neuer Prüfmethode, die strukturell und/oder mechanistisch ähnlich zu einer validierten Prüfmethode sind, sollte der Prüfleiter deshalb den Nachweis erbringen, dass die neue Prüfmethode nach der Testung mit entsprechenden Referenzgegenständen zu vergleichbaren Ergebnissen führt.

Es kann auch schwierig sein, die Eigenschaften von in vitro Prüfsystemen zu dokumentieren. Obwohl der Prüfleiter in der Lage sein kann, einige Eigenschaften des Prüfsystems (z.B. Zelllinie, Anzahl der Passagen, Herkunft) mit Hilfe des Lieferanten zu dokumentieren, sollten falls nötig auch erforderliche Ergebnisse zur Evaluierung des Systems mit entsprechenden Referenzgegenständen wie positive, negative, unbehandelte und/oder Trägerstoff-Kontrollen ebenfalls charakterisiert und dokumentiert werden. Ein besonderer Fall ist die Verwendung von patentrechtlich geschützten Materialien oder Test Kits bei der

Durchführung von in vitro Prüfungen. Während die Funktion solcher Materialien oder Test Kits durch den Lieferanten, Hersteller oder Patentinhaber sichergestellt sein sollte und die Leitung der Prüfeinrichtung z.B. durch Sicherstellung der Bewertung der Herstellungsmethoden, Anweisungen und Richtlinien des Anbieters und der Einhaltung der oben genannten Qualitätskriterien durch den Lieferanten verantwortlich ist, liegt es in der Verantwortung des Prüfleiters zu gewährleisten, dass diese Materialien und Kits den Anforderungen der Prüfung entsprechen, ausreichend validiert wurden und für den vorgesehenen Zweck geeignet sind. Da die Qualität und die Zuverlässigkeit der Ergebnisse einer Prüfung direkt von der Qualität und Funktion dieser Materialien oder Test Kits beeinflusst werden, ist es besonders wichtig, dass die Vollständigkeit und Eignung der Unterlagen zur Qualitätskontrolle des Lieferanten durch den Prüfleiter sorgfältig geprüft und kritisch bewertet wird. Zumindest sollte der Prüfleiter in der Lage sein, die Angemessenheit des vom Hersteller benutzten Qualitätssicherungssystems zu beurteilen und über Unterlagen verfügen, die eine Eignung für den Einsatz des Testsystems belegen, z.B. Ergebnisse durchgeführter Prüfungen.

c) *Prüfendes Personal*

Das Personal sollte bei der Durchführung von in vitro Prüfungen ggf. die Anforderungen an aseptische Bedingungen und die Einhaltung der einzelnen Verfahrensschritte genau beachten, um eine Kontamination des Prüfsystems zu vermeiden. Ebenso sollte das Personal geeignete Praktiken (siehe weitere Informationsquelle, Referenz Nr. 1) anwenden, um Kreuzkontaminationen zwischen den Prüfsystemen zu verhindern und die Integrität der Prüfung zu gewährleisten. Bei Prüfsystemen und Prüfungen mit biologischen Gefahrstoffen sollte das prüfende Personal die Anforderungen zur Isolierung der Systeme kennen und strikt einhalten. Auch sollten angemessene Sicherheitsvorkehrungen festgelegt werden, um das Risiko durch die Verwendung gefährlicher Chemikalien bei in vitro Prüfungen zu minimieren.

QUALITÄTSSICHERUNG

Im Allgemeinen unterscheiden sich die Tätigkeiten der Qualitätssicherung (QA) nicht wesentlich bei in vitro und in vivo Prüfungen. In vitro Prüfungen können in bestimmten Fällen unter den Bedingungen einer Kurzzeit-Prüfung durchgeführt werden, in diesen Fällen wird das OECD-Konsensdokument Nr. 7 „Die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Kurzzeit-Prüfungen“ anwendbar sein. So können solche Prüfungen durch die QA mit einem verfahrensbezogenen Inspektionsprogramm inspiziert und durch nationale Vorschriften genehmigt werden. Da die GLP-Grundsätze fordern, dass die QA besonders die kritischen Phasen einer Prüfung inspiziert, ist es im Fall von in vitro Prüfungen wichtig, dass die QA die kritischen Phasen (und kritischen Aspekte) solcher Prüfungen kennt. Für Inspektionen der QA sollten für relevante Bereiche entsprechende Leitlinien in Zusammenarbeit mit dem Prüfleiter, Principal Investigator und dem prüfenden Personal entwickelt werden. Da das Qualitätssicherungsprogramm nach Möglichkeit ausdrücklich aufgabenspezifische Aspekte von in vitro Prüfungen umfassen soll, sollte auch die Aus- und Weiterbildung des QA-Personals explizit auf die Fähigkeit ausgerichtet sein, potentielle Probleme in bestimmten Bereichen von in vitro Prüfungen zu erkennen.

Zu prüfende spezifische Bereiche können (nicht ausschließlich) folgende Verfahren und Maßnahmen sein:

- Überwachung von Chargen der Medien für die Zell- und Gewebekultur (z.B. fötales Kälberserum/FCS etc.), die kritisch für den Prüfungsablauf sein können oder weiterer Materialien hinsichtlich ihres Einflusses auf die Funktionsfähigkeit des Prüfsystems;

- Bewertung und Sicherstellung des funktionellen Zellstatus und/oder der morphologischen Eigenschaften (und der Integrität) von Zellen, Geweben oder von Indikatormaterialien;
- Überwachung der Zellkulturen auf mögliche Kontaminationen mit anderen Zellen, Mykoplasmen oder weiteren Mikroorganismen sowie biologischen Agenzien mit Gefährdungspotential;
- Reinigung und Dekontamination der Anlagen und der Ausrüstung sowie Minimierung von Kontaminationsquellen zur Verunreinigung der Prüfgegenstände und Prüfsysteme;
- sicherzustellen, dass die spezielle Ausrüstung ordnungsgemäß verwendet und gewartet wird;
- sicherzustellen, dass die Zellen und Gewebe ordnungsgemäß kryokonserviert sowie aufgetaut und vermehrt werden;
- sicherzustellen, dass geeignete Bedingungen für die Wiederauffindung von Materialien aus der Gefrierlagerung vorhanden sind;
- sicherzustellen, dass die Medien und alle Materialien für die Zell- und Gewebekultur steril sind;
- eine angemessene Trennung zwischen den verschiedenen Prüfungen und Prüfsystemen aufrechtzuerhalten.

RÄUMLICHKEITEN / EINRICHTUNGEN

a) Allgemeines

Nach den GLP-Grundsätzen muss die Prüfeinrichtung den Anforderungen der durchgeführten Prüfungen entsprechen und so angelegt sein, dass die einzelnen Arbeitsabläufe ausreichend voneinander getrennt werden können, um die ordnungsgemäße und ungestörte Durchführung jeder einzelnen Prüfung zu gewährleisten. Aufgrund der Tatsache, dass *in vitro* Prüfungen im allgemeinen nur einen begrenzten Arbeitsbereich belegen und keine eigens dafür vorgesehenen Anlagen erfordern, die die Durchführung anderer Prüfungen ausschließen, sollten Maßnahmen ergriffen werden, die eine angemessene Trennung von in der gleichen physischen Umgebung durchgeführten *in vitro* Prüfungen sicherstellen.

b) Räumlichkeiten/Einrichtungen für Prüfsysteme

Die GLP-Grundsätze fordern, dass eine ausreichende Zahl von Räumen oder Bereichen verfügbar ist, um die getrennte Unterbringung von Prüfsystemen zu gewährleisten, wobei diese Bereiche auch gewährleisten sollen, dass die Wahrscheinlichkeit der Kontamination des Prüfsystems minimiert wird. Der Begriff „Bereich“ ist jedoch nicht näher definiert worden und deshalb ist die Auslegung an die verschiedenen *in vitro* Systeme anpassbar. Der wichtigste Aspekt dabei ist, dass die Integrität der einzelnen Prüfsysteme und Prüfungen nicht durch mögliche Kontaminationen, Kreuzkontaminationen oder Verwechslungen gefährdet wird.

Dadurch ist es möglich, Zellen oder Gewebe aus verschiedenen Prüfungen im gleichen CO₂-Brutschrank zu kultivieren, sofern eine angemessene Trennung existiert (z.B. durch entsprechende

Identifikationsnummern, Etikettierung oder separate Platzierung nach verschiedenen Prüfungen) und kein Prüfgegenstand ausreichend flüchtig ist, um andere Prüfungen im Brutschrank zu kontaminieren.

Die Trennung der kritischen Phasen von Prüfungen ist nicht nur auf einer räumlichen sondern auch auf einer zeitlichen Basis möglich. Um die Sterilität zu gewährleisten und das Prüfsystem sowie das prüfende Personal und die Umwelt zu schützen, werden Arbeiten mit Zell- und Gewebekulturen, z.B. Passagieren, Zugabe des Prüfgegenstandes usw., normalerweise in einer Vertikal-Laminar-Flow Werkbank durchgeführt. Unter diesen Umständen wird eine ausreichende Trennung zur Verhinderung von Kreuzkontaminationen zwischen verschiedenen Prüfungen durch eine nachfolgende Bearbeitung der Prüfsysteme einzelner Prüfungen und falls nötig durch eine sorgfältige Reinigung und Dekontamination/Sterilisation der Arbeitsoberfläche der Sicherheitswerkbank und der dazugehörigen Laborausrüstung zwischen den einzelnen Arbeitsschritten erreicht.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Verfügbarkeit von Räumen oder Bereichen, die mit einer speziellen Ausrüstung nur für die langfristige Lagerung von Prüfsystemen genutzt werden. Die Ausrüstung, einschließlich die Lagerbehälter, sollten angemessene Bedingungen zur Aufrechterhaltung einer langfristigen Funktionsfähigkeit der Prüfsysteme bieten.

c) Räumlichkeiten/Einrichtungen für den Umgang mit Prüf- und Referenzgegenständen

Während die Anforderungen der GLP-Grundsätze für den Umgang mit Prüf- und Referenzgegenständen gleichermaßen für in vitro Prüfungen gelten, muss hinsichtlich der Vermeidung von Kreuzkontaminationen durch Prüf- und Referenzgegenstände ein weiterer Aspekt berücksichtigt werden. Da die Sterilität ein wichtiger Faktor bei in vitro Prüfungen ist, sollte sichergestellt werden, dass Räume oder Bereiche, die für die Zubereitung und das Mischen von Prüf- und Referenzgegenständen auch mit Trägerstoff genutzt werden, so ausgestattet sind, dass sie das Arbeiten unter sterilen Bedingungen ermöglichen und so die Wahrscheinlichkeit der Kontaminationen des Prüfsystems und der Prüfung minimiert wird.

GERÄTE, MATERIALIEN UND REAGENZIEN

Obwohl die allgemein befolgten Routineanforderungen für Geräte in einer GLP-konformen Umgebung gleichermaßen für verwendete Geräte bei in vitro Prüfungen gelten, gibt es einige spezifische Punkte von besonderer Bedeutung. Als Beispiel ist es für die Integrität und Zuverlässigkeit einiger in vitro Prüfungen wichtig, für einzelne Geräte wie Mikrowaagen, Mikropipetten, Laminar-Flow Werkbänke oder Brutschränke geeignete Bedingungen zu schaffen und zu gewährleisten, dass diese Geräte regelmäßig gewartet, überwacht und kalibriert werden. Für bestimmte Geräte sollten kritische Parameter bestimmt werden, die eine regelmäßige Überwachung oder die Festlegung von Grenzwerten mit der Einrichtung eines Alarms erfordern.

Die Anforderungen der GLP-Grundsätze für Reagenzien mit Bezug auf die Kennzeichnung und das Verfallsdatum gelten gleichermaßen für in vitro Prüfungen.

PRÜFSYSTEM

In vitro Prüfsysteme sind hauptsächlich biologische Systeme, obwohl einige der neuesten Entwicklungen als Alternative zu den herkömmlichen in vitro Prüfungen (z.B. DNA Arrays für Toxicogenomics) auch Merkmale physikalisch-chemischer Prüfsysteme aufweisen und wieder andere (z.B.

Toxicometabolomic) vor allem als analytische Methoden eingesetzt werden. Test Kits, einschließlich urheberrechtlich geschützte Test Kits, sollten auch als Prüfsysteme in Betracht gezogen werden.

a) Zustand des Prüfsystems

Wie bei allen biologischen Prüfsystemen sollten geeignete Bedingungen definiert, eingehalten und überwacht werden, um die Qualität und Funktion des Prüfsystems während der Lagerung und der Prüfung zu gewährleisten. Dies umfasst die dokumentierte Definition, Erhaltung und Überwachung der Lebens- und Reaktionsfähigkeit des Prüfsystems, einschließlich der Erfassung der Anzahl der Passagen und der Verdopplungszeit der verwendeten Zellen. Aufzeichnungen sollten auch über die unmittelbaren Umgebungsbedingungen (z.B. Stickstoffstand im Stickstoffcontainer, Temperatur, Luftfeuchtigkeit und CO₂-Konzentration im Zellinkubator) und über jegliche Manipulation des Prüfsystems für die Erhaltung seiner Qualität und Funktion (z.B. die Behandlung von Zellen mit Antibiotika oder Fungiziden, Passagieren oder selektive Kultivierung) geführt werden. Da geeignete Umgebungsbedingungen während der Lagerung des Prüfsystems die Qualität der Daten in stärkerem Maße als bei anderen biologischen Systemen beeinflussen können, sind diese Aufzeichnungen von besonderer Bedeutung für die Qualität und Verlässlichkeit der erhaltenen Daten.

b) Neu eingetrossene Prüfsysteme

Dokumentationen des Lieferanten von in vitro Prüfsystemen (z.B. Ursprung/Herkunft, Alter/Anzahl der Passagen, Verdopplungszeit der Zellen oder sonstige relevante Merkmale zur Identifizierung des Prüfsystems) sollen überprüft und mit den Aufzeichnungen aufbewahrt werden. Vordefinierte Kriterien sollen herangezogen werden, um die Lebensfähigkeit und Eignung (z.B. funktioneller und morphologischer Zustand der Zell- oder Gewebekulturen, Prüfung auf bekannte oder vermutete mikrobielle oder virale Kontaminationen) sowie das Reaktionsvermögen des Prüfsystems zu beurteilen. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen sollten dokumentiert und mit den Aufzeichnungen aufbewahrt werden. Falls eine solche Beurteilung nicht möglich ist, wie z.B. bei primären Zellen oder rekonstituierten Organen, sollte zwischen dem Zulieferer und dem Nutzer ein Verfahren bestehen, mit dem die Eignung des Prüfsystems ermittelt und dokumentiert werden kann. Die Überwachung und Aufzeichnung der Ergebnisse negativer und positiver Referenzgegenstände kann ein ausreichender Nachweis für die Reaktionsfähigkeit eines Prüfsystems sein. Alle Probleme mit dem Prüfsystem, die die Qualität, Validität oder Zuverlässigkeit der Prüfung beeinflussen könnten, sollten im Abschlussbericht dokumentiert und diskutiert werden. Probleme mit vom Händler bereitgestellten Prüfsystemen müssen dem Händler mitgeteilt werden und es sind korrigierende Maßnahmen zu suchen.

c) Aufzeichnungen zum Prüfsystem

Die GLP-Grundsätze fordern, dass über die Herkunft, das Eingangsdatum und den Zustand bei der Ankunft der Prüfsysteme Aufzeichnungen zu führen sind. Für Zellen und Gewebe sollten diese Aufzeichnungen nicht nur Angaben zur unmittelbaren Herkunft (z.B. den kommerziellen Lieferanten) sondern auch zum Ursprung der Zellen oder Gewebe (z.B. Eigenschaften des Spenders bei primären Zellen oder Geweben; Ursprung etablierter Zelllinien) enthalten. Weitere Informationen sollten u.a. Informationen über die Methode durch die Zellen oder Gewebe entnommen wurden (z.B. Gewebeexplantate, Biopsien von Zellen oder Tumorzellen, Gentransfer durch Transfektion mit Plasmiden oder Transduktion viraler Partikel etc.), die Chronologie der Aufbewahrung, die Anzahl der Passagen der Zelllinien, das verwendete Medium und die Kulturbedingungen sowie über das Intervall der Zellpassagen und die Bedingungen zum Einfrieren und Auftauen der Zellen etc. enthalten. Für gentechnisch veränderte Prüfsysteme ist es

zusätzlich notwendig, die Art der gentechnischen Veränderung zu prüfen und die Genexpression mit entsprechenden Kontrollen zu kontrollieren.

Besondere Aufmerksamkeit sollte der zweckmäßigen Kennzeichnung der Prüfsysteme während der Lagerung und Nutzung gelten, dazu zählen Maßnahmen, die die Haltbarkeit der Kennzeichnung sichern. Besonders dort, wo die Größe der Container und die Lagerbedingungen (z.B. Kryoröhrchen in flüssigem Stickstoff, Lagerung mehrerer Prüfsysteme in einem Container) kritische Faktoren für die Kennzeichnung sein können, sollten Maßnahmen ergriffen werden, um jederzeit eine einwandfreie Identifizierung des Prüfsystems zu gewährleisten.

Die Anforderungen der OECD-Grundsätze der GLP für Prüfgegenstände und Reagenzien hinsichtlich Kennzeichnung und Verfalldatum gelten gleichermaßen für Test Kits, die als in vitro Prüfsysteme verwendet werden. Test Kits, die als Prüfsysteme oder in sonstiger Weise benutzt werden (z.B. für eine analytische Absicherung) sollten ein Verfalldatum haben. Die Verlängerung des Verfalldatums ist nur auf der Grundlage einer dokumentierten Untersuchung oder Analyse zulässig. Für als Prüfsysteme verwendete Test Kits könnten solche dokumentierten Untersuchungen z.B. aus den chronologischen Aufzeichnungen der erhaltenen Ergebnisse auf positive oder negative Kontrollen bzw. auf einen Trägerstoff für die jeweilige Charge eines Test Kits bestehen, wobei der Nachweis zu erbringen ist, dass die erhaltenen Ergebnisse auch nach dem Ablauf des Verfalldatums nicht von den chronologischen Kontrollwerten abweichen. Die dokumentierte Entscheidung des Prüfleiters zur Verlängerung des Verfalldatums sollte auch diesen Untersuchungsprozess nachweisen.

Um mögliche Verwechslungen zu vermeiden, sollten die Bezeichnungen der Prüfsysteme klar definiert werden und die Etiketten für die Prüfsysteme sowie alle Aufzeichnungen aus den einzelnen Prüfungen sollten jeweils die offiziell angenommene Bezeichnung der Prüfsysteme enthalten.

PRÜF- UND REFERENZGEGENSTÄNDE (EINSCHLIESSLICH POSITIVER UND NEGATIVER VERGLEICHSGEGENSTÄNDE)

Im Allgemeinen gibt es neben den GLP-Grundsätzen keine speziellen Anforderungen an den Eingang oder die Handhabung, Entnahme, Lagerung und Charakterisierung von Prüf- und Referenzgegenständen, die in Prüfungen mit in vitro Prüfsystemen verwendet werden. Beim Umgang können jedoch sterile Bedingungen erforderlich sein, um eine Kontamination des Prüfsystems zu vermeiden.

Für positive und negative Kontrollen bzw. Trägersubstanzen kann es notwendig sein, die Konzentration und die Homogenität zu bestimmen, wobei es ausreichend sein kann, die erwartete Reaktion des Prüfsystems auf die entsprechenden Kontrollen nachzuweisen.

Das Verfalldatum der Referenzgegenstände kann auch durch eine dokumentierte Untersuchung oder Analyse verlängert werden. Solche Untersuchung kann aus dem dokumentierten Nachweis bestehen, dass die Reaktion des jeweiligen Prüfsystems auf die positiven und negativen Kontrollen oder Trägersubstanzen von den in der Prüfeinrichtung aufgezeichneten Kontrollwerten abweichen, die zudem mit veröffentlichten Referenzwerten vergleichbar sein sollten.

STANDARDARBEITSANWEISUNGEN (SOPs)

Zusätzlich zu den in den OECD-Grundsätzen der Guten Laborpraxis aufgeführten Beispielen (s. Nr. 7.4.1 – 7.4.5) gibt es bei in vitro Prüfungen besondere Arbeiten und Prozesse, die in Standardarbeitsanwei-

sungen beschrieben werden sollten. SOPs sollten deshalb bei in vitro Prüfungen für folgende Bereiche zusätzlich zur Verfügung stehen, wobei die einzelnen Arbeitsabläufe nur als erläuternde Beispiele anzusehen sind.

a) *Räumlichkeiten/Einrichtungen*

Umweltüberwachung hinsichtlich pathogener Organismen in der Luft und auf Oberflächen, Reinigung und Desinfektion, zu ergreifende Maßnahmen bei Infektion oder Kontamination in der Prüfeinrichtung oder von Arbeitsbereichen.

b) *Geräte*

Bedienung, Wartung, Funktionskontrolle, Reinigung und Dekontamination der Geräte und Ausrüstung für die Zell- und Gewebekultur, wie der Laminar Flow Werkbänke und Zellinkubatoren; Überwachung des Stickstoffstandes im Stickstoffcontainer; Kalibrierung und Überwachung der Temperatur, Luftfeuchtigkeit und der CO₂-Konzentration im Zellinkubator.

c) *Materialien, Reagenzien und Lösungen*

Bewertung der Eignung, Verlängerung von Verfalldaten, Prüfung und Aufrechterhaltung der Sterilität, Screening auf häufig vorkommende Erreger, Bezeichnung des Verfahrens zur Auswahl und Verwendung von Trägerstoffen, Überprüfung der Kompatibilität des Trägerstoffes mit dem Prüfsystem.

d) *Prüfsysteme*

Bedingungen für die Lagerung und Verfahren zum Einfrieren und Auftauen von Zellen und Geweben, Testung auf häufig vorkommende Erreger; Sichtprüfung auf Kontaminationen; Prüfverfahren (z.B. Verwendung von Nachweiskriterien) für den Erhalt der Eigenschaften und Reaktionsfähigkeit bei der Anwendung unmittelbar nach der Ankunft oder nach der Lagerung; morphologische Untersuchung, Kontrolle der Stabilität des Phänotyps oder Karyotyps, Kontrolle der Stabilität des Transgens; Methode der Inkulturnahme, Kulturbedingungen mit dem Intervall der Zellpassagen; Umgang mit biologischen Gefahrstoffen- und Prüfsystemen, Abfallbeseitigung der Prüfsysteme.

e) *Prüfungsablauf*

Sterile Arbeitstechniken, anerkannte Kriterien für die Zuverlässigkeit der Prüfungen, Kriterien für die Wiederholung von Prüfungen.

f) *Qualitätssicherung*

Definition kritischer Phasen, Inspektionsintervalle.

PRÜFUNGSABLAUF UND BERICHT ÜBER DIE PRÜFERGEBNISSE

Die GLP-Anforderungen zur Durchführung von in vitro Prüfungen sind identisch mit denen der mehr konventionellen Sicherheitsprüfungen. In vielen Fällen kann das OECD-Konsensdokument über die Anwendung der GLP-Grundsätze auf Kurzzeit-Prüfungen in Kombination mit den OECD GLP-Grundsätzen herangezogen werden, damit in vitro Prüfungen in GLP-konformer Art und Weise durchgeführt werden können.

Es gibt jedoch eine Reihe von spezifischen den Bereich der in vitro Prüfungen betreffende Fragen, die im Prüfplan sowie im Abschlussbericht behandelt werden sollten. Diese Fragen sind jedoch hauptsächlich wissenschaftlicher oder technischer Art, wie die (wissenschaftliche) Anforderung, dass alle internen Kontrollen (entsprechende positive, negative sowie unbehandelte Kontrollen und/oder Trägerstoffe) gleichzeitig mit dem Prüfgegenstand in allen in vitro Prüfungen durchgeführt werden sollen, um systematische Fehler zu korrigieren und die Funktion des Prüfsystems zu beurteilen. Genauere Hinweise, welche weiteren Themen im Prüfplan und im Abschlussbericht behandelt werden sollten, sind in den jeweiligen OECD-Prüfrichtlinien und den entsprechenden Verweisen zu finden.

ARCHIVIERUNG UND AUFBEWAHRUNG VON AUFZEICHNUNGEN UND MATERIALIEN

Die allgemeine Aufbewahrungsfrist der GLP-Grundsätze gilt ebenfalls für in vitro Prüfungen. Darüber hinaus können Rückstellmuster von Prüfsystemen aufbewahrt werden, die über lange Zeit konservierbar oder nur begrenzt verfügbar sind (z.B. besondere Subklone von Zelllinien, gentechnisch veränderte Zellen, usw.), um eine Bestätigung des Prüfsystems und/oder die Nachvollziehbarkeit von Prüfungen zu ermöglichen.

Die Aufbewahrung von Rückstellmustern von Prüfgegenständen sollte auch für in vitro Prüfungen in Betracht gezogen werden, die als Kurzzeit-Prüfungen eingestuft werden können, insbesondere in Fällen, in denen in vitro Prüfungen den Hauptteil der Sicherheitsprüfungen darstellen.

Chronologische Aufzeichnungen der Ergebnisse positiver, negativer sowie unbehandelter und/oder Trägerstoff-Kontrollen zur Bestimmung der akzeptablen Reaktionsbereiche des Prüfsystems sollten ebenfalls aufbewahrt werden.

GLOSSAR DER FACHBEGRIFFE

Im Rahmen dieses Dokumentes werden die folgenden Definitionen verwendet:

Sterile Bedingungen: Bestehende oder vorgesehene Bedingungen im Arbeitsumfeld, unter denen das Potenzial einer mikrobiellen und/oder viralen Kontamination minimiert wird.

Zelllinien: Immortalisierte Zellen, die über einen längeren Zeitraum *in vitro* vermehrt und in einer Zellbank expandiert und kryokonserviert werden können. Eine kontinuierliche Zelllinie ist in der Regel homogener, stabiler und dadurch besser reproduzierbar als eine heterogene Population primärer Zellen.

Negative Kontrolle: Einzelner Teil eines Prüfsystems, von dem bekannt ist, dass er nach Behandlung mit einem Prüfgegenstand nicht reagieren sollte; die negative Kontrolle weist nach, dass das Prüfsystem unter den tatsächlichen Bedingungen des Assays nicht reagiert.

Positive Kontrolle: Einzelner Teil eines Prüfsystems, von dem bekannt ist, dass er nach Behandlung mit einem Prüfgegenstand reagiert; die positive Kontrolle weist nach, dass das Prüfsystem unter den tatsächlichen Bedingungen des Assays reaktionsfähig ist.

Unbehandelte Kontrolle: Einzelner unbehandelter Teil eines Prüfsystems, der unter den ursprünglichen Kulturbedingungen gehalten wird; die unbehandelte Kontrolle liefert die Ausgangswerte des Prüfsystems unter den Bedingungen des Assays.

Trägerstoff-Kontrolle: Einzelner Teil eines Prüfsystems zu dem der Trägerstoff für den Prüfgegenstand hinzugefügt wird; die Kontrolle liefert Hinweise darüber, ob der gewählte Trägerstoff unter den Bedingungen des Assays Einfluss auf das Prüfsystem hat.

Kritische Phasen: Einzelne definierte Prozeduren oder Tätigkeiten innerhalb einer Prüfung, von deren korrekter Ausführung die Qualität, Aussagekraft und Verlässlichkeit der Prüfung entscheidend abhängig ist

Kreuzkontamination: Versehentlich eingeführte Kontamination eines Prüfgegenstandes durch einen anderen Prüfgegenstand oder eines Prüfsystems durch einen anderen Prüfgegenstand oder anderes Prüfsystem, das den Prüfgegenstand verunreinigt oder das Prüfsystem beeinträchtigt.

Kryokonservierung: Lagerung von Zellen und Geweben durch Einfrieren unter Bedingungen, bei denen die Lebensfähigkeit aufrechterhalten bleibt.

Kryoröhrchen: Spezielle Röhrchen, die für die Kryokonservierung verwendet werden. Ein Kryoröhrchen muss besonderen Bedingungen entsprechen, wie ein sicherer dichter Verschluss bei extrem niedrigen Temperaturen und extremen Temperaturschwankungen, die beim Einfrieren und Auftauen auftreten.

Ex vivo: Zellen, Gewebe oder Organe, die für weitere Analysen vom lebenden Tier entnommen werden.

Transfektion: Übertragung von fremder, zusätzlicher DNA (einzelne oder mehrere Gene) in eukaryotische Zellen.

Hochdurchsatz-Screening: Der Einsatz von miniaturisierten Laborautomationssystemen zum Screening großer Substanzbibliotheken gegen isolierte Target-Gene, Proteine, Zellen, Gewebe usw. zur Auswahl von Substanzen für die weitere Entwicklung auf der Grundlage biologischer Aktivitäten.

Microarrays: Sätze miniaturisierter Reaktionsbereiche, die wie auf einem Objektträger in geordneter Weise als feste Matrix angeordnet sind. Beim DNA Microarray dienen Sonden nach Hybridisierung komplementärer Basensequenzen der Prozessautomatisierung zur Bestimmung der Genexpression, des Markermusters (Fluoreszenzsignal) oder der Nukleotidsequenz bekannter und unbekannter DNA/RNA zur Untersuchung biologischer Proben.

Primäre Zellen: Zellen die frisch aus dem Gewebe eines Tieres oder einer Pflanze entnommen werden. Frisch isolierte Primärzellen können in Kultur schnell entdifferenzieren und haben oft nur eine begrenzte Lebensdauer. Aus Tieren oder Menschen isolierte Primärkulturen sind eine heterogene Population und zeigen beispielsweise in Abhängigkeit von den verwendeten Methoden der Isolierung und Aufreinigung Unterschiede z.B. in den Zelltypen und Stadien der Differenzierung. Jedes Isolat wird einzigartig und nicht genau zu reproduzieren sein. Primäre Zellkulturen benötigen häufig komplexe Nährmedien, ergänzt mit Serum und weiteren Komponenten. Folglich sind primäre Zellkultursysteme äußerst schwer zu standardisieren.

Patentrechtlich geschütztes Material: Material, dass vor illegaler Nutzung gesetzlich (Patente, Urheberrechte oder Warenzeichen) geschützt ist.

Test Kit: Ready-to-use Zusammenstellung aller notwendigen Komponenten für die Durchführung eines Assays, einer Prüfung oder Studie.

Gewebe: Multizelluläre Aggregate von differenzierten Zellen mit spezifischen Funktionen als Bestandteile von Organismen.

Toxicogenomics: Untersuchung der Wirkung umweltbelastender- oder toxischer Substanzen auf das Genom. Das Ziel der Toxicogenomic ist die Symbiose zwischen der Toxizitätsreaktion auf toxische Substanzen und den Veränderungen der genetischen Funktion einzelner Objekte, die diesen Substanzen ausgesetzt sind. Die Toxicogenomic vereint die neuesten Technologien der Genomforschung (Genomics) und Bioinformatik zur Identifizierung und Charakterisierung der Wirkmechanismen bekannter und vermuteter toxischer Substanzen. Derzeit sind die besten toxicogenomischen Tools der DNA Microarray und der DNA Chip, die eine gleichzeitige Überwachung der Genexpression von hunderten bis tausenden von Genen ermöglichen.

Toxicometabolomics: Die quantitative Messung der zeitlichen multiparametrischen metabolischen Reaktion von lebenden Systemen auf pathophysiologische Reize oder genetische Veränderungen durch die systematische Erforschung der Biofluid-Zusammensetzung (Stoffwechselprodukte/metabolomics) mittels NMR Spektroskopie zum Nachweis der Organtoxizität und zur Identifizierung neuer alternativer Toxizitätsmarker.

Toxicoproteomics: Untersuchung der Wirkung umweltbelastender- oder toxischer Substanzen auf die Proteinexpression (gebildete Proteine, proteomics) einer Zelle oder in einem Gewebe. Das Ziel der Toxicoproteomik ist der Zusammenhang der Toxizitätsreaktion auf toxische Substanzen und den Veränderungen im gesamten Protein einzelner Objekte, die diesen Substanzen ausgesetzt sind.

Gentechnisch veränderte Zellen: Zellen transfiziert mit einem oder mehreren fremden Genen, die in der Zelle exprimiert werden und zu Eigenschaften und Funktionen führen, die normalerweise in der Zelle nicht vorhanden sind oder nur gering exprimiert werden.

Weiterführende Informationen zu in vitro Prüfungen

1. Good Cell Culture Practices
<http://ecvam.jrc.it/publication/index5007.html>
2. MIAME Guideline
<http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html>
3. ECVAM
<http://ecvam.jrc.it/index.htm>
4. ICCVAM
<http://iccvam.niehs.nih.gov/>