

## ACHEMA 2012 Trendbericht: Produktion im Plastikbeutel

### Statusbericht Single-Use-Technologien

- Breites Spektrum für das Upstream Processing, Nachholbedarf im Downstream-Bereich
- Prozessmonitoring und Automatisierung sind noch nicht so weit wie im traditionellen Bereich
- Herausforderungen liegen vor allem im Facility Layout, der Handhabung und Entsorgung

**Modularisierung, Flexibilität, geringe Umrüstzeiten, Minimierung von Kontaminationsrisiken – wer die Ansprüche an Produktionsprozesse in kleinem Maßstab konsequent zu Ende denkt, landet fast zwangsläufig beim Konzept der Single-Use-Technologien. So verwundert es kaum, dass diese in den letzten Jahren den Weg aus der Nische in breite Anwendungen gefunden haben.**

In den vergangenen zehn Jahren hat die Vielfalt und Anzahl der auf dem Markt erhältlichen Single-Use-Systeme in biopharmazeutischen Entwicklungs- wie auch Produktionsprozessen stetig zugenommen. Im Jahr 2009 wurde eine jährliche Wachstumsrate von 35 % erreicht, die vor allem Produkten für das Upstream Processing zuzuschreiben war.

Single-Use- oder Disposable-Technologien basieren auf Komponenten, die in der Regel aus Kunststoffmaterial bestehen und für den einmaligen Gebrauch bestimmt sind. Der Grundstein dafür wurde mit dem ersten Kunststoffblutbeutel durch die Firma Fenwal Laboratories (heute Fenwal Blood Techniques, Illinois) im Jahre 1953 gelegt. In den 1960er Jahren kamen Kunststoffflaschen, -kolben, -petrischalen und 96-Wellplatten auf den Markt, die für Routinearbeiten im Zellkulturlabor zunehmend ihre Gegenspieler aus Glas ersetzten. In den frühen 1970er Jahren entwickelten Knazek und sein Team den ersten Hohlfaserbioreaktor und zeigten, dass Säugerzellen unter *in vivo*-ähnlichen Bedingungen zu Hochzelldichten wachsen können. Das bildete die Voraussetzung für die in den 1980er Jahren populäre *in vitro*-Produktion diagnostischer und therapeutischer Antikörper im mg-Bereich. Ebenfalls Mitte der 1970er Jahre begannen Nunc und Bioferon (heute Rentschler) mit der Produktion von Wannenstapeln aus Polystyren. Diese auch als CellFactories bekannten Systeme wurden überwiegend zur Kultivierung adhärenter Säugerzellen genutzt und lösten in den 1990er Jahren die bis dahin zum Beispiel in der Impfstoffproduktion verwendeten Rollerflaschen in Good Manufacturing Practice (GMP)-Produktionen ab.

## **Breites Produktspektrum für das Upstream Processing**

Heute kann der Anwender auf eine Vielzahl von Produkten unterschiedlichster Anbieter zurückgreifen. Die Single-Use-Systeme werden dabei mehrheitlich in Prozessen genutzt, in denen proteinbasierte Biotherapeutika aus Säugerzellen das Zielprodukt sind. Die Verfügbarkeit eines weiten Spektrums an Komponenten, geeigneten Sensoren und Single-Use-Pumpen erlaubt heute die Realisierung eines kompletten Single-Use-Upstream-Processing bis 2 m<sup>3</sup> Kulturvolumen. Wellendurchmischte Bioreaktoren (Wave Bioreactor von GEHealthcare und Biostat CultiBag RM von Sartorius Stedim Biotech) sind ebenso erhältlich wie gerührte Single-Use-Bioreaktoren in verschiedenen Ausführungen (z. B. Rigide Kunststoffkessel von Mobius CellReady, UniVessel SU, CelliGEN BLU oder flexible Beutel-(Bag) Systeme von S.U.B., Biostat CultiBag STR, XDR Bioreactor). Sie unterscheiden sich hinsichtlich Größe, Wirk- und Mischprinzip sowie Instrumentierung und zeichnen sich durch eine definierte Fluidynamik aus. Für die Realisierung sich ständig wiederholender Teilaufgaben (Mischen, Lagern und Transportieren, Inokulumproduktion und Fermentation sowie Biomasseabtrennung) hat sich außerdem die Zusammenfassung verfahrenstechnischer Grundoperationen zu Prozessplattformen bewährt. Prozessplattformen sind technisch umgesetzte, gut definierte Abläufe von Prozessen oder Prozessschritten. Es gibt sie bereits in unterschiedlicher Größe sowie Anzahl und Reihenfolge der Prozessschritte für die Medienherstellung, die Fermentation und die Biomasseabtrennung. Technische Grenzen für den Einsatz der Single-Use-Technologien im Upstream Processing ergeben sich aus den eingesetzten Kunststoffen. Ihnen sind hinsichtlich Stabilität, Einsatzbereich, Maßstabvergrößerung und Handling Grenzen gesetzt. Gegenwärtig liegt die Größengrenze anwenderseitig bei 1.000 L bis 2.000 L Bagvolumen und 30 Zoll Filterkartuschen, auch wenn herstellerseitig größere Bagsysteme (bis 5.000 L) offeriert werden. Anlagenkapazitäten oberhalb dieser Größenordnung werden durch die Anwender aktuell durch Parallelisierung bewerkstelligt. Nach jüngsten Umfragen der Aspen Brook Consulting scheint das für über 80 % der Anwender ausreichend.

## **Nachholbedarf im Downstream-Bereich**

Obwohl der zunehmende Einsatz von Single-Use-Technologien für das Upstream-Processing auch die Entwicklung von Systemen für das Downstream Processing nach sich zog, haben sie dort noch nicht die Bedeutung erlangt wie im Upstream-Bereich. Die zur Herstellung biopharmazeutischer Produkte angewendeten, verfahrenstechnischen Grundoperationen im Downstream-Bereich beinhalten klassische Filtrationsverfahren und chromatographische Schritte, aber auch neuartige Technologien wie funktionelle Filtrations-/Absorptionsverfahren und „Mixed-Mode“-Technologien. Der Begriff „Mixed-Mode“ steht dabei für einen multiplen Retentionsmechanismus als Grundlage der Wechselwirkungen zwischen Probe und Sorbens. Der Abfüllprozess des formulierten

Endproduktes ist in der biopharmazeutischen Produktion dagegen in den meisten Fällen ein klassischer Flüssigtransfer mit oder ohne finale Gefriertrocknung. Aus den Grundoperationen werden die zur Isolierung und Aufreinigung des Produktes geeigneten Methoden ausgewählt und zu einer Sequenz zusammengefügt. Die Reihenfolge und Qualität der verwendeten Methoden variiert dabei in Abhängigkeit der Eigenschaften und Anforderungen an die Qualität des zu reinigenden Produktes.

Wie im Upstream-Processing kommen auch im Downstream-Processing die Hauptvorteile beim Einsatz von Single-Use-Technologien gegenüber klassischen, wiederverwendbaren Systemen zum Tragen: (1) niedrigere Investitionskosten, (2) verkürzte Entwicklungs- und Implementierungszeiten, (3) reduzierter Qualifizierungs- und Instandhaltungsaufwand und (4) erhöhte Flexibilität. Dennoch besteht im Downstream-Bereich noch Nachholbedarf. Schon etabliert sind Einwegmischer bis 1.000 L sowie die Einwegversionen klassischer Mikrofiltrations- (0,1/0,2 µm) und Tiefenfiltrationssysteme, während die Ultrafiltration nach wie vor ein Flaschenhals ist. Ganz anders verhält sich die Situation bei den chromatographischen Systemen. Den Vorteilen Flexibilität und reduzierter Zeit- und Kostenaufwand durch vorgepackte, sofort nutzbare („ready-to-use“) Säulen stehen die Kosten für die eingesetzten chromatographischen Gele als Nachteil gegenüber. Für Prozesse mit häufigen Ernten und Aufreinigungen in Säulen mit hoher Lebensdauer sind chromatographische Einwegsyste me momentan keine attraktive Lösung. Es laufen Neuentwicklungen, die auf die Leistungssteigerung bei gleichzeitiger Kostenreduktion im Prozess in Verbindung mit Single-Use-Technologien abzielen. Dazu gehören der Einsatz von „Mixed-Mode“-Sor bentien sowie sequentiellen Chromatographien, die durch neue Selektivitäten im Proteincapture und die effizientere Ausnutzung eine signifikante Reduktion des benötigten Chromatographiemediums ermöglichen.

Die eher zögerliche Entwicklung im Bereich der Chromatographie hat jedoch zur Entwicklung von alternativen Aufreinigungstechniken geführt. Funktionelle Filtrationen mit Membranadsorbentien kombinieren die Vorteile der Einwegfiltration mit funktionellen Oberflächen, vor allem mit Ionenaustauscher- und Affinitätseigenschaften. Sie werden von vornherein als Single-Use-Systeme konzipiert. Dennoch sehen Experten wie Detlef Eisenkrätzer, Roche GmbH, im Fehlen von preiswerten Alternativen zu „Mehrweg“-Affinitäts-Chromatographiesäulen eines der größten Hindernisse für den Einsatz von Single-Use-Technologie.

## **Monitoring und Automatisierung**

Hinsichtlich Prozessmonitoring und Automatisierungstechnik verfügen Single-Use-Systeme bis jetzt nicht über den vollen Funktionsumfang wie ihre traditionellen Gegenspieler. Sie sind sowohl mit *in situ*- als auch *ex situ*-Sensoren ausgerüstet. *In situ*-Sensoren, welche im Kontakt mit dem

Kulturmedium stehen, müssen sterilisierbar sein. *Ex situ*-Sensoren, welche entweder eine nicht-invasive Überwachung mittels optischer Sensoren durch ein transparentes Fenster oder klassischer Sensoren innerhalb eines Probenahmestromes außerhalb der Sterilbarriere ermöglichen, brauchen das nicht.

Für die Messung von Standard-Prozessparametern wie Druck, Temperatur, und zum Teil auch pH und pO<sub>2</sub> gibt es mehrere Systeme, so dass die Messbarkeit dieser Größen gewährleistet ist. Für weitere Prozessparameter ist die Auswahl der zur Verfügung stehenden Analytik jedoch eingeschränkt auf die Systeme, für die ein Hersteller eine Integrationsmöglichkeit in sein Produkt anbietet. Konkret bedeutet das, dass die verwendbare Analytik in der Regel durch die Auswahl des Anbieters des Single-Use-Systems vorgegeben ist.

### **Hürden beim Einsatz von Single-Use-Technologien**

Sowohl im Upstream- als auch auch im Downstream-Processing sind die verfahrenstechnische Charakterisierung der Single-Use-Systeme und ihre Standardisierung noch unzureichend. Limitationen von Single-Use-Systemen umfassen aber auch die Begrenzung bezüglich Druck, Durchflussraten, Zentrifugalkräften, der Temperatur und der O<sub>2</sub>- bzw. CO<sub>2</sub>-Strippingraten. Als weitere Beschränkungen sind mögliche Leachables und Extractables, die Größenbegrenzung, die erhöhten Kosten für das Verbrauchsmaterial, die Lieferantensicherheit und die noch mangelnde Sensortechnik in Verbindung mit der Automatisierung zu nennen. Schließlich erfordert die erfolgreiche Implementierung von Single-Use-Technologien auch Veränderungen und neue Ansätze bei der Anlagenrealisierung, der Mitarbeiterschulung, der Qualitätssicherung und Abläufen der Produktion, die bereits in der Planungsphase beginnen.

Nichtsdestotrotz erlauben die auf dem Markt verfügbaren Produkte bei richtigem Einsatz und richtiger Handhabung kleinere, billigere, grünere, sicherere und schnellere Entwicklungen sowie Produktionen. Das erklärt wohl auch die Tatsache, dass sie inzwischen aus klein- sowie mittelvolumigen Verfahren für Biopharmazeutika und Biosimilars in allen Hauptprozessschritten, vor allem aber dem Upstream-Processing-Bereich, nicht mehr wegzudenken sind. Das betrifft die schnelle Entwicklung sowie das „auf den Markt bringen“ neuer Biotherapeutika wie zum Beispiel von Antikörpern und Veterinär- sowie humanen Impfstoffen. „Wir sehen vor allem im Bereich der Impfstoffe vielversprechende Anwendungsfelder: kleine Volumen, kampagnenweise Produktion, flexible Produktionsanforderungen, Risiko von Crosskontamination, hier können Single-Use-Technologien ihre Vorteile ausspielen“, meint Dr. Karsten Behrend, M+W Process Industries GmbH. Die Mehrheit der Biotherapeutikaproduzenten (vor allem Lohnhersteller) nutzt wo immer möglich Single-Use-Systeme. Im deutschsprachigen Raum sind das u. a. Baxter Österreich,

Boehringer Ingelheim, Hoffmann La-Roche Deutschland und Schweiz, Merck Serono Deutschland und Schweiz, Novartis Schweiz und Österreich, Rentschler und Werthenstein BioPharma.

Noch dominieren in solchen Firmen hybride Produktionsanlagen, in denen Single-Use- und traditionelle Systeme aus Glas oder Edelstahl kombiniert werden. Doch werden erste Produktionsanlagen, die durchgängig mit Single-Use-Systemen arbeiten, geplant. Dem generellen Trend hin zu Single-Use-Systemen tragen auch die global operierenden Entwickler und Hersteller Rechnung. Von ihnen haben GE Healthcare, Merck Millipore und Sartorius Stedim Biotech gegenwärtig das größte Portfolio. Innerhalb der Entwickler und Hersteller ist jedoch sehr viel Bewegung. Vereinzelt kommen neue Akteure auf den Markt, doch rechnen Experten mit einer Konsolidierung des Marktes in den nächsten Jahren. Im Vorteil sind diejenigen Firmen, die eine breite Produktpalette haben und dem Anwender im Rahmen des Gesamtprozesses vielseitige Unterstützung garantieren können.

### **Herausforderungen vor allem im Facility Layout, der Handhabung und Entsorgung**

Herausforderungen bei der Umstellung auf Single-Use-Systeme liegen vor allem im Facility Layout, in der Handhabung und in der Entsorgung. Das Facility Layout wird neben den betrieblichen Auflagen vor allem durch die behördlichen getrieben und hat das potenzielle Risiko der Verunreinigung des Wirkstoffes im Fokus. So resultieren hohe Anforderungen an die Qualität der Reinraumausführung sowie der zugehörigen Lüftungs- und Klimatechnik. Neben den erforderlichen Investitionskosten stellen hierbei insbesondere die Betriebskosten einen nicht unerheblichen Anteil dar.

Der Einsatz von Einwegsystemen ist meist mit der Durchführung vieler manueller Schritte bei der Anwendung verbunden; generell ist der Automatisierungsgrad der Systeme geringer als der vergleichbarer klassischer Systeme. Oft wird ein Gesamtsystem zur Durchführung eines Prozessschrittes aus Einzelkomponenten zusammengesetzt. In einigen Anwendungsfällen (z. B. Verwendung von Gefahrstoffen oder Organismen mit Gefährdungspotenzial) sollte vor Einsatz des Systems die Integrität des Gesamtsystems geprüft werden. „Einweg-Systeme sind überwiegend manuell gefertigt, lassen sich aber nur schwer oder gar nicht auf Integrität beim Endanwender prüfen. Dieser hat daher nicht die Möglichkeit festzustellen, ob ein Einweg-System z. B. durch den Transport oder die Handhabung vor Ort beschädigt wurde, was letztlich zu Undichtigkeiten im System führen würde, und gleichzeitig eine Kontamination bzw. einen effektiven Produktverlust erzeugt. Dadurch entstehen dem Anwender erhebliche Verluste, die ihn schon im Vorfeld dazu bewegen, von einer technischen Einweg-System-Lösung Abstand zu nehmen“, erläutert Jens Kubischik, Pall GmbH Life Sciences. „Aus diesem Grund ist ein vertrauensvolles Verhältnis

zwischen Lieferant und Anwender unabdingbar, und wird durch einen transparenten Herstellungsprozess, der z. B. im Rahmen eines Audits inspiziert werden kann, gestärkt.“

Zu einer erfolgreichen Implementierung von Single-Use-Technologien in einen biopharmazeutischen Herstellungsprozess gehört schließlich auch die Sicherstellung der Entsorgung. Da es sich bei den Single-Use-Systemen häufig um Verbundwerkstoffe handelt, liegt die Herausforderung in der Trennung der Materialien. Neben unterschiedlichen Kunststoffen werden teilweise auch Metalle als Einbauten verwendet.

Da heute schon in ausgewählten Applikationen sämtliche Prozessschritte aus Single-Use-Systemen realisiert werden, ist das Abfallvolumen entsprechend groß. Die dabei anfallenden Beutel, Schläuche, Filter etc. sind unter Umständen mit Organismen und/oder mit umweltgefährdenden Chemikalien belastet und müssen vor der Entsorgung entsprechend behandelt werden. Die Entsorgung der Kunststoffe erfolgt üblicherweise durch Verbrennung oder manchmal auch durch Deponierung.

Gegenwärtig sind nur bedingt Systeme am Markt erhältlich, die die großen Abfallmengen zerkleinern oder kompaktieren können. Insbesondere im Zusammenhang mit der Inaktivierung/Dekontamination gibt es so gut wie keine Lösung auf dem Markt. Außerdem gibt es keine Möglichkeit, die Verbundstoffe vor Ort zu trennen, um sie gegebenenfalls einer Wiederverwertung zuzuführen. Das bedeutet, dass eine aufwendige und kostenintensive Logistik erforderlich ist, die den Vorteil der Single-Use-Technologie im Prozesseinsatz schmälern kann. Hier besteht ein großer Bedarf, der durch innovative Lösungen gedeckt werden muss; Konzepte für den Materialfluss müssen schon in der Planungsphase berücksichtigt werden. Da es in anderen Industriezweigen, wie z. B. der Lebensmittelindustrie, bereits ähnliche Fragestellungen, aber auch Lösungsansätze gibt, sollte eine Adaption auf den Biotechnologiesektor möglich sein.

### **Neue Anwendungsfelder für Single-Use-Technologien**

Es ist anzunehmen, dass der Markt für Single-Use-Technologien für die Herstellung der proteinbasierten Therapeutika nicht in dem Maße weiterwachsen wird, wie das bisher der Fall war. Gelingt die notwendige Weiterentwicklung, kommen wir der kompletten Single-Use-Produktionsanlage und damit der „Single-Use Factory in der Box“ aber immer näher. „Eine Vision ist die in einem Container integrierte Impfstofffabrik aus SUS, die es binnen kürzester Zeit an einem beliebigen Ort in der Welt (das Personal mit dem Fachwissen natürlich vorausgesetzt) erlaubt, den Impfstoff herzustellen“, sagt Prof. Dr. Regine Eibl, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften.

Darüber hinaus scheinen neue Applikationen für die Single-Use-Bioreaktoren wahrscheinlich, die (1) die Herstellung mikrobieller Nischenprodukte, (2) Produktionsverfahren mit Algen sowie auf (3) pflanzlichen Suspensionszellen, Wurzelkulturen und mesenchymalen Geweben basierende Produkte für den Pharma-, Food- und Kosmetikbereich zum Ziel haben. „Es gibt bereits zahlreiche zu 100 % in SUS etablierte Fermentationsprozesse mit tierischen Zellkulturen. Ihre Zahl wird wachsen“, sagt Detlef Eisenkrätzer, Roche GmbH. Entscheidend werden die Biotherapeutika der jüngsten Generation jedoch die Weiterentwicklung der Single-Use-Technologie prägen. „Eines der vielversprechendsten zukünftigen Anwendungsfelder für die Single-Use-Technologie ist die personalisierte Medizin und hier vor allem die Produktion von Zelltherapeutika mit Stamm- und T-Zellen“, meint Regine Eibl. Zelltherapeutika gelten als wichtiges Produktsegment der personenspezifischen Medizin und umfassen die seit Anfang der 1990er Jahre auf den Markt drängenden Produkte für die regenerative Medizin (Haut, Knorpel und Knochen) sowie das erste personenspezifische Vakzin, das im April 2010 die FDA-Zulassung zur Therapie von Prostatakrebs erhielt. Um die Zelltherapie, die verglichen mit dem etablierten Manufacturing von Proteintherapeutika noch in den Kinderschuhen steckt, zum kommerziellen Erfolg zu führen, sind innovatives Equipment und neue Technologien zwingend notwendig. Single-Use-Systeme werden hier bedingt durch die Produkthanforderungen und -verwendung zum „Muss“. Mehr als 200 Zelltherapeutika für die Transplantationsmedizin, Krebs- und Aids-Therapien befinden sich derzeit im Stadium der klinischen Erprobung – eine gewaltige Chance nicht nur für die Medizin, sondern auch für die Single-Use-Technologien.

[www.achema.de](http://www.achema.de)

(Die Trendberichte werden von internationalen Fachjournalisten zusammengestellt. Die DECHEMA ist nicht verantwortlich für unvollständige oder falsche Informationen.)