



## AUTOREN

- » Redaktion: Dieter Eibl, Regine Eibl, Petra Köhler
- » AG Werkstoffe und ihre Eigenschaften, Qualifizierung und Validierung:  
Annette Koch, Ina Pahl, Markus Tanner, Andreas Burkhard
- » AG Komponentenharmonisierung und Logistik: Jens Kubischik
- » AG Projektierung: Karsten Behrend, Detlef Eisenkrätzer, Thorsten Peuker
- » AG Bioverfahrenstechnik USP: Dieter Eibl, Jörg Kauling, Wolfram Meusel
- » AG Bioverfahrenstechnik DSP: Percy Kampeis, Dethardt Müller
- » AG Bioverfahrenstechnik Sensoren: Lars Böttcher, Dieter Frense, Gerhard Jobst, Isabella Moser, Holger Müller, Thomas Nacke, Karlheinz Preuß, Dirk Tillich, Henry Weichert
- » AG Neue Anwendungsfelder für Single-Use-Systeme:  
Regine Eibl, Kai Muffler, Peter Neubauer, Ralf Pörtner, Roland Ulber

## INHALT

Inhalt .....	3
1. Einführung in die Single-Use-Technologie .....	11
2. TAK „Single-Use-Technologie in der biopharmazeutischen Produktion“ .....	10
3. Beiträge der Arbeitsgruppen .....	12
3.1. AG Werkstoffe und ihre Eigenschaften, Qualifizierung und Validierung .....	12
3.2. AG Komponentenharmonisierung und Logistik .....	16
3.3. AG Projektierung .....	18
3.4. AG Bioverfahrenstechnik USP .....	21
3.5. AG Bioverfahrenstechnik DSP .....	25
3.6. AG Bioverfahrenstechnik Sensoren .....	27
3.7. Neue Anwendungsfelder für Single-Use-Systeme .....	30
4. Aus- und Weiterbildung zur Entwicklung und dem Einsatz von Single-Use-Systemen ..	35
5. Schlussfolgerungen für die zukünftigen Aktivitäten des TAK .....	37
6. Abkürzungen .....	39
7. Referenzen .....	40

## 1. EINFÜHRUNG IN DIE SINGLE-USE-TECHNOLOGIE

Der Begriff „Single-Use“ (häufig auch als „Disposable“ bezeichnet) definiert in der biopharmazeutischen Produktion einen Gegenstand, der für den einmaligen Gebrauch bestimmt ist. In der Regel besteht dieser aus Kunststoffmaterial (Polyamid {PA}, Polycarbonat {PC}, Polyethylen {PE}, Polyethersulfon {PESU}, Polypropylen {PP}, Polytetrafluorethylen {PTFE}, Polyvinylchlorid {PVC}, Celluloseacetat {CA}, Ethylenvinylacetat {EVA}, siehe auch Punkt 3.1) und wird nach seinem Gebrauch entsorgt. Demzufolge ist unter Single-Use-Technologie (SUT) eine auf Single-Use-Systemen (SUS) basierende Technologie zu verstehen.

Der Grundstein für die SUT wurde mit dem ersten Kunststoffblutbeutel durch die Firma Fenwal Laboratories (heute Fenwal Blood Techniques, Illinois) im Jahre 1953 gelegt [Codner and Chat 2005]. In den 60er Jahren kamen Kunststoffflaschen, -kolben, -petrischalen und 96-Wellplatten auf den Markt, die für Routinearbeiten (Passagen, Zellexpansionen, Screeningarbeiten) im Zellkulturlabor zunehmend ihre Gegenspieler aus Glas ersetzten. Einen weiteren, wichtigen Meilenstein in der Geschichte der SUT legten Knazek und sein Team in den frühen 70er Jahren [Knazek et al. 1972]. Sie entwickelten den ersten Hohlfaserbioreaktor und zeigten, dass Säugerzellen unter *in vivo* ähnlichen Bedingungen zu Hochzelldichten wachsen können, indem Hohlfasermembranen in einer Einwegkartusche für eine kontinuierliche Kulturführung im Perfusionsmodus eingesetzt wurden. Das bildete die Voraussetzung für die in den 80er Jahren populäre *in vitro* Produktion diagnostischer und therapeutischer Antikörper im mg-Bereich. Ebenfalls Mitte der 70er Jahre begannen Nunc und Bioferon (heute Rentschler) mit der Produktion von Wannenstapeln aus Polystyren [Schwander and Rasmusen 2005]. Diese auch als CellFactories bekannten Systeme wurden überwiegend zur Kultivierung adhärenter Säugerzellen genutzt und lösten in den 90er Jahren die für Zellexpansionen und einfache, biopharmazeutische Produkte (z.B. Impfstoffe gegen Polio, Rotavirus und Hepatitis A) verwendeten Rollerflaschen in Good Manufacturing Practice (GMP)-Produktionen ab.

In den vergangenen 10 Jahren nahm die Vielfalt und Anzahl der auf dem Markt erhältlichen SUS in biopharmazeutischen Entwicklungs- wie auch Produktionsprozessen stetig zu. Im Jahr 2009 wurde eine Wachstumsrate von 35 % erreicht, die vor allem Produkten für das Upstream Processing (USP) zuzuschreiben war [Langer 2009]. So führte Hyclone (heute Teil von ThermoFisher) Anfang 2000 den ersten Einwegbeutel (Bag) für die Lagerung sowie den Transport von Puffer und Medium auf dem Markt ein. Darüber hinaus fanden Dialysemembranreaktoren wie die CeLLine [Trebak et al. 1999], das MiniPerm-System [Falkenberg 1998] und wellendurchmischte Bioreaktoren [Singh 1999] ihren Einzug in moderne, biotechnologische Forschungslabore. Unbestritten ist dabei, dass der Wave Bioreactor 20 (das erste wellendurchmischte Bioreaktorsystem) und vor allem sein trotz anfänglicher Skepsis gegenüber dem neuen Mischprinzip erfolgreicher Einsatz sowie späteres Scale-up (bis max. 500 L Kulturvolumen) die entscheidende Triebkraft für die rasante Weiterentwicklung der SUT war.

Heute kann der Anwender auf eine Vielzahl von SUS unterschiedlichster Anbieter zurückgreifen. Diese werden, wie in Abbildung 1 gezeigt, in Systeme für den alltäglichen Laborgebrauch, einfache, periphere Systeme sowie Equipment für Grundoperationen und Prozessplattformen eingeteilt [Eibl et al. 2011a]. Die SUS werden mehrheitlich in Prozessen genutzt, wo proteinbasierte Biotherapeutika aus Säugerzellen das Zielprodukt sind. Die Verfügbarkeit von Single-Use-Verbindern (Connectoren), -Probenahme- und -Transfersystemen, -Mischern, -Bioprozesscontainern und weiteren

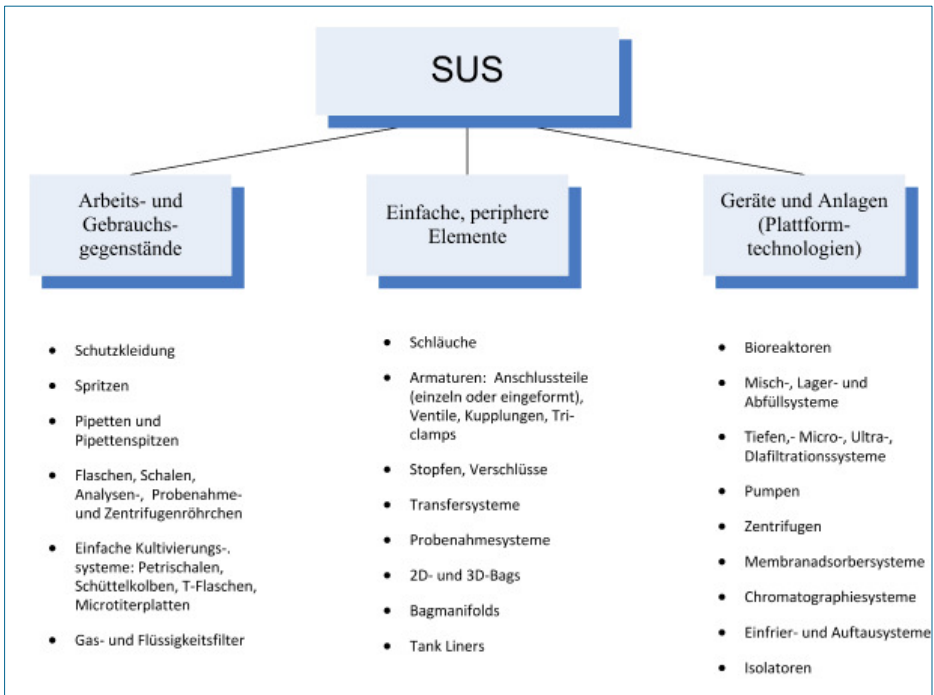


Abbildung 1: Kategorisierungsansatz der aktuell auf dem Markt verfügbaren SUS [modifiziert nach Eibl et al. 2011a]

Single-Use-Bioreaktoren sowie geeigneten Sensoren und Single-Use-Pumpen erlaubt heute die Realisierung eines kompletten Single-Use-USP bis 2 m<sup>3</sup> Kulturvolumen (siehe auch Punkt 3.4). Während für Inokulumproduktionen die wellendurchmischten Bioreaktoren (Wave Bioreactor von GE Healthcare und Biostat CultiBag RM von Sartorius Stedim Biotech) dominieren und nicht mehr wegzudenken sind, werden für die Entwicklung und Produktion neuer proteinbasierter Biotherapeutika die gerührten Single-Use-Bioreaktoren (SUB) vorgezogen. Letztere gibt es mit Standard- oder Einwegensoren [Lindner et al. 2011] (siehe auch Punkt 3.6) ausgerüstet bis zum Benchtopbereich mit rigiden Kunststoffkesseln (z.B. Mobius CellReady, UniVessel SU, CelliGEN BLU) oder aber ab

Kulturvolumina von 4,5 L als flexible Beutel-(Bag) Systeme (S.U.B., Biostat CultiBag STR, XDR Bioreactor) mit Heizmanschetten oder temperierbaren Stahlcontainern, die den Bag fixieren und in Form halten [Eibl und Eibl 2009b].

Obwohl die zunehmende Implementierung von SUT für das USP auch die Entwicklung von SUS für das Downstream Processing (DSP) nach sich zog (Zentrifuge, Gefrier- und Tau-System, Abfüllsysteme, Tangential- und Tiefenfiltrationssysteme, Chromatographiesäulen, Membranadsorber), haben SUS im DSP noch nicht die Bedeutung erlangt wie im USP (siehe auch Punkt 3.5). Vielmehr stellt das DSP und hier vor allem die Chromatographie, die bei vorgepackten und sanitisierten Säulen („Plug and Play“) auf 20 L beschränkt ist, aktuell die obere Grenze dar [Blackwell 2010]. Limitationen von SUS 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 [Jenke 2007], die Größenbegrenzung, die erhöhten Kosten für das Verbrauchsmaterial, die fehlende Standardisierung bzw. Kategorisierung, die Lieferantensicherheit und die noch mangelnde Sensortechnik in Verbindung mit der Automatisierung zu nennen. Schließlich erfordert die erfolgreiche Implementierung von SUT auch Veränderungen und neue Ansätze bei der Anlagenrealisierung, der Mitarbeiterschulung, der Qualitätssicherung und Abläufen der Produktion (siehe auch Punkt 3.3), die bereits in der Planungsphase beginnen [Sinclair 2009].

Nichtsdestotrotz erlauben die auf dem Markt verfügbaren SUS und SUT bei richtigem Einsatz und richtiger Handhabung kleinere, billigere, grünere, sicherere und schnellere Entwicklungen sowie Produktionen [Ott 2011]. 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 USP-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. Die Mehrheit der Biotherapeutikaproduzenten (vor allem Lohnhersteller) wendet hier SUS, wo immer möglich, an. Im deutschsprachigen Raum sind das u. a. Baxter Österreich, Boehringer Ingelheim, Merckle-Biotec, 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 SUS arbeiten, geplant. Hier werden Produktionsanlagen des geschlossenen Typs (wo die SUS entsprechend der Reihenfolge der einzelnen Prozessschritte vorgefertigt und miteinander verbunden werden sowie die Möglichkeit des freien Abfließens bzw. der hydrostatische Druck für den Transport der Ausgangsmaterialien, Zwischen- und Endprodukte von einem Prozessschritt zum nächsten genutzt werden) und Produktionsanlagen mit Stationsbetrieb (wo Ausgangs-

materialien-, Zwischen- und Endprodukte durch fahrbare Container von einem Prozessschritt zum nächsten transportiert werden) unterschieden [Peuker und Eibl 2011].

Diesem Trend tragen auch die in Tabelle 1 aufgeführten, global operierenden Entwickler und Hersteller von SUS mit ihren Produkten Rechnung. Von ihnen haben GE Healthcare, Merck Millipore und Sartorius Stedim Biotech gegenwärtig das größte Portfolio. Im deutschsprachigen Raum ist Sartorius Stedim Biotech mit seinen Forschungs- und Entwicklungs- sowie Produktionsstätten in Göttingen (Deutschland) und Tagelswangen (Schweiz) im Single-Use-Bereich führend.

**Tabelle 1:** Übersicht ausgewählter Entwickler und Hersteller von SUS (weltweit, alphabetisch geordnet)

Firma	Homepage	Single-Use-Produkte
Aber Instruments	<a href="http://www.aber-instruments.co.uk">www.aber-instruments.co.uk</a>	Sensoren
AC Engineering	<a href="http://www.acengineering.co.il">www.acengineering.co.il</a>	Pumpen
Adolf Kühner AG	<a href="http://www.kuhner.com">www.kuhner.com</a>	Bioreaktoren, Inkubationsschüttler für Single-Use-Bioreaktoren
Advanced Scientifics	<a href="http://www.advancedscientifics.com">www.advancedscientifics.com</a>	Bags, Container, Connectoren, Filter, Abfüllsysteme, Probenahme-systeme, Schlauchschweißgeräte
AmProtein	<a href="http://www.amprotein.com">www.amprotein.com</a>	Bioreaktoren
Applikon Biotechnology	<a href="http://www.applikon-bio.com">www.applikon-bio.com</a>	Bioreaktoren
ATMI Life Sciences	<a href="http://www.atmi.com">www.atmi.com</a>	Bags, Mischer, Bioreaktoren
Bayer Technology Services	<a href="http://www.bayertechnology.com">www.bayertechnology.com</a>	Mischer, Bioreaktoren
Bosch Pharma	<a href="http://www.boschpackaging.com">www.boschpackaging.com</a>	Dosier- und Abfüllsysteme
C-Cit	<a href="http://www.c-cit.ch">www.c-cit.ch</a>	Sensoren
CeLLution Biotech	<a href="http://www.celltainer.com">www.celltainer.com</a>	Bioreaktoren
Charter Medical	<a href="http://www.chartermedical.com">www.chartermedical.com</a>	Bags
Cole-Parmer	<a href="http://www.coleparmer.de">www.coleparmer.de</a>	Sensoren
Corning Life Sciences	<a href="http://www.corning.com">www.corning.com</a>	Platten, Flaschen, Kulturschalen, Arbeitsutensilien für Routinearbeiten in Zellkulturlaboren
Eppendorf	<a href="http://www.eppendorf.com">www.eppendorf.com</a>	Bioreaktoren, Arbeitsutensilien für Routinearbeiten in Zellkulturlaboren
ExcellGene	<a href="http://www.excellgene.com">www.excellgene.com</a>	Arbeitsutensilien für Routinearbeiten in Zellkulturlaboren, Bioreaktoren

Firma	Homepage	Single-Use-Produkte
Finesse Solutions	<a href="http://www.finesse.com">www.finesse.com</a>	Sensoren, Anlagensteuerungen, Bioreaktoren
Fogale Biotech	<a href="http://www.fogalebiotech.com">www.fogalebiotech.com</a>	Sensoren
Fluorometrix	<a href="http://www.fluorometrix.com">www.fluorometrix.com</a>	Sensoren
GE Healthcare	<a href="http://www.gehealthcare.com">www.gehealthcare.com</a>	Bags, Container, Connectoren, Filter, Schläuche, Probenahme-systeme, Mischer, Bioreaktoren, Abfüllsysteme, Chromatographie-säulen, Plattformlösungen für USP und DSP, Schlauchschweißgeräte, Siegelautomaten
Gemue GmbH	<a href="http://www.gemue.de">www.gemue.de</a>	Membranventile
Gore	<a href="http://www.gore.com">www.gore.com</a>	Probenahmesysteme, Schläuche, Ventile, Einfrier-, Gefrier-trocknungsschalen
Hamilton Medical	<a href="http://www.hamilton-medical.com">www.hamilton-medical.com</a>	Sensoren
HyNetics	<a href="http://www.hynetics.com">www.hynetics.com</a>	Mischer
ICM Technologies	<a href="http://www.icmtechnologies.com">www.icmtechnologies.com</a>	Bags, Container
Infors AG	<a href="http://www.infors-ht.com">www.infors-ht.com</a>	Inkubationsschüttler für Single-Use-Bioreaktoren
JM Separations	<a href="http://www.jmseparations.com">www.jmseparations.com</a>	Bags, Schläuche, Manifolds, Mischer, Filter, Plattformlösungen für USP und DSP
Jobst Technologies	<a href="http://www.jobst-technologies.com">www.jobst-technologies.com</a>	Sensoren
Levitronix	<a href="http://www.levitronix.com">www.levitronix.com</a>	Pumpen
Meissner	<a href="http://www.meissner.com">www.meissner.com</a>	Bags, Bioreaktoren, Container, Filter
Merck Millipore	<a href="http://www.merckgroup.com">www.merckgroup.com</a>	Bags, Container, Connectoren, Filter, Schläuche, Probenahme-systeme, Mischer, Bioreaktoren, Inkubationsschüttler für Single-Use-Bioreaktoren, Abfüllsysteme, Plattformlösungen für USP und DSP
mp2-labs	<a href="http://www.mp2-labs.com">www.mp2-labs.com</a>	Bioreaktoren
Nalgene Labware	<a href="http://www.nalgenelabware.com">www.nalgenelabware.com</a>	Bags, Platten, Flaschen, Filter



Firma	Homepage	Single-Use-Produkte
Nestlé	<a href="http://www.nestle.com">www.nestle.com</a>	Bioreaktoren
Nunc Brand	<a href="http://www.nuncbrand.com">www.nuncbrand.com</a>	Platten, Flaschen, Schalen, Arbeitsutensilien für Routinearbeiten in Zellkulturlaboren
Ocean Optics	<a href="http://www.oceanopticsensors.com">www.oceanopticsensors.com</a>	Sensoren
Pall	<a href="http://www.pall.com">www.pall.com</a>	Mischer, Bags, Bioreaktoren, Connectoren, Filter, Abfüllsysteme, Plattformlösungen für USP und DSP
PBS Biotech	<a href="http://www.pbsbiotech.com">www.pbsbiotech.com</a>	Bioreaktoren
PendoTECH	<a href="http://www.pendotech.com">www.pendotech.com</a>	Sensoren
PreSens	<a href="http://www.presens.de">www.presens.de</a>	Sensoren
Qattroflow	<a href="http://www.quattroflow.com">www.quattroflow.com</a>	Pumpen
Saint-Gobain	<a href="http://www.medical.saint-cobain.com">www.medical.saint-cobain.com</a>	Connectoren, Schläuche
Sartorius Stedim Biotech	<a href="http://www.sartorius-stedim.com">www.sartorius-stedim.com</a>	Bags, Container, Connectoren, Filter, Schläuche, Probenahme-systeme, Mischer, Bioreaktoren, Abfüllsysteme, Membranadsorber, Frier- und Tau-Systeme, Plattformlösungen für USP und DSP, Schlauchschweißgeräte, Siegelautomaten
Sebra	<a href="http://www.sebra.com">www.sebra.com</a>	Schlauchschweißgeräte
Schulte Bagtainer	<a href="http://www.schulte-bagtainer.de">www.schulte-bagtainer.de</a>	Container
SciLog	<a href="http://www.scilog.com">www.scilog.com</a>	Sensoren
Terumo	<a href="http://www.terumo-europe.com">www.terumo-europe.com</a>	Bags, Schlauchschweißgeräte, Siegelautomaten
Thermo Scientific	<a href="http://www.thermo.com">www.thermo.com</a>	Bags, Container, Mischer, Bioreaktoren
TPP	<a href="http://www.tpp.ch">www.tpp.ch</a>	Platten, Flaschen, Schalen, Arbeitsutensilien für Routinearbeiten in Zellkulturlaboren
TRACE Analytics GmbH	<a href="http://www.trace.de">www.trace.de</a>	Sensoren, Probenahmesysteme
Xcellerex	<a href="http://www.xcellerex.com">www.xcellerex.com</a>	Mischer, Bioreaktoren, Plattformlösungen für USP
3M Purification	<a href="http://www.solutions.3m.com">www.solutions.3m.com</a>	Filter

Innerhalb der Branche der Entwickler und Hersteller von SUS ist sehr viel Bewegung. Vereinzelt kommen neue Akteure auf den Markt. Es wird jedoch angenommen, dass es innerhalb der Vielzahl der Hersteller in den nächsten Jahren eine Konsolidierung geben wird. Im Vorteil sind diejenigen Firmen, die eine breite Produktpalette haben und dem Anwender im Rahmen des Gesamtprozesses vielseitige Unterstützung garantieren können.

Forschungsaktivitäten in Verbindung mit SUT beschreiben Arbeitsgruppen akademischer Einrichtungen aus Deutschland (Leibniz Universität Hannover, Technische Universität Magdeburg) und der Schweiz (École Polytechnique Fédérale, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften) seit Anfang 2000. Es handelt sich vor allem um Bioreaktor- und Sensor- sowie Prozessentwicklungen und damit verbundene Applikationen für tierische und humane Zellen.

Während seit sechs Jahren die Bio-Process Systems Alliance (BPSA, [www.bpsalliance.org](http://www.bpsalliance.org)) die Entwicklung und Anwendung der SUT wie auch die Ausbildung damit für den englischsprachigen Raum unterstützt und anleitet, fehlt im deutschsprachigen Raum trotz der vielen Aktivitäten in Industrie und Akademie eine solche Koordinationsstelle. Mit diesem Hintergrund wurde im Frühling 2010 der temporäre Arbeitskreis (TAK) „Single-Use-Technologie in der biopharmazeutischen Produktion“ aus dem Arbeitsausschuss „Bioprozesstechnik“ der DECHEMA gegründet.

## 2. TAK „SINGLE-USE TECHNOLOGIE IN DER BIOPHARMAZEUTISCHEN PRODUKTION“

Zum TAK gehören gegenwärtig 64 Fachkolleginnen und Fachkollegen aus 37 Unternehmen und 12 akademischen Einrichtungen aus Deutschland, Belgien, der Schweiz und Österreich. Entsprechend einer vorgenommenen Analyse zu akuten Problemstellungen und Zukunftsperspektiven der SUT erfolgte eine Organisation der TAK-Mitglieder in den nachfolgend aufgeführten sieben Arbeitsgruppen (AG):

- » AG Werkstoffe und ihre Eigenschaften, Qualifizierung und Validierung
- » AG Komponentenharmonisierung und Logistik
- » AG Projektierung
- » AG Bioverfahrenstechnik USP
- » AG Bioverfahrenstechnik DSP
- » AG Bioverfahrenstechnik Sensoren
- » AG Neue Anwendungsfelder für Single-Use-Systeme

Prioritäre Ziele des TAK „Single-Use-Technologie in der biopharmazeutischen Produktion“ sind die Förderung der SUT und die Erfassung der hier laufenden Aktivitäten in den Bereichen Forschung, Fertigung und Anwendung in den deutschsprachigen Ländern. Darüber hinaus hat die Standardisierung von SUS und SUT oberste Priorität. Das in den Arbeitsgruppen erarbeitete Statuspapier soll die aktuellen Möglichkeiten und Grenzen von SUS in der biopharmazeutischen Produktion (anwender- und herstellerseitig) aufzeigen sowie darüber hinaus den notwendigen Handlungsbedarf auf diesem Gebiet im deutschsprachigen Raum spezifizieren.

### 3. BEITRÄGE DER ARBEITSGRUPPEN

#### 3.1. AG Werkstoffe und ihre Eigenschaften, Qualifizierung und Validierung

**T**rotz der breiten Anwendung und Akzeptanz von SUS in biopharmazeutischen Produktionsprozessen wird ihr Anwender bei deren Einführung gegenwärtig mit den in Box 1 aufgeführten, neuen Problemstellungen konfrontiert. Sie rühren vor allem vom Material und der damit verbundenen Qualifizierung und Validierung von SUS bzw. der damit realisierten Prozesse her. So beschreiben die Arzneimittelbücher zwar Tests für Polymere (EP: 3.1.x, USP<87>, USP <88>, USP <381>oder USP <661>), doch stellen diese Screeningtests dar. Es wird aber nicht auf alle Polymere in den Arzneimittelbüchern eingegangen, aus denen SUS bestehen können.

#### **AKTUELLE PROBLEMSTELLUNGEN BEI DER EINFÜHRUNG VON SINGLE-USE-SYSTEMEN**

1. Es gibt keine definierten, pharma-grade Polymere.
2. Die Qualifizierungs-/Validierungsunterlagen der zahlreichen Hersteller sind unterschiedlich komplex und informativ. Häufig sind nicht alle eingesetzten Zusatzstoffe spezifiziert.
3. Es existieren keine regulatorischen Anforderungen für SUS für den biotechnologischen Gesamtprozess, sondern höchstens für einzelne SUS (z.B. für Filter) und das Endprodukt. Demzufolge sind die Anforderungen in Behördeninspektionen für die einzelnen Produktionsstufen nicht definiert.
4. Eine ganzheitliche Betrachtung aller eingesetzten SUS für eine vollständige Beurteilung wird notwendig. Dazu gehören neben Bags und Filtern auch Schläuche, Schlauchverbinder, Membranen, etc.
5. Innerhalb der einzelnen klinischen Phasen ist dabei möglichst dieselbe SUT anzuwenden, um die Eignung dieser aufzuzeigen.
6. Generell ist wenig Erfahrung mit Risikoanalysen für SUS vorhanden.
7. Die Entwicklung bei den Basismaterialien (Kunststoffe) der SUS und deren Verarbeitung findet mit hohem Tempo statt.
8. Die Anforderungen an SUS können sehr unterschiedlich sein, je nachdem wie lange die Kontaktzeit mit dem SUS ist, wie kritisch einzelne extrahierbare Substanzen für den jeweiligen Prozess sein können oder wie oberflächenaktive Substanzen, z.B. Tween, eine Extraktion beeinflussen können.
9. Evaluierte, analytische Methoden mit Akzeptanzkriterien für Leachables und Extractables fehlen.

Box 1: Typische anwenderseitige Probleme bei der Einführung von SUS

Dem Anwender stellen die Zulieferer von SUS ein sauberes, zusammengebautes, funktionsbereites und steriles SUS zur Verfügung, was ein hohes Maß an Sicherheit im Produktionsprozess mit SUS voraussetzt. Die Produktionssicherheit müssen die Zulieferer in ihren Qualifizierungs-/Validierungsbroschüren zeigen. Die bei der Implementierung von SUS wichtigsten Aspekte sind in diesem Zusammenhang die Qualifizierung des Zulieferers, die SUS-Qualifizierung, die Sterilität und der Nachweis von Extractables/Leachables.

Die Hersteller von SUS liefern dem Anwender grundsätzlich Informationen zur Materialeignung und der Tauglichkeit des SUS für die jeweilige Anwendung (vergleiche Tabelle 2). Die regulatorischen Anforderungen an die Materialqualifizierung von SUS werden vom EU-GMP-Guide Part II, 21 CFR 211.65(a) und ICH (Q7A) festgelegt. Es gilt hier sicherzustellen, dass durch Wechselwirkungen (Extractables/Leachables, Adsorption, Neben- oder Abbauprodukte) zwischen dem Produkt und dem SUS die Qualität des herzustellenden Wirkstoffes/Arzneimittels nicht beeinflusst wird. Allerdings beziehen sich diese Vorgaben nicht auf den biotechnologischen Gesamtprozess, sondern auf das Endprodukt. Neben diesen gesetzlichen Anforderungen sind auch die Vorgaben der Arzneimittelbücher einzuhalten. Zur Untersuchung und Bewertung von extrahierbaren Substanzen können dabei je nach Anwendung die in Tabelle 3 zusammengefassten Veröffentlichungen herangezogen werden.

Schließlich übernimmt der Pharmazeutikahersteller mit der Entscheidung zur Einführung von SUS mehr Verantwortung. Der Pharmazeutikahersteller als Anwender von SUS muss nämlich aufzeigen, dass die gewählten Materialien unter den gegebenen Prozessbedingungen (Prozesslösung, Temperatur, Zeit, Druck, etc.) zu dem Zielprodukt definierter Qualität führen, was im Rahmen der Prozessvalidierung dokumentiert wird [Merseburger 2011]. Welche zusätzlichen Studien und Validierungen notwendig sind, sollte der Anwender durch einen risikobasierten Ansatz mit Hilfe der Qualifizierungs-/Validierungsunterlagen der Hersteller der SUS festlegen können.

Tabelle 2: Herstellerseitige Informationen über SUS im Überblick

Information zur	Spezifikation	Gültige Dokumente	Qualifizierungsgegenstand
Materialeignung	QS-System Zulieferer	ISO 9001 ff. oder alternatives System, das auf EC 2023/2006 basiert	Rohmaterialqualifizierung
	Daten zu extrahierbaren Substanzen des Rohmaterials	EP Kap. 3.1.x und USP <87>, <88>, <661> und <381>; EU 2002/72	
	Zertifikate zur Freiheit von TSE/BSE	EMA/410/01, Rev. 2 - Oktober 2003 (unter Berücksichtigung von EC 1774 / 2002; Annex VI Chapter III)	
	Konformität mit REACH	ECHA/PR/08/38-REV, einschließlich DEHP	
	Informationen zu BisPhenol A	Gesundheitsbehörde Kanadas: BisPhenol ist für kritische Anwendungen verboten	
	Allergene Substanzen		

Information zur	Spezifikation	Gültige Dokumente	Qualifizierungsgegenstand
Chemische Tests	Wassertests nach den Monografien für steriles Wasser	USP und EP	Qualifizierung des Produktes
	Extractables-Untersuchungen	Herstellerspezifisch	
	Chemische Kompatibilität	Herstellerspezifisch, in Anlehnung an ASTM D 543-06	
Physikalische Tests	Temperatur, Durchfluss, Druck, Gastransmission, physikalische Stabilität	Herstellerspezifisch	
Funktionstests	Stabilität nach Bedampfung und Gammabestrahlung	Herstellerspezifisch	
	Genauigkeit Anwendungsbereich: Druck, Durchfluss		
	Pfufung von Verbindungsfestigkeiten	HIMA Dokument; ASTM F-838-05	
	Bakterienbeaufschlagungstest, Lagerbeständigkeit	Herstellerspezifisch	
Hygiene	Bioburden	ISO 11737	
	Partikelabgabe	USP <788>, E.P. 2.9.19	
	Endotoxine	USP<85> and E.P. 2.6.14	
Verpackung	Primäre Verpackung (für Medizinprodukte)	ISO-11607-1	
Lagerstabilität	Reale Lagerversuche	Herstellerspezifisch	
	Tests unter beschleunigenden Bedingungen	Herstellerspezifisch in Anlehnung an ASTM F 1980-02	

Bemerkung: Die verwendeten Abkürzungen sind dem Abkürzungsverzeichnis (Punkt 6) zu entnehmen.

Tabelle 3: Veröffentlichungen zur Untersuchung und Bewertung von extrahierbaren Substanzen

Dokument	Titel
EMA	Guideline on Plastic Intermediate Packaging Materials
FDA	Guidance on Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics
Guidance for Industry	Q7A Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients
ICH Guideline Q8	Pharmaceutical Development
ICH Guideline Q6A	Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and Drug Products
PQRI	Safety Thresholds and Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products
PQRI (wird 2011 erlassen)	Thresholds and Best Practices for Parenteral and Ophthalmic Drug Products
BPSA	Recommendations for Testing and Evaluation of Extractables from Single-use Process Equipment
PDA (wird 2011 erlassen)	Technical Report on Single Use Systems

Bemerkung: Die verwendeten Abkürzungen sind dem Abkürzungsverzeichnis (Punkt 6) zu entnehmen.

### 3.2. AG Komponentenharmonisierung und Logistik

Dem rasant gestiegenen Marktbedarf an SUS für alle Bereiche eines biopharmazeutischen Produktionsverfahrens stehen unterschiedlichste Herstellprozesse der Kunststoffprodukte gegenüber. Während sich einfache Komponenten sehr gut in automatisierten Verfahren fertigen lassen (z.B. Spritzgießen, Extrusion, Schweißen), ist die Herstellung von komplexeren Systemen wie peripheren Single-Use-Elementen ein hochgradig manueller Prozess [Vanhamel und Masy, 2011]. Daher birgt das exponentielle Kapazitätswachstum ein erhöhtes statistisches Risiko auftretender Produktionsfehler, welche es zu reduzieren gilt.

Hersteller von SUS begegnen dem mit regulatorischen Vorschriften (z.B. PDA, ISO9001) zur Qualifizierung der Herstellprozesse. Weiterhin sind Methoden zur Qualitätssicherung zu etablieren, welche sicherstellen, dass keine Beschädigungen an Teilkomponenten auftreten, und dass Übergänge und Anschlüsse innerhalb eines Systemdesigns so miteinander verbunden sind, dass es nicht zu Leckagen und Unsterilitäten innerhalb der Baugruppe während des Gebrauchs kommt. Aktuell wird das sichergestellt, indem Verfahren wie die Zug- und Druckprüfung an den jeweiligen Übergängen (z.B. zwischen Schlaucholiven und aufgesetztem Schlauchanschlussstück) durchgeführt werden, und deren mechanische Befestigungen unter Zuhilfenahme von Fixierungen wie Kabelbinder, BarbLock® oder alternativ Schellen definiert ist. Auf diesem Weg wird eine Qualifizierungsmatrix geschaffen, die einer statistischen Prüfmaske entspricht und die Konformität eines Systems begründet. Bislang ist es allerdings nicht möglich, die korrekte Fertigung eines kompletten Systemdesigns verfahrenstechnisch zu belegen, indem korrelierte Messverfahren auf das komplexe Endprodukt angewendet werden und gleichzeitig die Integrität gegenüber äußeren Einflussfaktoren belegen.

Mittlerweile lässt sich am Markt ein steigender Bedarf an derartigen Prüfverfahren erkennen, welche sowohl hersteller- als auch anwenderseitig zum Einsatz kommen. Aufgrund der Tatsache, dass derartige Verfahren aktuell nicht zur Verfügung stehen, ist der anwenderseitige Einsatz von SUS in kritischen Produktionsschritten häufig limitiert. Das Risiko eines Fehlverhaltens des Systems (Leckage und damit verbundenen Kontamination des pharmazeutischen Produktes) geht mit dem Risiko des finanziellen Verlustes einher. Abhilfe kann hier ein Testverfahren schaffen, welches dem Anwender belegt, dass keine Verletzungen der Systemintegrität vor, während oder nach der Benutzung vorliegen. Insbesondere Prüfverfahren, die vor der eigentlichen Benutzung zum Einsatz kommen, sind von Interesse, da sie schon vorab sicherstellen, dass keine fehlerbehafteten Anlagenteile verwendet werden. Andererseits dürfen diese Verfahren weder die Kompatibilität der Bauteile beeinträchtigen, noch sind Aufwand und Kosten so zu beeinflussen, dass sich der eigentliche Einsatzgrund für SUS egalisiert.



In Anbetracht der Tatsache, dass solch eine Prüfung aktuell nicht vorliegt, kommt der korrekten Lagerhaltung der gefertigten und zumeist gammabestrahlten Endprodukte sowie einer funktionalen Transportsicherung eine hohe Bedeutung zu. So sind z. B. scharfkantige Gegenstände so zu verpacken, dass während des Transportes und der Lagerung keine umliegenden und angeschlossenen Komponenten (z. B. Beutel) beschädigt werden. Schon kleinste Verletzungen der Oberfläche können die Stabilität des Systems im späteren Gebrauch gefährden, und bilden dadurch sowohl ein sicherheitstechnisches als auch wirtschaftliches Risiko für den Anwender.

Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Verpackungsmaterialien den Ansprüchen an pharmazeutische Produktionsstätten und Reinräumen entsprechen müssen. So sind Schaumstoffe oder Pappmaschee weniger geeignet, da bei der Handhabung dieser Materialien Partikel freigesetzt werden können, was in Reinräumen oder Materialschleusen zu vermeiden ist. Weiterhin ist die chemische Kompatibilität der Werkstoffe zu prüfen, da häufig noch eine Oberflächendesinfektion während des Einschleusens des verpackten SUS zum Einsatz kommt. Neben den gewählten Materialien ist die Art und Weise der Verpackung zweckmäßig und leicht handhabbar zu gestalten.

Aus der Vielzahl an Arbeitsschritten, die notwendig sind, um prozessspezifische SUS zu konfektionieren, ergibt sich ein gesteigerter Dokumentations- und Zertifizierungsaufwand. Dabei haben Endanwender solcher Systeme im Rahmen ihrer Qualitätssicherung einen signifikanten Bedarf an Unterlagen zur Überwachung und Rückverfolgung der Bauteile sowie des Herstell-, Liefer- und Lagerverfahrens. Moderne Lösungen diese Rückverfolgung einem einzelnen System zuzuordnen, wie z. B. der Einsatz von sogenannten Radio Frequency Identification (RFID)-Chips haben sich bislang nicht durchgesetzt. Der Vorteil dieser RFID-Chips liegt darin, dass sie am System direkt angebracht, und alle produktrelevanten Daten darauf hinterlegt werden können. Allerdings muss es auch möglich sein, dass nicht nur der Fertiger sondern auch dritte Parteien (z. B. Sterilisierer, Spediteure, Lageristen etc.) auf den Chip zugreifen, ihn lesen und beschreiben können, und das im besten Falle ohne die Umverpackung zu öffnen. Bei der Handhabung dieser Daten sollten einheitliche Standards gesetzt werden, so dass Lieferant und Anwender problemlos zu den ausgetauschten Produkten über die entsprechende Technologie kommunizieren können, wobei Datenschutz- und Datensicherheitsbestimmungen zu respektieren sind. Letztlich wird dadurch sichergestellt, dass behördliche Anforderungen zur Prüfung und Dokumentation eines pharmazeutischen Produktionssystems erfüllt werden. Außerdem folgt eine solche Vorgehensweise dem eigentlichen Gedanken von SUS, unprofitable Arbeitsschritte zu reduzieren. Ein hohes Potenzial hierzu liegt in der Dokumentationsverwaltung sowie gegebenenfalls in der Aufklärung von Abweichungen, für die häufig die vorangegangenen produktbezogenen Prozesse aufgearbeitet werden müssen.

### 3.3. AG Projektierung

**A**ktuell wurden und werden bereits zahlreiche Projekte zur Installation von SUS im Bereich der pharmazeutischen Zellkultur im deutschsprachigen Raum umgesetzt. So wurden in Deutschland in den letzten 12 Monaten SUS im Umfang von mehrstelligen Millionenbeträgen allein durch die Firmen Hoffmann-La Roche und Rentschler implementiert. Folglich sind erfahrene Projektierungsfirmen und Lieferanten im deutschsprachigen Raum ausreichend vorhanden. Trotz allem ist die Anwendung von SUS in der Biopharmazie in Deutschland noch nicht so verbreitet wie in den USA. Vielmehr ist der breite Einsatz von SUS nur auf einige, international tätige Pharmafirmen beschränkt. Durch die begrenzte Zahl an Anwendern ist das Training der Kunden in der Regel Bestandteil der Projektierung, da viele Kunden SUS erstmals einsetzen. Herausforderungen im Bereich der Projektierung bestehen vor allem im Facility Layout, der Handhabung und Entsorgung.

#### **Facility Layout**

Die gewachsenen Anforderungen an die Qualität von Biopharmazeutika spiegeln sich auch im Design von Produktionsanlagen wider. Dieser Prozess wird neben den betrieblichen Auflagen vor allem durch die behördlichen getrieben und hat das potentielle Risiko der Verunreinigung des Wirkstoffes im Fokus. Dazu zählen in erster Linie verfahrenstechnische Maßnahmen, die sicherstellen sollen, dass der Produktionsprozess vollständig geschlossen verlaufen ist. Ist das nicht möglich, sind die Rahmenbedingungen so zu gestalten, dass ein potenzielles Kontaminationsrisiko minimiert oder ausgeschlossen wird. Durch den Multiproduktcharakter vieler Produktionsanlagen ist das Anlagendesign entsprechend auf den ungünstigsten Anwendungsfall ausgelegt, d. h. die Prozesssuiten für den USP- und DSP-Bereich sind gemäß Reinraumklassifizierung oftmals in ISO 8 bzw. 7 ausgeführt. Daraus 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.

Durch den verstärkten Einsatz von SUS, die in der Art so miteinander kombiniert werden, dass erweiterte, geschlossene Prozessbereiche entstehen, sind die Risikobetrachtungen, wie sie bei konventionellen Produktionsanlagen durchgeführt werden, neu zu bewerten. Durch die geschlossene Prozessfahrweise sind die bisherigen Reinraumanforderungen kritisch zu hinterfragen. Die Anwendung von lokalen Laminarflow-Einheiten in einer pharmakontrollierten Umgebung (CNC) oder das geschlossene Prozessieren in einer kontrollierten, aber nicht klassifizierten Umgebung, sind Ansätze, die beim Einsatz von SUS zur Diskussion stehen. Hierzu besteht Bedarf an wissenschaftlich verifizierten Arbeiten, die neue konzeptionelle Ansätze der Reinraumanforderungen beim Einsatz von SUS untersuchen. Außerdem stellen die Personal- und Materialflusskonzepte unter besonderer Berücksichtigung der SUT einen weiteren Untersuchungsgegenstand für die Anlagenge-

staltung dar. Häufig findet eine räumliche Trennung zwischen der Medienlagerung und -versorgung und der verfahrenstechnischen Grundoperation statt. Der Transfer über Reinraumgrenzen erfordert technische Lösungen für Schlauchdurchführungen, die zum Teil schon auf dem Markt erhältlich sind, wo aber noch erhebliches Entwicklungspotenzial besteht, vor allem in Hinblick auf Mehrfachdurchführungen.

## **Handhabung**

Der Einsatz von SUS ist meist mit der Durchführung vieler manueller Schritte bei der Anwendung verbunden. Generell ist der Automatisierungsgrad der Systeme geringer als der vergleichbarer klassischer Systeme. Dadurch ergibt sich die Aufgabe, diese manuellen Schritte anzuleiten, zu überwachen und zu dokumentieren. Somit haben die meisten Anwender Bedarf an einem preiswerten Codierungssystem von Einwegkomponenten, um z. B. durch Scannen der Komponenten eine Einbindung in Manufacturing Execution Systeme (MES) zu ermöglichen. Weiterhin besteht Bedarf an „intelligenten“ Einwegkomponenten, die z. B. Informationen zu Chargendaten, Montage, technische Daten integriert in die Einwegkomponenten enthalten.

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. Hier fehlt gegenwärtig eine sichere Methode und die dafür benötigten Geräte zum Vor-Ort-Test, da klassische Helium- und Wasserstoff-Lecktests bei Kunststoffen auf Grund der Permeabilität der Materialien für diese Gase kaum anwendbar sind.

## **Entsorgungskonzepte**

Zu einer erfolgreichen Implementierung von SUT in einen biopharmazeutischen Herstellungsprozess gehört auch die Sicherstellung der Entsorgung. Da es sich bei den SUS 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 SUS 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. Das kann über thermische oder chemische Verfahren erfolgen. Die Entsorgung der Kunststoffe erfolgt üblicherweise durch Verbrennung oder manchmal auch durch Deponierung [Baier, 2011].

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 SUT im Prozesseinsatz schmälern kann. Hier besteht ein großer Bedarf, der durch innovative Lösungen gedeckt werden muss. Die Konzepte für den Materialfluss von SUT müssen wie bereits im Punkt 1 erwähnt schon in der Planungsphase von Implementierungsprojekten mit SUS 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.

### 3.4. AG Bioverfahrenstechnik USP

**G**enerell umfasst das USP die Herstellung, Lagerung und Bereitstellung der Kulturmedien, die Inokulum- und Seedinokulumherstellung sowie die eigentliche Fermentation. Je nach Einteilungsphilosophie wird auch die Biomasseabtrennung nach der Fermentation dem USP zugeordnet. Zur Realisierung dieser Prozesse kommen die in Box 2 aufgelisteten, verfahrenstechnischen Grundoperationen zum Einsatz. Wie bereits im Punkt 1 beschrieben, existieren für die technische Umsetzung der Grundoperationen eine Vielzahl von SUS unterschiedlicher Anbieter. Sie unterscheiden sich hinsichtlich Größe, Wirk- und Mischprinzip sowie Instrumentierung und zeichnen sich durch eine definierte Fluidodynamik aus. Außerdem wird für verschiedene Anwendungsfälle, vor allem im Zellkulturbereich, eine möglichst scherarme Durchmischung bei gleichzeitig homogener Energieverteilung gefordert. 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 in unterschiedlicher Größe sowie Anzahl und Reihenfolge der Prozessschritte bereits für die Medienherstellung, die Fermentation und die Biomasseabtrennung.

#### **VERFAHRENSTECHNISCHE GRUNDOPERATIONEN (UNIT OPERATIONS) IM UPSTREAM PROCESSING**

- » Lagerung und Transport von Feststoffen
- » Lagerung und Transport von Flüssigkeiten
- » Lösen von Feststoffen und Flüssigkeiten
- » Filtration von Stoffgemischen
- » Homogenisieren von Flüssigkeiten
- » Suspendieren von Feststoffen
- » Dispergieren von Tropfen und Gasblasen
- » Stofftransportprozesse zur Erzielung von Phasengrenzflächen
- » Wärmetransportprozesse

**Box 2:** Übersicht typischer verfahrenstechnischer Grundoperationen im USP bei der Biopharmazeutikaproduktion

Zur Probenahme, zum Verteilen, Lagern und Transportieren werden 2- und 3-dimensionale Kunststoffbeutel (2D-, 3D-Bags) und sogenannte Tank Liners als Einzelsysteme oder als Manifolds (Mehrfachverteilsysteme) in der Größenordnung von 50 mL bis zu 3.000 L verwendet. Die Bags sind entsprechend ihres Verwendungszweckes oder kundenspezifischer Wünsche mit entsprechenden Ports, Verbindern, Schläuchen, Filtern und Sensoren bestückt. Feststoffe können mittels spezieller Pulverbags, die entsprechend große Öffnungen haben, prozessiert werden. Zum

sicheren Transportieren werden Bag-Handling-Systeme in Form von Schalen, Wannen, Racks und Transportcontainer vorteilhaft genutzt. Größere Bagsysteme werden generell in Containern oder Aufnahmewannen eingebracht und fixiert. Es gibt solche Systeme stapel- und faltbar aus Kunststoff oder Edelstahl [Riesen und Eibl 2011].

Zum Lösen, Mischen und Kultivieren werden Single-Use-Mischer (SUM) [Werner et al. 2011] und SUB [Eibl et al. 2011b] verwendet. SUM gibt es gegenwärtig bis 5.000 L und SUB bis 2.000 L in Bagauführung sowie als rigide Kunststoffsysteme im Benchtop-Maßstab bis 14 L. Die Vielfalt in Form und Größe des Kultivierungscontainers, dem Leistungseintrag, der Instrumentierung, den Misch- und Rührorganen sowie Wellenabdichtungen und ihren Einbauvarianten bedingt die zahlreichen Varianten der auf dem Markt verfügbaren SUM und SUB. Eine Systematisierung dieser Systeme ist analog zu ihren konventionellen Gegenspielern unter Verwendung der Art und Weise des Leistungseintrages, nämlich mechanisch, hydraulisch und pneumatisch (Abbildung 2) sowie hybrid (Kombination von mechanischem und pneumatischem Energieeintrag, nicht dargestellt) möglich. Zur Medium- und Gasfiltration, Biomasserückhaltung und Biomasseabtrennung werden Single-Use-Filtersysteme im USP verwendet (vergleiche Tabelle 4).

Tabelle 4: Single-Use-Filtersysteme

Single-Use-Filtersystem	Technische Angaben (min. und max. pro Capsule bzw. Single-Use-Einheit)
Filterkartusche	0.02 bis 3.3 m <sup>2</sup>
Tiefenfilter	0.0025 bis 2 m <sup>2</sup>
Mikrofiltrationssystem (Abscheidungsrate in µm)	0.06 bis 3.5m <sup>2</sup> (0,65 µm)
Ultrafiltrationssystem (MWCO in kDa)	0.001 bis 3.5m <sup>2</sup> (10 bis 30 kDa)
Spinfilter (Maschenweite in µm)	0.031 m <sup>2</sup> bis 0.851 m <sup>2</sup> (10 µm)

Bemerkung: Die Filterfläche kann durch Parallelisierung erweitert werden.

Außerdem stehen Single-Use-Zentrifugen (max. 120 L min<sup>-1</sup>, max. Volumen 3.000 L) sowie zur Förderung der Medien Single-Use-Schlauchquetschpumpen bis 4.000 L min<sup>-1</sup>, 4-fach Kolbenmembranpumpen bis 4.000 L min<sup>-1</sup> und magnetschwebende Single-Use-Zentrifugalpumpen bis 8.400 L min<sup>-1</sup> zur Verfügung.

Technische Grenzen für den Einsatz der SUT im USP ergeben sich aus den Konstruktionsmaterialien (Kunststoffen) an sich. 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 herstellereitig 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.

Problematisch sind auch alle verfahrenstechnischen Aufgabenstellungen mit SUS, die einen Leistungseintrag größer  $100 \text{ W m}^{-3}$  erfordern und bei denen mit Druck- und Temperaturgradienten gearbeitet werden muss. Das gilt insbesondere für viskose Stoffsysteme, Suspensionen mit erhöhtem Feststoffgehalt und thermisch zu behandelnde Medien.

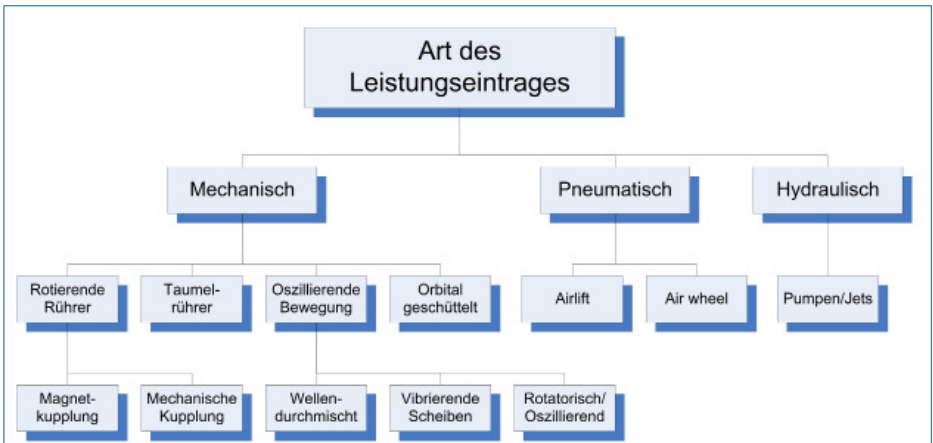


Abbildung 2: Kategorisierung von SUM und SUB

Ein großes Manko der auf dem Markt verfügbaren SUS für das USP ist ebenfalls ihre fehlende Kompatibilität und Vergleichbarkeit. Zwar existieren verschiedene Studien zur Charakterisierung von SUM und SUB und Vergleiche mit herkömmlichen Systemen, doch sind diese Ergebnisse in der Regel nicht zu verallgemeinern und nur schwer zu übertragen. Grund dafür sind die gewählten Versuchsbedingungen und unterschiedliche Bestimmungsmethoden für die charakteristischen verfahrenstechnischen Größen. Es fehlen: (1) ein vereinheitlichter Methodenkatalog zur Bestimmung von Misch- und Verweilzeit,  $K_L a$ -Werten, Leistungseinträgen, Scherbelastungen und Strömungsprofilen, welcher durch entsprechende Ringversuche abgesichert wird, (2) Kennzahlenmodelle zur Ermittlung des Stoff- und Wärmetransports und (3) Methoden bzw. Kriterien zur Charakterisierung der Suspensionsgüte in SUS.

Für SUS-Einsatzempfehlungen und -vorschläge zur Realisierung einer möglichst geometrisch ähnlichen Maßstabsübertragung sind geschlossene Maßstabsübertragungsketten abzuleiten. Hier sollten neben den klassischen, verfahrenstechnischen Untersuchungen, Computational Flu-

id Dynamics-(CFD) Simulationen durchgeführt, Standardprozesse (Misch-, Kultivierungs- und Filtrationsprozesse) definiert und die Resultate als Beurteilungskriterien herangezogen werden. Dringender Handlungsbedarf besteht aber auch bei Übertragungsmechanismen von nicht geometrisch ähnlichen SUS. Da im USP SUS nicht in allen Maßstäben zur Verfügung stehen oder anwendungsspezifisch nur in bestimmten Größen und geometrischen Formen verfügbar sind, ist eine Maßstabsübertragung von geometrisch ähnlichen SUS gegenwärtig nur in Einzelfällen und bei speziellen Anwendungen möglich. Für Übertragungen mit nicht geometrisch ähnlichen SUS (z. B. wellendurchmischte Systeme auf gerührte Systeme oder geschüttelte Systeme auf gerührte Systeme) fehlen wissenschaftliche Kriterien und Methoden. Die Übertragungen erfolgen zurzeit empirisch, sind langwierig und oft suboptimal. Hilfreich wären generell auch standardisierte Proben- und Sondenports an den SUS.



### 3.5. AG Bioverfahrenstechnik DSP

Die zur Herstellung biopharmazeutischer Produkte angewendeten, verfahrenstechnischen Grundoperationen im DSP beinhalten klassische Filtrationsverfahren und chromatographische Schritte, aber auch neuartige Technologien wie funktionelle Filtrations-/Adsorptionsverfahren 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 Lyophilisierung (Gefriertrocknung). Box 3 zeigt die während des Filtrations- bzw. chromatographischen Prozesses standardmäßig genutzten, verfahrenstechnischen Grundoperationen. Aus diesen Grundoperationen werden die zur Isolierung und Aufreinigung des Produktes geeigneten Methoden ausgewählt und zu einer Downstreamsequenz zusammengefügt. Die Reihenfolge und Qualität der verwendeten Methoden variiert dabei in Abhängigkeit der Eigenschaften und Anforderungen an die Qualität des zu reinigenden Produktes.

#### DOWNSTREAM PROCESSING

##### Filtration

- » Dead-End-Filtration
  - » *Sterilfiltration*
- » Tangential- (Crossflow) -Filtration
  - » *Ultrafiltration (UF)*
  - » *Diafiltration (DF)*
- » Funktionelle Filtration
  - » *Tiefenfilter*
  - » *Membranadsorber (Affinität, Ionenaustauscher)*

##### Chromatographie

- » Affinitätschromatographie
- » Kationen-Austausch-Chromatographie
- » Anionen-Austausch-Chromatographie
- » Hydrophobe Interaktions-Chromatographie
- » Mixed-Mode-Chromatographie

Box 3: Standardmäßig genutzte, verfahrenstechnische Grundoperationen im DSP

In Abbildung 3 ist exemplarisch die generische Sequenz zur Aufreinigung eines monoklonalen Antikörpers dargestellt.

Wie im USP kommen auch im DSP die Hauptvorteile beim Einsatz von SUT gegenüber klassischen, wiederverwendbaren Systemen zum Tragen: (1) niedrigere Investitionskosten, (2) verkürzte Entwicklungs- und Implementierungszeiten, (3) reduzierter Qualifizierungs- und Instandhaltungsaufwand und (4) erhöhte Flexibilität [Laukel et al. 2011]. Dennoch ist, verglichen mit der rasanten Entwicklung von SUS im USP bzw. deren lückenlos möglicher Anwendung, die Situation im DSP eine andere. Schon etabliert sind Einwegmischer bis 1.000 L sowie die Einwegversionen klassi-

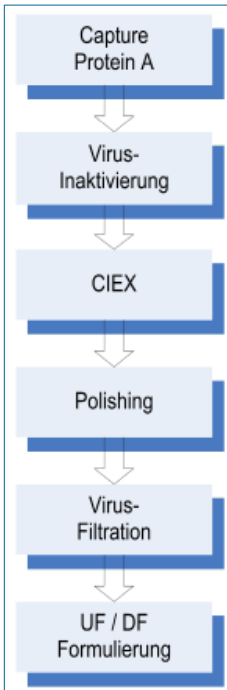


Abbildung 3: Typische Aufreinigung eines monoklonalen Antikörpers

scher Mikrofiltrations- (0,1/0,2 µm) und Tiefenfiltrationssysteme. Letztere erlauben sogar Zellabtrennungen in Hochzelldichtekulturprozessen (fed batch) mit tierischen Zellen bis zum 1.000 L Maßstab [Dudziak, 2010]. Alternativ sind Single-Use-Zentrifugen wie die UniFuge (Carr Centritech) zur Zellabtrennung verfügbar.

Nach wie vor ein Flaschenhals ist der Bereich der Ultrafiltration. Einwegsysteme für Tangentialfiltrationen sind von verschiedenen Herstellern nur bis 3,5 m<sup>2</sup> verfügbar [Laukel et al., 2011], weshalb im 1.000 L Maßstab der UF/DF-Schritt in mehreren Zyklen gefahren werden muss. Erste Tandem-Systeme können bis 7 m<sup>2</sup> realisiert werden [mündliche Mitteilung, T. Peuker, Sartorius Stedim Biotech 2011]. Bis heute fehlen Standardeinwegsysteme für die Virusfiltration. Hier bieten verschiedene Hersteller kundenspezifische Lösungen, wie z. B. die FlexAct oder die Mobius FlexReady-Lösung für die Virusfiltration an.

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. Momentan sind chromatographische Einwegsysteme mit Säulenvolumina bis 20 L verfügbar. Dadurch müssen Ernten im 1.000 L Maßstab in mehreren Zyklen aufgereinigt werden. Durch diesen Umstand kann die Säule zwar ökonomischer ausgenutzt werden, gleichzeitig wird durch die multiplen Zyklen die Standzeit und dadurch die Prozesszeit verlängert.

In der Chromatographie wird die weitere Entwicklung von SUS sehr stark von der Preisentwicklung der chromatographischen Medien abhängen. Für Prozesse mit häufigen Ernten und Aufreinigungen in Säulen mit hoher Lebensdauer sind chromatographische Einwegsysteme momentan keine attraktive Lösung. Es laufen Neuentwicklungen, die auf die Leistungssteigerung bei gleichzeitiger Kostenreduktion im Prozess in Verbindung mit SUT abzielen. Dazu gehören der Einsatz von „Mixed-Mode“-Sorbentien sowie sequentiellen Chromatographien, die durch neue Selektivitäten im Proteincapture und die effizientere Ausnutzung eine signifikante Reduktion des benötigten Chromatographiemediums ermöglichen.

Die eher zögerliche Entwicklung von SUS im Bereich der Chromatographie hat jedoch zur Entwicklung von alternativen Aufreinigungstechniken geführt. Funktionelle Filtrationen mit Membransorbentien kombinieren die Vorteile der Einwegfiltration mit funktionellen Oberflächen, vor allem mit Ionenaustauscher- und Affinitätseigenschaften [Wagner und Müller, 2011]. Die dynamischen Bindekapazitäten sind zwar signifikant niedriger als in der chromatographischen Säule, jedoch

kann mit deutlich höheren Flüssen im Adsorber gearbeitet werden. Membranadsorber werden von vornherein als SUS konzipiert.

Wie im USP sind auch im DSP die verfahrenstechnische Charakterisierung der SUS und ihre Standardisierung unzureichend. Gefragt sind kostengünstige Standardsysteme für die Produktaufarbeitung und -abfüllung.

### 3.6. AG Bioverfahrenstechnik Sensoren

Hinsichtlich Prozessmonitoring und Automatisierungstechnik verfügen SUS bis jetzt nicht über den vollen Funktionsumfang wie ihre traditionellen Gegenspieler. Sie sind sowohl mit *in situ* als auch *ex situ*-Sensoren ausgerüstet [Glindkamp et al. 2009]. *In situ*-Sensoren, welche im Kontakt mit dem Kulturmedium stehen, müssen sterilisierbar sein. *Ex situ*-Sensoren, welche eine nicht-invasive Überwachung ermöglichen, wie z. B. optische Sensoren, die durch ein transparentes Fenster oder klassische Sensoren, die im Probenahmestrom außerhalb der Sterilbarriere messen, brauchen das nicht. Tabelle 5 gibt einen Überblick über derzeit verfügbare Sensoren, deren Messprinzip und kommerzielle Verfügbarkeit sowie deren Integrationsgrad.

Tabelle 5: Derzeit verfügbare Sensoren

Gruppe	Sensorik	Verfügbarkeit	Integration in Single-Use-Systemen
Druck	piezo	++	ja
	physikalisch	++	-
	mechanisch	+	ja
Temperatur	elektrisch	++	ja
Strömung	optisch	++	ja
Leitfähigkeit	Impedanz	++	ja
pO <sub>2</sub>	optisch	+++	ja
	elektrochemisch	+	hinter Sterilfilter
CO <sub>2</sub>	optisch	+++	hinter Sterilfilter
	elektrochemisch	+	hinter Sterilfilter
pH	optisch	+++	ja
	elektrochemisch	++	ja
Glucose	amperometrisch	++	hinter Sterilfilter
Glucose, Lactat, Glutamin	amperometrisch	++	hinter Sterilfilter
Glucose, Lactat, Glutamat	amperometrisch	+	in situ
Methanol	optisch	+	hinter Sterilfilter
Ethanol	optisch	+	hinter Sterilfilter
Biomasse	Impedanz	++	ja

+++ mehrere Anbieter, ++ wenige Anbieter, + begrenzte Verfügbarkeit, - keine Informationen verfügbar

Verschiedenste Single-Use-Analytik (SUA) für messbare Prozessparameter befindet sich noch im Forschungs- und Entwicklungsstadium oder hat noch keine Marktreife. Sie ist teilweise zu spezifisch, zu aufwendig für den kostengünstigen Einsatz in SUS und erfüllt die wichtigsten Anforderungen, wie den ausreichenden Messbereich und die Genauigkeit, die USP Class VI und das Leachable/Extractable-Zertifikat, nur teilweise. Für die Messung von Standard-Prozessparametern wie Druck, Temperatur, und zum Teil auch pH und  $pO_2$  gibt es mehrere Systeme, die die o. g. wichtigsten Anforderungen erfüllen. Die Messbarkeit dieser Größen kann für SUS als möglich angesehen werden. In bestimmten Bereichen (z. B. Ausweitung der Messbereiche) sind noch Verbesserungen wünschenswert. Bei der Messung von weiteren Prozessparametern, wie Durchfluss, Leitfähigkeit und  $pCO_2$ , ist dagegen mit Einschränkungen zu rechnen. Es stehen nur sehr wenige Systeme zur Verfügung. Gleiches gilt für die Messung der Zellzahl und der Konzentration von Substraten, respektive Metaboliten, wie Glukose, Laktat, Glutamin und Glutamat.

Generell ist bei SUS alle *ex situ* messende Analytik einsetzbar. Neben der Abluftanalytik zur Messung von Größen, wie Ethanol, Kohlendioxid, Methan, Methanol und Sauerstoff, besteht die Möglichkeit der Entnahme von Probeströmen (zellfrei oder Proben mit Zellen) zur Weiterleitung an die entsprechenden Messgeräte sowie die Ankopplung optischer Messsysteme. Hier steht im Prinzip die ganze Auswahl an Geräten zur Verfügung, die es auch für herkömmliche Anlagen gibt. Einschränkend ist lediglich die Verbindung mit einer sterilen Probenahme bzw. die Ankopplung mit dem SUS.

Die einfachste Art zellfreie Proben zu entnehmen, ist über einen Sterilfilter mit einer angeschlossenen Schlauchleitung gegeben. Nachteilig sind hier allerdings, gerade in kleineren Systemen, das relativ hohe entnommene Probevolumen und die zeitliche Verzögerung der Messung. Vorteilhaft sind in diesem Fall miniaturisierte Sensoren, welche an eine entsprechende Mikrofluidik gekoppelt sowie SUS-nahe situiert sind und kontinuierlich, mit geringer Zeitverzögerung und geringem Medienverbrauch analysieren. Bei Filtrationssonden, die direkt in den Behälter eintauchen, treten diese Probleme nicht auf. Allerdings wurden diese Systeme für herkömmliche Anlagen entwickelt und stehen als Single-Use-Version noch nicht zur Verfügung. Für die Entnahme von Proben mit Zellen sind verschiedene SUS vorhanden. Allerdings können hier meist nur wenige Proben entnommen werden und der Vorgang der Probenahme ist kaum automatisierbar.

Optische Messsysteme (IR- und Fluoreszenz-Spektren) sind prinzipiell auch für die Messung der Zellzahl und der Konzentration von Substraten und Metaboliten geeignet. Sie können in SUS großtechnisch noch nicht eingesetzt werden, da u.a. die erforderlichen optischen Fenster in den Systemen fehlen.

Aufgrund von unterschiedlichen Messprinzipien, des Fehlens von Standardports für *in situ*-Sensoren sowie standardisierten mechanischen Schnittstellen, um *ex situ*-Sensoren ohne Medienkontakt

an die Peripherie von SUS reproduzierbar zu positionieren, ist eine einfache Anbindung von Sensoren an SUS schwierig. Hierdurch wird ein Tausch oder Wechsel des Fabrikats nahezu unmöglich. Die Entwicklung und Integration eines Standardports würde es ermöglichen, dass der Hersteller eine Anschlussstelle in den Bag integriert, die es erlaubt, Sonden mit definiertem Design in SUS mit und ohne Kontakt zum Medium mit reproduzierbarer und mechanisch stabiler Positionierung einzubauen. Diese Integration des Standardports kann vom Hersteller validiert werden. Wenn die Größe und Geometrie sowie das Material des Portes festliegen, könnten die Sondenhersteller ihre Konstruktionen darauf abstimmen, so dass eine schnelle und sichere Implementierung über diesen Port gegeben ist. Das Patent US 8,008,065 beschreibt einen Port, der beispielsweise die oben genannten Anforderungen erfüllen kann [Selker et al. 2011]. Auch ist die Schaffung einer einheitlichen Schnittstelle von Sensor und Gesamtsystem ein dringendes Anliegen, um dem Nutzer alle Messdaten, aber auch die sensorspezifischen Daten, wie z. B. letzte Kalibrierung, Fehlermeldungen etc. zur Verfügung stellen zu können.

#### **DEFINITIONS- UND ENTWICKLUNGSBEDARF**

- » Identifikation relevanter Messgrößen und -orte
- » Festlegung von Prozessgrenzen
- » Auswahl geeigneter, skalierfähiger Messprinzipien (z. B. Sensor, Zuführung)
- » Single-Use-Probenahmesysteme und Anbindung an Diagnostik
- » Erhöhung von Sensitivität und -selektivität von Single-Use-Sensoren
- » Kalibrierung der Sensoren für *in situ*-Anwendungen
- » Sterilisierbarkeit durch Bestrahlung optimieren (Beständigkeit)
- » Standardisierung der elektrischen Schnittstelle pro Sensorprinzip

#### **Box 4: Definitions- und Entwicklungsbedarf**

Schlussendlich lassen sich basierend auf den nationalen und internationalen Roadmaps und Strategieempfehlungen [NAMUR und VDI/VDE-GMA 2009, AMA 2010, Biotechnologie 2020plus 2011] die dargestellten Anforderungen an Sensor- und Analysensysteme für Single-Use-Applikationen ableiten (Box 4). Im Zentrum der Aktivitäten steht die Entwicklung und Evaluierung einer möglichst umfassenden, sensorbasierten Prozessintelligenz für die einzelnen Anwendungen.

### 3.7. Neue Anwendungsfelder für Single-Use-Systeme

**E**s wird angenommen, dass die SUT für die Herstellung von proteinbasierten Therapeutika nicht in dem Maße weiterwachsen wird, wie das bisher der Fall war. Wie von verschiedenen Arbeitsgruppen vorgängig beschrieben, gilt es, die Standardisierungsbestrebungen für SUS zu forcieren, ihre Limitationen zu überwinden und sie weiterzuentwickeln. Das betrifft vor allem den Sensorbereich im Hinblick auf prozessrelevante Messgrößen sowie den Maßstab von Apparaten und Anlagen für die Tiefen-, Ultra- und Diafiltration, die Chromatographie und die Abfüllung. Gelingt das, kommen wir der kompletten Single-Use-Produktionsanlage und damit der „Single-Use-Factory in der Box“ immer näher.

Entscheidend werden die Biotherapeutika der jüngsten Generation jedoch die Weiterentwicklung der SUT prägen. Letztere werden mit autologen (körpereigen) oder allogenen (körperfremden), humanen Stammzellen oder T-Zellen hergestellt und werden deshalb auch als Zelltherapeutika bezeichnet. Diese Zelltherapeutika gelten als wichtiges Produktsegment der personenspezifischen Medizin und umfassen die seit Anfang der 90er Jahre auf den Markt drängenden Produkte für die regenerative Medizin (Haut, Knorpel und Knochen) [Buckler 2011] sowie das erste personenspezifische Vakzin, Sipuleucel-T von Dendreon Corporation ([www.dendreon.com](http://www.dendreon.com)), was im April 2010 die FDA-Zulassung zur Therapie von Prostatakrebs erhielt. Mehr als 200 Zelltherapeutika für die Transplantationsmedizin, Krebs- und Aids-Therapien befinden sich im Stadium der klinischen Erprobung [Shaw 2011]. 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 [Burger 2010]. SUS werden hier bedingt durch die Produkthanforderungen und -verwendung zum „Muss“.

#### **SUS für das USP, DSP und die Abfüllung bei der Herstellung von Zelltherapeutika**

So zeichnen sich die Herstellungsprozesse für Zelltherapeutika durch deutlich kleinere Kulturvolumina (gegenwärtig 1 bis 30 L) [Rios 2011] im USP aus. Für einige Stammzelltypen wie zum Beispiel mesenchymale Stammzellen ist außerdem zur Erhaltung ihrer biologischen Funktionen Adhärenz zu gewährleisten, womit die Perfusions- und Microcarriertechnologien wieder an Bedeutung gewinnen. Ein wesentliches Problem bei der Nutzung von Stammzellen stellt die Bereitstellung einer ausreichend großen Zellmenge dar. Stammzellen können bei der Vermehrung ihre Differenzierbarkeit (Multipotenz) verlieren. Für dieses gravierende Problem, dessen Lösung für die klinische Anwendung zellbasierter Therapien unabdingbar ist, müssen geeignete Kultivierungssysteme bereitgestellt werden. Hier wird auch die Entwicklung neuer Reaktorkonzepte auf der Basis von Trägermaterialien zur Bereitstellung einer ausreichend großen Oberfläche (z. B. Festbett, Drehbett) sowie deren Konfigurierung als SUS erforderlich sein. Unterschiede gibt es auch bei der

Produkternte (enzymatisch) und den nachfolgenden Aufarbeitungsschritten (Zentrifugation, Zellselktion, Waschen, Abfüllen, Kryokonservierung). Die Produktaufarbeitung zellbasierter Therapeutika zielt auf die Gewinnung bioaktiver Zellen, die der Patientin/dem Patienten entweder direkt via Infusion verabreicht oder aber vorgängig kryokonserviert werden.

Doch noch fehlen GMP-taugliche Plattformlösungen mit SUB, die die effiziente Expansion und/oder Differenzierung der finalen Zellprodukte erlauben. Entwicklungspotenzial gibt es ebenfalls bei der enzymatischen Produkternte und den nachfolgenden Aufarbeitungsschritten. Die bislang in zugelassenen Prozessen verwendeten Zentrifugenröhrchen und genutzte Ausrüstung stammen aus der Aufarbeitung von Blut [Brandenberger et al. 2011]. Sie sind für das DSP großer Mengen Zellkulturbrühe ungeeignet. Lösungen bedarf es auch beim Abfüllprozess und seiner Automatisierung sowie der Kryokonservierung im großen Maßstab.

Darüber scheinen neue Applikationen für die SUB 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. So bietet sich infolge des geringen Energiebedarfs und der weitgehenden Vermeidung von Reinigungs- und Sterilisationsprozessen für SUS z.B. in der Lebensmitteltechnologie die Möglichkeit der Dezentralisierung von Verarbeitungsprozessen an. Erste Konzeptstudien zum Einsatz von SUS bei einer günstigeren Milchverarbeitung direkt auf den Almen sind schon erfolgt (mündliche Mitteilung D. Eisenkrätzer, Hoffmann-La Roche 2011).

### **Herstellung mikrobieller Nischenprodukte mit SUB**

Für mikrobielle Produkte hat die SUT bisher hauptsächlich für Screeningapplikationen im mL-Scale Bedeutung. So werden 96er Mikroplatten, Deepwellplatten und Falcontubes für das Hochdurchsatzscreening von Stämmen, Konstrukten und Mutantenbibliotheken genutzt. Einer Anwendung in größeren Maßstäben stehen insbesondere die im Verhältnis zu den Kultivierungskosten hohen Kosten für die SUS, respektive ihrer Kultivierungscontainer, entgegen. Deshalb hat sich die SUT im Bereich der mikrobiellen Fermentation nur dort etabliert, wo Sicherheitsanforderungen einen entscheidenden Vorteil bieten (z. B. bei der Produktion von Pathogenen für inaktivierte Vakzine) oder kleine bzw. mittlere Mengen an Hochpreisprodukten bis 250 L herzustellen sind.

Eine Beschränkung innerhalb der SUB stellt – wie [Mikola et al. 2007] für einen wellendurchmischten Bioreaktor in einer Hefekultivierung zeigten – der limitierte Sauerstoffübergang und das Erreichen von Hochzellichten in mikrobiellen Prozessen dar. Doch wurden wellendurchmischte Einwegbioreaktoren, die ursprünglich für Kultivierungen mit tierischen Zellen konzipiert wurden, erfolgreich für fakultative Anaerobier (*Escherichia coli*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Erynia neoaphidis*) und ihre

Produkte (Immunmodulator, chiraler Baustein, biologisches Insektizid) [Eibl et al. 2009a] genutzt. Jüngste Untersuchungen (rekombinante Proteinproduktion mit *Escherichia coli*) belegen, dass sich in ihnen ebenso wie in gerührten Bagsystemen bei Einsatz von optimierten Feedingstrategien Hochzelldichten und maximale optische Dichten ( $OD_{600}$ ) zwischen 67 (Trockengewicht von  $25.5 \text{ g L}^{-1}$ ) und 141 (Trockengewicht von  $47 \text{ g L}^{-1}$ ) erreichen lassen [Glazyrina et al., 2010, mündliche Mitteilung G. Greller, Sartorius Stedim Biotech 2011]. Andererseits kann der Anwender heute auf speziell für Mikroorgansimenkultivierungen designte SUB wie den CELL-tainer (wellendurchmischer Bagbioreaktor) oder die mikrobielle Version des gerührten SUB von Xcellerex zurückgreifen, in dem OD's von 370 (Biotrockenmasse  $125 \text{ g/l}$ ) erreicht werden können [Galliher et al. 2011]. Verglichen mit der tierischen Zellkultur spielen Applikationen mit SUB im mikrobiellen Bereich heute jedoch noch eine untergeordnete Rolle. Da sich mit geringem Aufwand eine große Anzahl paralleler Kultivierungen mit SUB schnell realisieren lassen, empfehlen sie sich ebenfalls für die Kultivierung langsam wachsender Mikroorganismen (z. B. Streptomyzeten für die Produktion von Antibiotika und anderer Sekundärstoffe) und die Produktion von Plasmiden zur transienten Genexpression in Zellkulturen. Im letzten Fall werden mehrere  $\text{mg L}^{-1}$  Plasmid benötigt und die Zahl der Konstrukte wie auch der benötigten Produktmenge ist normalerweise hoch. Es ist anzunehmen, dass mit der Verfügbarkeit von geeigneten Fertigmedien, die die einfache Handhabung der SUB unterstützt, sowie weiteren mikrobiellen Versionen von SUB [Glaser 2011] die Bedeutung der SUS im mikrobiellen Bereich zukünftig zunehmen wird.

### **Produktionsverfahren mit Algen und SUB**

Direkt anwendbar sind die gängigen SUB für die Kultivierung heterotropher Algen zur Produktion von Sekundärstoffen und Fettsäuren. In einer Machbarkeitsstudie an der Technischen Universität Berlin wurde am Beispiel eines heterotrophen Dinoflagellaten gezeigt, dass disposable Systeme zur Entwicklung von Hochzelldichteprozessen vorteilhaft sind. In diesem Fall wurde ein Scale-up von 24er Deepwellplatten, über Ultrayield-Flaschen, sowie die Kultivierung im CELL-tainer und SBX-200 erfolgreich durchgeführt. Die Etablierung der disposablen Systeme brachte entscheidende Vorteile im Hinblick auf eine schnelle Prozessentwicklung [mündliche Mitteilung, P. Neubauer, TU Berlin 2011]. Ein wichtiger Aspekt in diesem Zusammenhang ist die Abhängigkeit mariner Mikroorganismen von einer hohen Salzkonzentration, insbesondere von Chloridionen. Standardstahlreaktoren korrodieren unter diesen Bedingungen, die realisierten Spezialbeschichtungen sind teuer und in gerührten Systemen nur mit sehr hohem Aufwand umsetzbar.

Die jüngsten Entwicklungen auf dem Gebiet der Leuchtdioden eröffnen für SUB und phototrophe Kulturen neue Perspektiven. Sartorius Stedim Biotech und Applikon haben die dritte Generation wellendurchmischer SUB entwickelt, die optional mit LED-Beleuchtung ausgerüstet sind. In wellendurchmischten Bioreaktoren der zweiten Generation wurden in der Vergangenheit bereits



Mikroalgen und Makroalgenzellkulturen an der Fachhochschule Anhalt kultiviert. Erwähnt werden sollen auch die Niedrigpreis-Single-Use-Folienbioreaktoren wie der Novagreen Bioreaktor ([www.novagreen-microalgae.com](http://www.novagreen-microalgae.com)) und der Vertigro Algenbioreaktor ([www.valcent.net](http://www.valcent.net)) für Gewächshäuser, die für Mikrolagen (Chlorella, Spirulina, Nannochloropsis, Scenedesmus, Chlamydomonas) verwendet werden.

### **SUB für die Herstellung von auf pflanzlichen Zell- und Gewebekulturen basierenden Produkten für den Pharma-, Food- und Kosmetikbereich**

Pflanzen bzw. deren Zell-(Suspensionskulturen) und Gewebekulturen (Wurzelkulturen wie Hairy Roots, filamentöses sowie meristematisches Gewebe und Embryokulturen) gelten als potente Produktionsorganismen für Nischenprodukte im Pharma-, Food- und Kosmetikbereich. Es handelt sich dabei vor allem um Sekundärmetabolite und Glykoproteine. Seit Mitte der 1990er Jahre werden bereits SUB für die genannten Produktexpressionen eingesetzt [Eibl et al. 2011b]. Inzwischen greifen die Anwender auf wellendurchmischte [Eibl et al. 2006, Werner et al. 2010] und gerührte Systeme [Eibl et al. 2011b], pneumatisch angetriebene Blasensäulen [Curtis 2004, Ziv 2005, Shaaltiel et al. 2007, Terrier et al. 2007], Reaktoren mit vertikal oszillierenden, perforierten Scheiben [Reichert 2011], Bettbioreaktoren [Sivakumar et al. 2010] und hybride Systeme [Ducos et al. 2009] bis maximal 400 L Kulturvolumen zurück (vergleiche Tabelle 6). Vor allem für den Food- und Kosmetikbereich wird Pflanzenzell- und Gewebekulturen eine zunehmende Bedeutung als Produktionsorganismen prognostiziert. Was momentan fehlt, sind speziell auf die Kulturbedürfnisse angepasste Bags, die auch das gewünschte Wachstum und eine homogene Produktion in nicht-Newtonschen Kulturbrühen bzw. Geweben bei Beibehaltung ihrer Integrität sicherstellen. Da für die zuletzt genannten Prozesse in der Regel keine GMP-Anforderungen gelten, stellt sich prinzipiell die Frage nach günstigeren Bags für solche Applikationen.

Tabelle 6: Erfolgreich eingesetzte SUB für Pflanzenzell- und Gewebekulturen

Reaktorkategorie	Reaktorname	Kulturvolumen [L]	Kulturtyp	Produkt
Wellendurchmischer SUB	Wave/BioWave/ BIOSTAT CultuBag RM	1-10	Suspensionskultur	Pharma/Kosmetik: Biomasse, Sekundärmetabolite, Antikörper
			Embryokultur	Food: Sekundärmetabolite
		10-100	Filamentöses Gewebe	Pharma: Rekombinante Proteine
	0.3-5	Hairy Roots	Pharma: Sekundärmetabolite, Antikörper	
	AppliFlex	5-10	Suspensionskultur	Food: Biomasse, Sekundärmetabolite
Gerührter SUB	Wave and Under-tow Bioreactor	10-100		Pharma: Antikörper
	Single-Use-Bioreactor	25		Kosmetik: Sekundärmetabolite
Single-Use-Reaktor mit vertikal oszillierender, perforierter Scheibe	Saltus Vibromix Bioreactor (ehemals bio-t-bag),	100		Food: Biomasse für Pflanzenzucht
Single-Use-Blasensäule	LifeReactor	1.5-5	Meristematisches Gewebe, Embryokultur	Kosmetik: Sekundärmetabolite
			Hairy Roots	Pharma: Biomasse, Sekundärmetabolite
	Plastic-lined Bioreactor	100	Suspensionskultur, Hairy Roots	Pharma: Rekombinante Proteine
	Slugg Bubble Bioreactor	10-70	Suspensionskultur	Food: Biomasse für Pflanzenzucht
Protalix Reactor*	400			Pharma: Rekombinante Proteine
Single-Use-Hybrid-Reaktor**	Box-in-Bag Reactor	5	Embryokultur	Food: Biomasse für Pflanzenzucht

\*basiert auf LifeReactor

\*\*Kombination eines statischen und eines dynamischen Systems mit mechanischem Energieeintrag

Bemerkung: Nähere Informationen zu den Bioreaktoren können [Eibl et al. 2009] sowie [Eibl et al. 2011b und 2011c] entnommen werden.

#### 4. AUS- UND WEITERBILDUNG ZUR ENTWICKLUNG UND DEM EINSATZ VON SINGLE-USE-SYSTEMEN

Im Ausbildungssektor werden SUS und SUT bisher nicht die Beachtung geschenkt, welche diese in der Praxis bereits erreicht haben. So setzen nur vereinzelt Einrichtungen (z. B. Fachhochschule Bielefeld, Fachhochschule Biberach, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften) SUS im Rahmen der Zellkulturtechnikausbildung auf Bachelorstufe ein. Das hängt mit Sicherheit damit zusammen, dass die praktische Ausbildung im Zellkulturbereich vom mL- bis Benchtop-Maßstab wegen der hohen Kosten auf wenige Einrichtungen in Deutschland (Leibnitz Universität Hannover, Universität Bielefeld, Technische Hochschule Hamburg Harburg, Fachhochschule Aachen, Fachhochschule Biberach, Fachhochschule Bielefeld, Fachhochschule Gießen Friedberg), der Schweiz (Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften) und Österreich (Universität für Bodenkultur Wien, Fachhochschule Krens) konzentriert ist. Außerdem treibt das Arbeiten mit SUS wegen der erhöhten Kosten für das Verbrauchsmaterial den Benchmark für die Studierendenausbildung in der Biotechnologie weiter in die Höhe. Dem steht der existierende Spardruck gegenüber, so dass die Nutzung der SUT nur durch die apparative bzw. materielle Unterstützung durch die Hersteller und Lieferanten von SUS möglich ist.

Im Rahmen der Masterausbildung „Master Life Sciences CH“ bietet die Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften einen insgesamt einwöchigen Kurs „SUT“ an. Neben Theorievorlesungen beschäftigen sich die Teilnehmerinnen und Teilnehmer in einer Projektarbeit mit der richtigen Auswahl von SUS und der Konzeption einer Pilotanlage zur Antikörperproduktion auf der Basis von Pflanzen-, Insekten- und Säugerzellen. Aktuell plant die Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften zusammen mit weiteren Mitgliedern des Swiss Biotechnet ([www.biotechnet.ch](http://www.biotechnet.ch)) und dem HAN BioCentre (Nijmegen) sowie der Fachhochschule von Arnheim und Nijmegen (Niederlande) eine Summerschool zum Thema „Mammalian cell-based upstream processing with standard and single-use bioreactors“.

Ebenfalls zusammen mit dem Swiss Biotechnet bietet die Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften seit 6 Jahren erfolgreich auf die Kundenbedürfnisse zugeschnittene oder allgemeine Weiterbildungskurse zum Einsatz von SUS in der Zellkulturtechnik an. Hierbei kommen die gängigsten auf dem Markt verfügbaren SUS unterschiedlicher Anbieter zum Einsatz. Ähnliche Weiterbildungskurse gibt es im deutschsprachigen Raum bisher nur in den Trainingszentren von Sartorius Stedim Biotech in Göttingen sowie GE Healthcare in München, wobei hier die Schulung mit den firmeneigenen Produkten im Vordergrund steht. Den Bedarf an Weiterbildungskursen zum Einsatz von SUB in Verbindung mit der Zellkulturtechnik hat auch die Europäische Gesellschaft für Tierische Zellkulturtechnik (ESACT, [www.esact.com](http://www.esact.com)) erkannt und in ihren Kurs „Animal cell techno-

logy“ als einen inhaltlichen Schwerpunkt integriert. Noch jung ist ebenfalls das Angebot der Firma Sourcin ([www.sourcin.com](http://www.sourcin.com)), die Multi-Media-Pakete für das Training mit SUT entwickeln möchte.

Zur Weiterbildung im Bereich SUT genutzt werden können aber auch internationale Konferenzen, die speziell für Fragestellungen zu dieser Problematik regelmäßig von der BPSA, der ISPE (International Society for Pharmacoepidemiology, [www.ispe.org](http://www.ispe.org)), Informa Life Sciences ([www.ibclifesciences.com](http://www.ibclifesciences.com)), Pharma IQ ([www.pharma-iq.com](http://www.pharma-iq.com)) und der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften sowie dem Swiss Biotechnet organisiert werden. Für den deutschsprachigen Raum veranstaltet Concept Heidelberg ([www.concept-heidelberg.de](http://www.concept-heidelberg.de)) jährlich eine Single-Use-Konferenz für Anwender. Generell sind Vorträge und Poster zu Fragestellungen in Verbindung mit SUT heute auf allen Konferenzen vertreten, wo es um die Entwicklung und Produktion von Biotherapeutika geht.

## 5. SCHLUSSFOLGERUNGEN FÜR DIE ZUKÜNFTIGEN AKTIVITÄTEN DES TAK

In der biopharmazeutischen Produktion mit tierischen Zellen hat die SUT große nationale und internationale Bedeutung erlangt. Das vorhandene Equipment dazu ist mit Ausnahme der Sensortechnik und Chromatographie bis zum Produktionsmaßstab ausreichend, jedoch noch nicht ausgereift. Die größte Schwachstelle, die alle Prozessstufen und die dafür notwendigen SUS betrifft, ist die fehlende Standardisierung und Vergleichbarkeit der Systeme untereinander, aber auch mit den traditionellen Systemen. Design- und Anwendungsempfehlungen für SUS bzw. Single-Use-Produktionsanlagen und Risikoanalysen für SUS gibt es bisher kaum. Außerdem fehlen Tests zur Prüfung der Integrität von SUS vor ihrem Einsatz, regulatorische Anforderungen für SUS für den biotechnologischen Gesamtprozess und evaluierte, analytische Methoden mit Akzeptanzkriterien für Leachables und Extractables. Trotzdem zeichnet sich eine Anwendung der SUT über den biopharmazeutischen Bereich (Food, Kosmetik) und die tierische Zellkulturtechnik (Mikroorganismen, Pflanzenzell- und Gewebekulturen, Algen) hinaus ab. Der Einsatz von SUT für die Herstellung von Niedrigpreisprodukten erfordert aber kostengünstige SUS.

Der TAK „Single-Use-Technologie in der biopharmazeutischen Produktion“ mit seinen sieben Arbeitsgruppen wird deshalb seine zukünftigen Aktivitäten auf die nachfolgend aufgeführten Schwerpunkte konzentrieren:

- » die Erarbeitung einer Empfehlung zur Kategorisierung von Bags (2D, 3D) unterschiedlicher Qualität in Abhängigkeit des Einsatzes und unterschiedlichen Anforderungen (Lead: AG Werkstoffe und ihre Eigenschaften, Qualifizierung und Validierung)
- » die Aufstellung eines Methodenkatalogs zur bioverfahrenstechnischen Charakterisierung von SUB und SUM, die Definition von Scale-up-Kriterien für geometrisch ähnliche sowie nicht ähnliche SUB, die Planung und Realisierung von Ringversuchen zur Datenaquisition und -bewertung (Lead: AG Bioverfahrenstechnik USP)
- » die Konzeption und Verifizierung eines Katalogs mit Methoden zur verfahrenstechnischen Charakterisierung von SUS für das DSP (Lead: AG Bioverfahrenstechnik DSP)
- » die Entwicklung von Konzepten zur Intensivierung des DSP (dynamische Bindungskapazitäten und Crossflow Performance) unter Einsatz von SUT mit dem Ziel der Minimierung des Arbeitsvolumens und der Herstellungskosten (Lead: AG Bioverfahrenstechnik DSP)
- » die Evaluation vorhandener, teils patentrechtlich geschützter Ports bzw. Entwicklung eines neuen Standardports für *in situ*-Sensoren sowie standardisierten, mechanischen Schnittstellen für *ex situ*-Sensoren für SUS (Lead: AG Bioverfahrenstechnik Sensoren)
- » die Erarbeitung eines Vor-Ort-Tests zur Prüfung der Integrität von SUS (Lead: AG Komponentenharmonisierung und Logistik)
- » der Erstellung von Layout-Empfehlungen für Single-Use-Produktionsanlagen unter Berücksichtigung

sichtigung der geschlossenen Prozessfahrweise sowie Personal- und Materialflußkonzepten (Lead: AG Projektierung)

- » der Kategorisierung von geeigneten Einwegbioreaktoren für Mikroorganismen, Pflanzenzell- und Gewebekulturen, Algen und Stammzellen auf der Basis verfahrenstechnischer Kenndaten und Kultivierungsergebnisse sowie die Entwicklung günstiger auf SUS basierender Technologien für den Kosmetik- und Foodbereich (Lead: AG Neue Anwendungsfelder für SUS)

Wünschenswert wäre in diesem Zusammenhang eine öffentliche Förderung der sowohl grundlagen- als auch anwendungsorientierten Fragestellungen. Als nächsten Aktionspunkt plant der TAK mit der Chemie Ingenieur Technik (CIT) für 2013 ein Themenheft „Single-Use-Technologie in biotechnologischen Prozessen“ mit Berichten aus den Arbeitsgruppen und aktuellen Fachbeiträgen.

## 6. ABKÜRZUNGEN

AD	Analog-Digital	PESU	Polyethersulfon
AG	Arbeitsgruppe	PP	Polypropylen
ASTM	American Society for Testing and Material	PQRI	Product Quality Research Institute
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy	PTFE	Polytetrafluorethylen
BPSA	BioProcess Systems Alliance	PVC	Polyvinylchlorid
CA	Celluloseacetat	pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxid-Partialdruck
CFR	Code of Federal Regulation	pO <sub>2</sub>	Sauerstoff-Partialdruck
CIEX	High-resolution cation exchange chromatography	QS	Qualitätssicherung
DF	Diafiltration	REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
DSP	Downstream Processing	RFID	Radio Frequency Identification
ECHA	European Chemicals Agency	RM	Rocking Motion
EMA	European Medicines Agency	STR	Stirred
EP	Europäisches Arzneimittelbuch	SUA	Single-Use-Analytik
ESACT	European Society for Animal Cell Technology	SUB	Single-Use-Bioreaktor/en
EVA	Ethylvinylacetat	SUM	Single-Use-Mischer
FDA	Food and Drug Administration	SUS	Single-Use-System/e
Glc	Glukose	SUT	Single-Use-Technologie/n
GMP	Good Manufacturing Practice	TAK	Temporärer Arbeitskreis
HIMA	Health Industry Manufacturing Association	TSE	Transmissible Spongiform Encephalopathy
ICH	International Conference on Harmonization	UF	Ultrafiltration
IR	Infrarot	USP	Amerikanisches Arzneimittelbuch oder Upstream Processing
ISO	International Organization for Standardization	2D-	zweidimensional
ISPE	International Society for Pharmacoepidemiology	3D-	dreidimensional
Lac	Laktat		
LED	Light Emitting Diode		
MES	Manufacturing Execution System		
OD	Optische Dichte		
OPC	Protokollstandard für industrielle Kommunikation		
PA	Polyamid		
PC	Polycarbonat oder Personalcomputer		
PDA	Parenteral Drug Association		
PE	Polyethylen		

## 7. REFERENZEN

AMA (2010) Sensor-Trends 2014, Trends in zukunftsorientierten Sensortechnologien, AMA Fachverband für Sensorik e.V., Berlin Juli 2010, [http://ftp.ama-sensorik.de/Trendanalyse/AMA\\_Study\\_Sensor\\_Trends.pdf](http://ftp.ama-sensorik.de/Trendanalyse/AMA_Study_Sensor_Trends.pdf).

Baier U (2011) Waste generation, treatment options, and the environmental impact of single-use systems. . In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 173-182.

Biotechnologie 2020plus (2011) Nächste Generation biotechnologischer Verfahren, Bundesministerium für Bildung und Forschung, Berlin 2011, <http://www.biotechnologie2020plus.de/BIO2020/Redaktion/PDF/2010-2011-doku-fg,property=pdf,bereich=bio2020,sprache=de,rwb=true.pdf>.

Blackwell JV (2010) Single-use technology – where has it been, where it is now, and where is it going? *Pharm. Processing* 10:4.

Brandenberger R, Burger S, Campbell A, Fong T, Lapinskas E, Rowley JA (2011) Cell therapie bioprocessing: Integrating process and product development for the next generation of biotherapeutics. . *BioProcess Int.* 9(Suppl.1):30-37.

Buckler RL (2011) Opportunities in regenerative medicine. *BioProcess Int.* 9(Suppl.1):14-19.

Burger SR (2010) Manufacturing cell therapy products: Models, methods, and process development. *Cell therapy manufacturing: Stem cell and immunotherapies*, London, UK. Informa Life Sciences.

Codner P, Chat M (2005) Massive transfusion for trauma is appropriate. *ITACCS*:148-152.

Curtis WR (2004) Growing cells in a reservoir formed of a flexible sterile plastic liner. *United States Patent*, 6, 709, 862, B2.

Ducos JP, Terrier B, Courtois (2009) Disposable bioreactors for plant micropropagation and mass plant cell culture. In D Eibl, R Eibl (eds.), *Disposable bioreactors*, Series: *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, Vol. 115. Berlin; Heidelberg: Springer, pp. 89-115.

Dudziak G(2010) Generic antibody manufacturing using total disposable technology. *Bioprocess International Conference*, Providence, RI, September 2010.

Eibl R, Eibl D (2006) Design and use of the Wave bioreactor for plant cell culture. In S Dutta, Y Baraki (eds.), *Plant tissue culture engineering*. Dordrecht: Springer, pp. 203-227.

Eibl R, Eibl D (2009) Application of disposable bag bioreactors in tissue engineering and for the production of therapeutic proteins. In C Kasper, M van Griensven, R Pörtner (eds.), *Bioreactor systems for tissue engineering*, Series: *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, Vol. 112. Berlin; Heidelberg: Springer, pp. 183-207.

Eibl R, Werner S, Eibl D (2009b) Bag bioreactor based on wave-induced motion: Characteristics and applications, In R Eibl, D Eibl (eds.), *Disposable bioreactors*, Series: *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, Vol. 115. Berlin; Heidelberg: Springer, pp. 55-87.



- Eibl R, Werner S, Eibl D (2009b) Disposable bioreactors for plant liquid cultures at Litre-scale. *Eng. Life Sc.* 9:156-164.
- Eibl D, Peuker T, Eibl R (2011a) Single-use equipment in biopharmaceutical manufacture: A brief introduction. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 1-5.
- Eibl R, Löffelholz C, Eibl D (2011b) Single-use bioreactors - An Overview. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 33-51.
- Eibl R, Brändli J, Eibl D (2011c) Plant cell bioreactors. In UNESCO (ed.), *Encyclopedia of life support systems*. In press.
- Falkenberg FW (1998) Production of monoclonal antibodies in the miniPerm bioreactor: Comparison with other hybridoma culture methods. *Res. Immunol.* 6:560-570.
- Galliher PM, Hodge G, Guertin P, Chew L, Deloggio T (2011) Single-use bioreactor platform for microbial fermentation, In: R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken NJ: John Wiley & Sons, pp. 241-250
- Glaser V (2011) Finding a bioreactor that's right for you. *GEN* 31(14):44-47.
- Glazyrina J, Materne EA, Dreher T, Strom D, Junne S, Adams T, Greller G, Neubauer P (2010) High cell density cultivation and recombinant protein production with *Escherichia coli* in a rocking-motion-type bioreactor. *Microb. Cell. Fact.* 9:42-52.
- Glindkamp A, Riechers D, Rehbock C, Hitzmann B, Scheper T, Reardon KF (2009) Sensors in disposable bioreactors: Status and trends In R Eibl, D Eibl (eds.), *Disposable bioreactors, Series: Advances in biochemical engineering/biotechnology, Vol. 115*. Berlin; Heidelberg: Springer, pp. 145-169.
- Jenke D (2007) Evaluation of the chemical compatibility of plastic contact materials and pharmaceutical products; safety considerations related to extractables and leachables. *J. Pharm. Sci.* 96: 2566-2581.
- Knazek RA, Gullino PM, Kohler PO, Dedrick RL (1972) Cell culture on artificial capillaries: an approach to tissue growth in vitro. *Science* 178:65-67.
- Langer E (2009) Sixth Annual Report and Survey of Biopharmaceutical Manufacturing Capacity and Production. Rockville MD: BioPlan Associates.
- Laukel M, Rogge P, Dudziak G (2011) Disposable downstream processing for clinical manufacturing. *BioProcess Int.* 9 (Suppl.2):14-21.
- Lindner P, Endres C, Bluma A, Höpfner T, Glindkamp A, Haake C, Landgrene D, Baumfalk R, Hitzmann B, Scheper T, Reardon KF (2011) Disposable sensor systems. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 67-81.

- Merseburger T (2011) An introduction to the validation and qualification of disposables used in biomanufacture - a user's perspective. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 160-172.
- Mikola M, Seto J, Amanullah A (2007) Evaluation of a novel wave bioreactor cellbag for aerobic yeast cultivation. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 30:231-241.
- NAMUR und VDI/VDE-GMA (2009) Prozess-Sensoren 2015+, Technologie-Roadmap für Prozess-Sensoren in der chemisch-pharmazeutischen Industrie, November 2009, [http://www.vdi.de/fileadmin/vdi\\_de/redakteur\\_dateien/gma\\_dateien/Prozess-Sensoren\\_2015+.pdf](http://www.vdi.de/fileadmin/vdi_de/redakteur_dateien/gma_dateien/Prozess-Sensoren_2015+.pdf)
- Ott KD (2011) Are single-use technologies changing the game? *BioProcess Int*:9(Suppl.2):48-51.
- Peuker T, Eibl D (2011) Biopharmaceutical manufacturing facilities integrating single-use systems. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 145-158.
- Reichert H (2011) Process simplification applied in plant cell culture through a novel single-use mixing technology. *Single-use solutions in bioprocess technology, Nijmegen, Netherlands*. HAN Biocentre.
- Riesen N, Eibl R (2011) Single-use bag systems for storage, transportation, freezing, and thawing. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 14-20.
- Rios M (2011) Technologies on the cutting edge: Perspectives on making cell therapies work. *BioProcess Int*. 9(Suppl.1):26-29.
- Selker M, Johnston T, Paldus B (2011) Disposable bioreactor vessel port, Patent No. US 8,008,065 B2.
- Shaaltiel Y, Bartfeld D, Hashmueli S, Baum G, Brill-Almon E, Galili G, Dym O, Boldin-Adamsky SA, Silman I, Sussman JL, Futerman AH, Aviezer D (2007) Production of glucocerebrosidase with terminal mannose glycans for enzyme replacement therapy of Gaucher's disease using a plant cell system. *Plant Biotechnol. J.* 5:579-590.
- Shaw R (2011) Stem-cell-based therapies: What's in development, implications for bioprocessing. *BioProcess Int*. 9(Suppl.1):20-25.
- Sinclair A (2009) The maturation of the biomanufacturing industry. *BioProcess Int*. 7(Suppl.1):95-96.
- Singh V (1999) Disposable bioreactor for cell culture using wave-induced motion. *Cytotechnology* 30:149-158.
- Schwander E, Rasmussen H (2005) Scalable, controlled growth of adherent cells in a disposable multilayer format. *Genet. Eng. Biotechnol. News* 25:29.
- Terrier B, Courtois C, Hénault N, Cuvier A, Bastin M, Aknin A, Dubreuil J, Pétiard V (2007) Two new disposable bioreactors for plant cell cultures: The wave & undertow bioreactor and the slug bubble bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 96:914-923.

Trebak M, Chong JM, Herlyn D, Speicher DW (1999) Efficient laboratory-scale production of monoclonal antibodies using membrane-based high-density cell culture. *J. Immunol. Methods* 230:59-70.

Vanhamel S, Masy C (2011) Production of disposable bags: A manufacturer's report. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 114-124.

Wagner R, Mueller D (2011) The consequent evolution in pharmaceutical biomanufacturing from vial to warehouse. *Wiley book chapter in prep.*

Werner S, Eibl R, Lettenbauer C, Röhl M, Eibl D, DeJesus M, Zhang X, Stettler M, Tissot S, Bürki C, Broccard G, Kühner M, Tanner R, Hacker D, Wurm FM (2010) Innovative, non-stirred bioreactors in scales from milliliters up to 1000 L for suspension cultures of cells using disposable bags and containers: A swiss contribution. *Chimia* 11:819-823.

Werner, S, Kraume M, Eibl D (2011) Bag mixing systems for single-use. In R Eibl, D Eibl (eds.), *Single-use technology in biopharmaceutical manufacture*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, pp. 21-32.

Ziv M (2005) Simple bioreactors for mass propagation of plants. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 81:277-285.



Gesellschaft für Chemische Technik  
und Biotechnologie e.V.  
Theodor-Heuss-Allee 25  
60486 Frankfurt am Main

Tel.: 069 7564-0  
Fax: 069 7564-201  
E-Mail: [info@dechema.de](mailto:info@dechema.de)

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