



9.2/1468

# Fermentationsprodukte

## Producta ab fermentatione

*Diese Monographie ist auf indirekte, durch Fermentation erhaltene Genprodukte anwendbar.*

*Sie ist nicht anwendbar auf*

- *Impfstoffe für Menschen und Impfstoffe für Tiere in Monographien des Arzneibuchs*
- *Produkte, die mit Hilfe von kontinuierlichen Zelllinien vom Menschen oder vom Tier gewonnen werden*
- *direkte Genprodukte, die von Nukleinsäuren in Proteine transkribiert und translatiert werden, mit oder ohne Modifikation nach der Translation*
- *Produkte, die halbsynthetisch aus Fermentationsprodukten oder durch Biokatalyse gewonnen werden*
- *Nährmediumkonzentrate oder nicht aufgearbeitete Fermentationsprodukte.*

Diese Monographie liefert allgemeine Vorschriften für die Entwicklung und Herstellung von Fermentationsprodukten. Diese Vorschriften sind im Einzelfall nicht unbedingt umfassend. Ergänzende oder zusätzliche Anforderungen zu den hier beschriebenen können in einer Einzelmonographie oder von den zuständigen Behörden vorgeschrieben werden.

### Definition

Fermentationsprodukte im Sinne dieser Monographie sind aktive oder inaktive Arzneistoffe, die durch kontrollierte Fermentation in Form indirekter Genprodukte gewonnen werden. Sie stellen primäre oder sekundäre Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefepilzen, Pilzen und Mikroalgen, dar, die durch herkömmliche Verfahren oder mittels rDNA-Rekombinationstechnologie modifiziert sein können. Solche Stoffwechselprodukte schließen Vitamine, Aminosäuren, Antibiotika, Alkaloide und Polysaccharide mit ein.

Sie können durch (diskontinuierliche) Batch-Fermentationsverfahren oder durch kontinuierliche Fermentationsverfahren mit nachfolgenden Prozessschritten wie Extraktion, Konzentration, Reinigung und Isolation gewonnen werden.

### Herstellung

Die Herstellung beruht auf einem validierten Verfahren, das sich als geeignet erwiesen hat. Das Ausmaß der Validierung wird durch die kritischen Stufen im Herstellungsprozess bestimmt.

### **Charakterisierung des zur Herstellung verwendeten Mikroorganismus**

Die Herkunft des für die Herstellung verwendeten Mikroorganismus muss belegt und der Mikroorganismus ausreichend charakterisiert sein. Dazu können die Bestimmung seines Phänotyps, makroskopische und mikroskopische Verfahren sowie biochemische Prüfungen und gegebenenfalls die Bestimmung des Genotyps sowie molekulargenetische Prüfungen gehören.

### **Verfahren mit einem Saatgutssystem**

Die *Masterzellbank* ist eine homogene Suspension oder ein Lyophilisat der ursprünglichen Zellen, die in einzelnen Gefäßen gelagert werden. Die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Zellen unter den gewählten Lagerungsbedingungen und ihre Fähigkeit, nach der Lagerung einen zufriedenstellenden Herstellungsprozess zu gewährleisten, müssen nachgewiesen sein.

Die Vermehrung der Masterzellbank geschieht über ein Saatgutssystem und unter Verwendung einer Arbeitszellbank.

Die *Arbeitszellbank* ist eine homogene Suspension oder ein Lyophilisat des Zellmaterials, das von der Masterzellbank stammt und in gleichen Volumen auf einzelne Gefäße verteilt gelagert wird (zum Beispiel in flüssigem Stickstoff).

Die Herstellung kann (diskontinuierlich) im Batchverfahren oder in kontinuierlichen Kulturverfahren erfolgen und wird unter festgelegten Bedingungen beendet.

Alle Gefäße einer Zellbank werden unter gleichen Bedingungen gelagert. Wenn sie einmal aus dem Lagerbestand entnommen worden sind, dürfen die einzelnen Ampullen, Durchstechflaschen oder Kulturstäbchen nicht in die Zellbank zurückgebracht werden.

### **Verfahren mit schrittweisem Wachstum in Zellkulturen**

Der Inhalt eines Gefäßes mit der Arbeitszellbank wird, falls erforderlich nach Resuspendieren der Zellen, als Inokulum für ein geeignetes Nährmedium verwendet. Nach einer geeigneten Wachstumsphase werden die Kulturen verwendet, um den Fermentationsprozess in Gang zu bringen, falls erforderlich nach einer Vorkultur in einem Vorfermenter. Die Bedingungen sind für jeden Verfahrensschritt festgelegt und müssen bei jedem Herstellungszyklus eingehalten werden.

### **Kontrolle bei Verfahrensänderungen**

Wird das Herstellungsverfahren so geändert, dass sich das Verunreinigungsprofil des Produkts signifikant ändert, müssen die kritischen Schritte, die mit dieser Änderung verbunden sind, revalidiert werden.

Falls sich der bei der Herstellung verwendete Mikroorganismus signifikant geändert und zu einer signifikanten Änderung des Verunreinigungsprofils des Produkts geführt hat, müssen die kritischen Verfahrensschritte,

insbesondere die Reinigung und Isolierung, revalidiert werden.

Bei der Revalidierung muss gezeigt werden, dass neue Verunreinigungen des Produkts, die aus der Änderung resultieren, durch Prüfungen erfasst werden. Falls erforderlich werden zusätzliche oder andere Prüfungen mit geeigneten Grenzwerten eingeführt. Führt die Verfahrensänderung oder der veränderte Mikroorganismus zu einer Zunahme einer bereits vorhandenen Verunreinigung, muss beurteilt werden, ob diese Zunahme vertretbar ist.

Wird die Masterzellbank ersetzt, müssen die kritischen Schritte des Herstellungsverfahrens einer Revalidierung unterzogen werden, die zeigt, dass die Qualität und Sicherheit des Produkts nicht beeinträchtigt werden. Besonders zu beachten sind Änderungen im Verunreinigungsprofil des Produkts, wenn im Herstellungsverfahren ein modifizierter oder neuer Mikroorganismus verwendet wird.

### **Ausgangsmaterialien**

Die Ausgangsmaterialien, die für die Fermentation und/oder die Aufarbeitung verwendet werden, müssen von geeigneter Qualität sein. Sie müssen geprüft werden, um sicherzustellen, dass sie den schriftlich festgehaltenen Spezifikationen entsprechen. Insbesondere muss auf den Gehalt an freiem Histidin in Fischpeptonen geachtet werden, da unter bestimmten Bedingungen das Vorhandensein von freiem Histidin zur Bildung von Histamin führen kann.

Mikroorganismen in Nährmedien oder in der zur Belüftung zugeführten Luft dürfen nur in so kleiner Anzahl vorhanden sein, dass eine dadurch bedingte Kontamination die Qualität, Reinheit und Sicherheit des Produkts nicht beeinträchtigt. Nährstoffe, Vorläufersubstanzen und Substrate müssen während der Fermentation unter aseptischen Bedingungen zugesetzt werden.

### **In-Prozess-Kontrollen**

In-Prozess-Kontrollen gewährleisten während der Fermentation und der Aufarbeitung gleichmäßige Bedingungen und damit die Qualität des isolierten Produkts. Insbesondere ist darauf zu achten, dass jede mikrobielle Verunreinigung, die Qualität, Reinheit und Sicherheit des Produkts beeinträchtigen kann, durch Kontrolle nachgewiesen wird.

Zur Kontrolle der Herstellungsbedingungen können Parameter wie

- Temperatur
- pH-Wert
- Durchflussgeschwindigkeit der zur Belüftung verwendeten Luft
- Rührgeschwindigkeit
- Druck

angewendet werden. Die Konzentration des angestrebten Fermentationsprodukts kann aufgezeichnet werden.

### **Aufarbeitung**

Am Ende der Fermentation wird der zur Herstellung verwendete Mikroorganismus inaktiviert oder entfernt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt so, dass Überreste des Kulturmediums auf eine annehmbare Konzentration vermindert werden und somit sichergestellt ist, dass das gewünschte Produkt in gleichbleibender Qualität gewonnen wird.

Verschiedene Reinigungsverfahren, wie Behandlung mit Aktivkohle, Ultrafiltration oder Lösungsmittelextraktion, können eingesetzt werden. Für das oder die angewendeten Reinigungsverfahren muss gezeigt werden, dass

- Überreste von Mikroorganismen, die zur Herstellung verwendet werden
  - Kulturmedien, Substrate und Vorläufersubstanzen
  - unerwünschte Umwandlungsprodukte von Substraten und Vorläufersubstanzen
- weitgehend oder vollständig entfernt werden.

Falls erforderlich werden geeignete Prüfungen als In-Prozess-Kontrollen oder am isolierten Fermentationsprodukt durchgeführt.

### **Prüfung auf Identität, Prüfung auf Reinheit und Gehaltsbestimmung**

Die Anforderungen, die das Produkt während der Laufzeit erfüllen muss, und die spezifischen Prüfmethode sind in den Einzelmonographien angegeben.