

SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) CH 720 224 B1

(51) Int. Cl.: A61L 2/00 (2006.01)
C07K 14/76 (2006.01)
A61K 38/38 (2006.01)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: 000876/2023

(22) Anmeldedatum: 18.08.2023

(24) Patent erteilt: 31.05.2024

(45) Patentschrift veröffentlicht: 31.05.2024

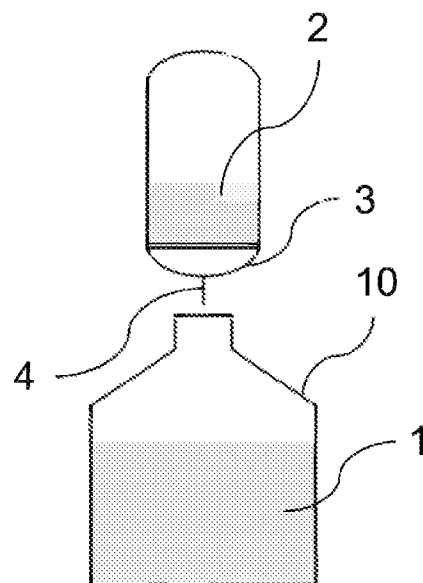
(73) Inhaber:
CSL Behring AG, Wankdorfstrasse 10
3014 Bern (CH)

(72) Erfinder:
Michael Bieri, 3014 Bern (CH)
Michele Himmelspach, 3014 Bern (CH)

(74) Vertreter:
Hepp Wenger Ryffel AG, Friedtalweg 5
9500 Wil (CH)

(54) **Verfahren zur Sterilfiltration albuminhaltiger wässriger Lösungen**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Sterilfiltration einer albuminhaltigen wässrigen Lösung (2), wobei das Verfahren das Filtrieren der Lösung (2) mit mindestens einem Sterilfilter (3) umfasst, um ein Filtrat (1) zu erhalten, wobei der mindestens eine Sterilfilter (3) vor dem Abfüllen des Filtrats (1) in mindestens einen Behälter (10, 10') konditioniert wird durch Spülen des mindestens einen Sterilfilter (3) mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung (2) i) bei einem Differenzdruck über den jeweiligen Sterilfilter (3) von höchstens 1 bar und/oder ii) mittels Druckfiltration, wobei das Filtrat (1) am Auslass (4) des jeweiligen Sterilfilter (3) bei einem Gegendruck von mindestens 0.5 bar gehalten wird.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Sterilfiltration einer albuminhaltigen wässrigen Lösung. Ferner werden hierin Verfahren zur Konditionierung eines Filters und die Verwendung solcher konditionierten Filter zur Verringerung der Opaleszenz von filtrierten wässrigen Lösungen, die Albumin enthalten, offenbart.

[0002] Albumine verschiedener Arten sind als Biochemikalien von grosser Bedeutung, z.B. als Bestandteile von Nährmedien, Zellkulturmedien und als Stabilisatoren für Diagnostika in Biologie, Medizin und Pharmazie.

[0003] Bei der Herstellung von wässrigen Humanalbuminlösungen ist ein obligatorischer Schritt die abschliessende Pasteurisierung des Produkts bei 60 °C für 10 Stunden. Dieser Erhitzungsschritt wurde eingeführt, um infektiöse Erreger zu inaktivieren und die Gefahr der Übertragung von Viren, wie z.B. des Hepatitis-B-Virus, zu beseitigen oder zu verringern, die trotz der verschiedenen Reinigungsschritte aufgrund der möglichen Kontamination des biologischen Rohmaterials auftreten kann. Gegenwärtig schreiben alle nationalen und internationalen Pharmakopöen die Pasteurisierung der Albuminlösungen bei 60 °C für 10 Stunden vor, wobei diese Pasteurisierung in der allerletzten Phase der Herstellung erfolgen muss, nämlich im Endbehalt, das in der Regel ein Fläschchen (Vials) aus pharmazeutischem Typ 1 Borosilikatglas (auch als „neutrales“ Glas bekannt) ist.

[0004] Trotz der relativen Hitzestabilität von Albumin muss das Albumin mit Hilfe geeigneter Stabilisatoren geschützt werden, um ein Gelieren während der Pasteurisierung zu vermeiden. Als Stabilisatoren werden derzeit in der Regel Natriumcaprylat und Natriumacetyltryptophanat, jeweils allein oder in Kombination, verwendet. Natriummandelat kann ebenfalls für sich genommen oder in Verbindung mit Natriumcaprylat verwendet werden. Die Stabilisatoren werden in einem grossen Überschuss im Verhältnis zum Albumin zugesetzt und sind aufgrund ihrer eigenen Affinität zum Albumin in der Lage, dieses wirksam gegen eine direkte Denaturierung durch Hitze zu schützen. Bei unzureichender Stabilisierung kommt es zu einer Denaturierung des Albumins und damit zu einer fortschreitenden Aggregation der Albuminmoleküle sowie anderer gegebenenfalls vorhandener, hitzeempfindlicher Verunreinigungen, was zur Bildung von höhermolekularen Partikeln führt. Diese Partikel führen durch Lichtstreuung zu einem opalisierenden Aussehen der wässrigen Albuminlösungen, eine Eigenschaft, die oft als Opaleszenz bezeichnet wird. Opaleszenz bezeichnet den charakteristischen, durch Lichtstreuung hervorgerufenen, optischen Effekt in einem milchig-trüben Material, welcher durch einen farbigen Schimmer gekennzeichnet ist. Nach dem Europäischen Arzneibuch wird die Opaleszenz von 0 bis IV mit 0, 3, 6, 18 bzw. 30 Nephelometrischen Trübungseinheiten (NTU) eingestuft (Europäisches Arzneibuch 2016, EP9, Abschnitt 2.2.1: „Clarity and degree of opalescence in liquids“).

[0005] In Stabilitätsstudien wurde jedoch festgestellt, dass selbst bei Verwendung der oben genannten Stabilisatoren während oder nach der Pasteurisierung eine Opaleszenz auftreten kann, wenn die albuminhaltige wässrige Lösung vor der Pasteurisierung filtriert wird. Diese Opaleszenz ist im halbautomatischen Sichtprüfsystem Seidenader und auch mit blossen Auge gut sichtbar, wenn ein Fläschchen mit der filtrierten Albuminlösung vor eine indirekte Hintergrundbeleuchtung gestellt wird. Dabei kann Opaleszenz sowohl für die am stärksten verdünnten Albuminlösungen, d.h. mit 4% oder 5% Proteingehalt, als auch für die am stärksten konzentrierten Lösungen, d.h. bei 20% oder 25% Proteingehalt, auftreten. Ausserdem wurde beobachtet, dass Fläschchen, die Opaleszenz zeigen, nach einigen Monaten, etwa nach 2-3 Monaten Lagerung, weisse Ringablagerungen an der Innenseite des Fläschchens an der Flüssigkeits-Luft-Grenzfläche bilden. Das Auftreten der weissen Ringablagerungen korreliert zwar mit einer Abnahme der Opaleszenz der wässrigen Albuminlösung, wird nach den nationalen und internationalen Pharmakopöen jedoch gleichwohl nicht toleriert.

[0006] US 5,118,794 offenbart ein Verfahren zur Stabilisierung von Humanalbuminlösungen für therapeutische Zwecke zum Zweck ihrer Wärmebehandlung in einem Behälter, wobei das Verfahren zusätzlich zur üblichen Stabilisierungsformel die Zugabe eines oberflächenaktiven Mittels umfasst. Es wurden jedoch Probleme im Zusammenhang mit Tensiden festgestellt, z.B. Verunreinigungen, Abbau und mögliche Auslösung unerwünschter Immunreaktionen.

[0007] Allgemeiner bezieht sich die WO 2008/045563 auf Verfahren zur Verringerung der Opaleszenz von Proteinlösungen sowie auf Zusammensetzungen von konzentrierten Proteinlösungen mit verringerter Opaleszenz. Die Verfahren umfassen die Veränderung der Ionenstärke der Lösungen, so dass das opalisierende Erscheinungsbild und/oder die Menge der höhermolekularen Partikel in der Proteinlösung verringert und/oder beseitigt wird, beispielsweise durch Verringerung der Konzentration eines in der Lösung vorhandenen Salzes. Darüber hinaus enthält dieses Dokument keine Informationen über die Verringerung der Opaleszenz in albuminhaltigen Lösungen.

[0008] Die Ähnlichkeit von opalisierenden Lösungen mit aggregierten Proteinlösungen hat Bedenken hinsichtlich des Verlusts der Proteinaktivität und des Potenzials, Immunogenität in pharmazeutischen Formulierungen zu verursachen, aufgeworfen (CLELAND, J.L., The Development of Stable Protein Formulations: A Close Look at Protein Aggregation, Deamidation, and Oxidation, Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems 1993, Vol. 10, No. 4, Seiten 307-377). Da Opaleszenz und/oder das Auftreten von Ablagerungen während der Pasteurisierung auf eine gewisse Denaturierung des Produktes hinweisen und Zweifel an seiner guten Verträglichkeit und Wirksamkeit bei der Verabreichung an den Patienten aufkommen lassen, erfordert die Feststellung von Opaleszenz und/oder Ablagerungen die Zurückweisung der betroffenen Fläschchen bei der Endkontrolle im Rahmen der Qualitätskontrolle, was zu wirtschaftlichen Verlusten führt.

[0009] Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung, diese und andere Nachteile des Standes der Technik zu adressieren und ein Verfahren zur Sterilfiltration einer albuminhaltigen wässrigen Lösung, insbesondere einer den Albuminanteil von

menschlichem Blut enthaltenden wässrigen Lösung, bereitzustellen, zur Bereitstellung sicherer und stabiler Albuminlösungen, insbesondere enthaltend den Albuminbestandteil menschlichen Blutes, in denen die mit der Partikelbildung verknüpfte Opaleszenz eliminiert oder zumindest reduziert ist.

[0010] Diese Aufgaben werden durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche gelöst, wobei sich die abhängigen Ansprüche auf bevorzugte Ausführungsformen beziehen.

[0011] Dementsprechend betrifft die vorliegende Erfindung in einem Aspekt ein Verfahren zur Sterilfiltration einer albuminhaltigen wässrigen Lösung, insbesondere einer den Albuminanteil von menschlichem Blut enthaltenden wässrigen Lösung. Das Verfahren umfasst das Filtrieren der Lösung mit mindestens einem Filter, um ein Filtrat zu erhalten. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass es ausserdem einen Schritt der Konditionierung des Filters vor dem Abfüllen des Filtrats in mindestens einen Behälter umfasst, indem der mindestens eine Filter mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung gespült wird, und zwar bei einem Differenzdruck über den jeweiligen Filter von höchstens 1 bar und/oder mittels Druckfiltration, bei der das Filtrat am Ausgang des jeweiligen Filters bei einem Gegendruck von mindestens 0,5 bar (0,05 MPa) gehalten wird.

[0012] Sichtprüfungen auf einem Sichtprüfgerät, wie weiter unten näher beschrieben, haben gezeigt, dass die so erhaltenen, filtrierten Albuminlösungen klar sind und eine Opaleszenz aufweisen, die im Vergleich zu einem Filtrat, das ohne den hier beschriebenen konditionierten Filter erhalten wurde, um mindestens eine Klasse reduziert ist. Insbesondere sind die so erhaltenen, filtrierten Albuminlösungen klar und haben eine Opaleszenz von höchstens Klasse I, klassifiziert mit 3 nephelometrischen Trübungseinheiten (NTU).

[0013] Damit die vorliegende Erfindung besser verstanden werden kann, werden zunächst bestimmte Begriffe definiert. Weitere Definitionen finden sich in der ausführlichen Beschreibung.

[0014] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Ausdruck „albuminhaltige wässrige Lösung“ auf jede Zusammensetzung, die Wasser und mindestens Albumin als Hauptprotein Komponente enthält. Insbesondere bezieht sich der Ausdruck „albuminhaltige wässrige Lösung“ auf jede wässrige Zusammensetzung, bei der Albumin mehr als 80% aller Proteine in der Zusammensetzung ausmacht und die für eine klinische Behandlung vorgesehen ist. Albuminhaltige wässrige Lösungen, wie sie im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendet werden, sind insbesondere im Europäischen Arzneibuch unter dem Titel „Human albumin solution“ definiert.

[0015] Das Humanalbumin, um das es in der vorliegenden Erfindung geht, wird insbesondere durch Extraktion und Reinigung durch ein beliebiges geeignetes Verfahren aus einer Humanalbuminquelle oder auch durch die Kultivierung von tierischen oder pflanzlichen Zellkulturen, von Bakterien oder Hefen, die zur Herstellung von Humanalbumin mit Hilfe von gentechnischen Verfahren transformiert wurden, wie sie dem Fachmann bekannt sind, gewonnen.

[0016] Der mindestens eine Filter, der in dem hier beschriebenen Verfahren verwendet wird, ist ein Sterilfilter. Der Sterilfilter kann ein doppelagiger Sterilfilter sein, der mit zwei Membranen mit gleicher oder unterschiedlicher Porengrösse ausgestattet ist.

[0017] Mit „vor dem Abfüllen des Filtrats in mindestens einen Behälter“ ist gemeint, dass nur das Filtrat, das durch Filtrieren einer albuminhaltigen wässrigen Lösung durch einen konditionierten Filter gewonnen wurde, in den einen oder die mehreren Behälter überführt wird. Mit anderen Worten wird der Abfüllvorgang erfindungsgemäss erst nach der hier beschriebenen Konditionierung des mindestens einen Filters gestartet, so dass das Filtrat in allen Behältern die vorteilhaften Eigenschaften hinsichtlich der Langzeitstabilität und insbesondere eine verminderte Opaleszenz aufweist.

[0018] „NTU“ steht für „Nephelometric Turbidity Unit“ (nephelometrische Trübungseinheit) und ist die Einheit, mit der die Trübung einer Flüssigkeit oder das Vorhandensein von Schwebstoffen in einer Flüssigkeit gemessen wird. Je höher die Konzentration der Schwebstoffe in der Flüssigkeit ist, desto höher ist die Trübung. Stabilisierte Formazin-Trübungsstandards für die Opaleszenz sind z.B. unter dem Handelsnamen StablCal® von der Hach Lange GmbH (Schweiz) erhältlich. Die Beziehung zwischen NTU und suspendierten Feststoffen ist wie folgt: 1 mg/l (ppm) entspricht 3 NTU. Die Trübung wird durch 90°-Lichtstreuung gemessen.

[0019] Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben festgestellt, dass die Filtration vor der Pasteurisierung entscheidenden Einfluss auf die zur Opaleszenz führenden Partikelbildung während und/oder nach der Pasteurisierung hat, wie in Beispiel 1 unten beschrieben wird. Dies ist überraschend, da von den Erfindern durchgeführte Filtrationsstudien bestätigten, dass für die Opaleszenz verantwortliche Partikel im Grössenbereich zwischen 450 nm und 800 nm liegen. Derartige Partikel hätten jedoch bei der Filtration durch die verwendeten Sterilfilter abgetrennt werden müssen. Noch überraschender war die Feststellung, dass Partikel im Bereich zwischen 450 nm und 800 nm sowohl in opalisierenden als auch in nicht opalisierenden Proben nachgewiesen wurden. Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass es eine Kombination aus Filtration und Pasteurisierung ist, die die Opaleszenz verursacht, wobei sich die für die Opaleszenz verantwortlichen Aggregate nach der Filtration während und/oder nach der Pasteurisierung bilden. Durch die Konditionierung des mindestens einen Sterilfilters mit Albumin vor dem Abfüllen des Filtrats in den bzw. die endgültigen Behälter, z.B. Fläschchen (Vials), kann die Anzahl und Grösse der genannten Partikel deutlich reduziert werden. Infolgedessen wurde festgestellt, dass das Auftreten von Opaleszenz in den filtrierten Albuminlösungen (nachfolgend auch einfach als „Filtrat“ bezeichnet) gehemmt oder zumindest reduziert wird. Darüber hinaus kann die Bildung der weissen Ablagerung, welche nach einiger Zeit an der Flüssigkeits-Luft-Grenzfläche zu beobachten ist, durch das hier offengelegte Verfahren ebenfalls vermieden

werden, was bedeutet, dass die Verpackung - und damit auch die Herstellung - von filtrierten Albuminlösungen durch das hier offengelegte Verfahren effizienter durchgeführt werden kann, da weniger Fläschchen in der Qualitätskontrolle aussortiert werden müssen.

[0020] In Ausführungsformen wird der mindestens eine Filter konditioniert, indem der mindestens eine Filter mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mittels Druckfiltration gespült wird und das Filtrat im Auslass des jeweiligen Filters bei einem Gegendruck von etwa 1 bar gehalten wird. Bei diesem Gegendruck kann eine relativ schnelle und vollständige Sättigung des Filters mit Albumin erreicht werden, ohne dass der Filter und/oder das Filtrat einer übermässigen Belastung ausgesetzt werden, die den Filter beschädigen oder die filtrierte Albuminlösung, d.h. das Produkt (Filtrat), unbrauchbar machen könnte.

[0021] In anderen Ausführungsformen wird der mindestens eine Filter konditioniert, indem der mindestens eine Filter mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung durch Druckfiltration mit einem Einlassdruck am Eingang des jeweiligen Filters von etwa 2 bar gespült und das Filtrat am Ausgang des jeweiligen Filters mit einem Gegendruck von etwa 1 bar gehalten wird.

[0022] In Ausführungsformen beträgt die Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung, die zum Spülen des mindestens einen Filters verwendet wird, zwischen 2,5 Litern und 11 Litern je Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters. In bestimmten Ausführungsformen beträgt die Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung, die zum Spülen des mindestens einen Filters verwendet wird, etwa 10 Liter bei einer Filterfläche des mindestens einen Filters von 1 Quadratmeter. Ein solches Volumen gewährleistet eine gute Spülung und Sättigung des jeweiligen Filters mit Albumin.

[0023] In Ausführungsformen wird das Filtrat nach Durchlaufen des mindestens einen Filters rezirkuliert. Auf diese Weise kann der Verbrauch an albuminhaltiger wässriger Lösung reduziert und die Effizienz des Verfahrens weiter gesteigert werden.

[0024] In Ausführungsformen, bei denen der mindestens eine Filter durch Spülen des mindestens einen Filters mit einer Menge der Albumin enthaltenden wässrigen Lösung bei einem Differenzdruck über dem jeweiligen Filter von höchstens 1 bar konditioniert wird, wird am Auslass des jeweiligen Filters kein Gegendruck angelegt. Unter diesen Bedingungen wurde überraschenderweise festgestellt, dass die Albuminlösung des Filtrats eine besonders niedrige Opaleszenz aufweist, z.B. eine Opaleszenzklasse I, die mit 3 NTU klassifiziert ist, wenn überhaupt.

[0025] In Ausführungsformen, in denen der mindestens eine Filter durch Spülen des mindestens einen Filters mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung bei einem Differenzdruck über dem jeweiligen Filter von höchstens 1 bar konditioniert wird, wird das Spülen des mindestens einen Filters mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit einer Durchflussrate durch den jeweiligen Filter von 2 bis 4 Litern pro Minute und Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters durchgeführt. Vorzugsweise erfolgt die Spülung des mindestens einen Filters mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung bei einer Durchflussrate durch den jeweiligen Filter von etwa 3 Litern pro Minute und Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters.

[0026] In Ausführungsformen wird der mindestens eine Filter mit Reinstwasser (engl. „water for infusion“) gespült, bevor der jeweilige Filter mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung gespült wird. Vorzugsweise beträgt das Volumen des Reinstwassers, das zum Spülen des mindestens einen Filters verwendet wird, jeweils 1 Liter bis 11 Liter je Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters. Eine solche Menge gewährleistet eine gute Spülung der jeweiligen Filter.

[0027] In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Weiterverarbeitung des gemäss einem hierin beschriebenen Verfahren zur Sterilfiltration erhaltenen Filtrats in einem Verfahren zur Herstellung eines pasteurisierten Filtrats. Das Verfahren umfasst einen Schritt der Pasteurisierung des Filtrats. Insbesondere wird die Pasteurisierung des Filtrats bei 60 °C für 10 h nach der Filtration durchgeführt. Unter diesen Bedingungen werden Keime und Viren, die trotz vorgelagerter Sicherheitsvorkehrungen in die filtrierte Albuminlösung gelangt sind oder sich darin befinden, zuverlässig inaktiviert und unschädlich gemacht. Vorzugsweise wird die Pasteurisierung des Filtrats in dem mindestens einen Behälter durchgeführt. Dadurch wird die Gefahr einer Rekontamination der filtrierten Albuminlösung durch erneutes Umfüllen ausgeschlossen.

[0028] In Ausführungsformen wird das Filtrat nacheinander in sterile Fläschchen abgefüllt, die anschliessend mit einem Stopfen verschlossen werden.

[0029] In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Weiterverarbeitung des gemäss einem hierin beschriebenen Verfahren zur Sterilfiltration erhaltenen Filtrats in einem Verfahren zur Herstellung eines inkubierten Filtrats. Das Verfahren umfasst einen Schritt der Pasteurisierung des Filtrats, wie hier beschrieben, und einen Schritt der Inkubation des pasteurisierten Filtrats, um ein inkubiertes Filtrat zu erhalten. Insbesondere wird der Schritt der Inkubation des pasteurisierten Filtrats über einen Zeitraum von 10 bis 20 Tagen, vorzugsweise für 15 bis 20 Tage, durchgeführt. Vorzugsweise wird der Schritt der Inkubation des pasteurisierten Filtrats 15 oder 16 Tage lang durchgeführt. Das inkubierte Filtrat kann gelagert werden. Die Lagerung kann beispielsweise für einen vorbestimmten Zeitraum erfolgen.

[0030] In einer Ausführungsform wird der Schritt der Inkubation des pasteurisierten Filtrats bei einer Temperatur zwischen 25 und 35 °C, vorzugsweise bei einer Temperatur zwischen 29 und 32 °C durchgeführt.

[0031] In Ausführungsformen, in denen der mindestens eine Filter durch Spülen des mindestens einen Filters mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mittels Druckfiltration konditioniert wird und das Filtrat im Auslass des jeweiligen Filters bei einem Gegendruck von mindestens 0,5 bar gehalten wird, wird der Gegendruck zumindest während der Konditionierung des jeweiligen Filters überwacht.

[0032] In Ausführungsformen, in denen der mindestens eine Filter durch Spülen des mindestens einen Filters mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mittels Druckfiltration konditioniert wird und das Filtrat im Auslass des jeweiligen Filters bei einem Gegendruck von mindestens 0,5 bar gehalten wird, wird das Spülen des jeweiligen Filters mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit einer Durchflussrate durch den jeweiligen Filter von 1 Liter bis 3 Litern pro Minute und Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters durchgeführt. Vorzugsweise erfolgt die Spülung des jeweiligen Filters mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit einer Durchflussrate durch den jeweiligen Filter von etwa 2 Litern pro Minute und Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Filters.

[0033] In Ausführungsformen ist das Albumin ausgewählt aus Humanserumalbumin, Rinderserumalbumin, Eialbumin und rekombinantem Humanserumalbumin.

[0034] In Ausführungsformen beträgt die Albuminkonzentration in der albuminhaltigen wässrigen Lösung und/oder im Filtrat zwischen 19% und 30%, bezogen auf das Gesamtgewicht der albuminhaltigen wässrigen Lösung und/oder des Filtrats vor und/oder nach der Filtration. Alternativ beträgt die Albuminkonzentration in der albuminhaltigen wässrigen Lösung und/oder im Filtrat vor und/oder nach der Filtration zwischen 3% und 6%, bezogen auf das Gesamtgewicht der albuminhaltigen wässrigen Lösung und/oder des Filtrats.

[0035] In Ausführungsformen umfasst das Verfahren ferner einen Schritt der Pasteurisierung des Filtrats, um ein pasteurisiertes Filtrat zu erhalten, sowie einen Schritt des Bewertens der Opaleszenz des pasteurisierten Filtrats. Vorzugsweise wird die Opaleszenz des Filtrats durch Trübungsmessung oder Bewertung einer Veränderung bei der Bildung von höhermolekularen Partikeln bewertet.

[0036] Der Begriff „höhermolekulare Partikel“ bezieht sich auf eine Assoziation von mindestens zwei Molekülen. In bestimmten Ausführungsformen handelt es sich bei den Molekülen um Lipide und/oder Proteine, z.B. Albumine, wobei die Proteinassoziation zur Bildung von Aggregaten höherer Ordnung aus monomerem Protein führt. Die Assoziation kann durch nicht-kovalente (z.B. elektrostatische, van-der-Waals) Protein-Protein-Wechselwirkungen entstehen. Die Proteine können identisch oder unterschiedlich sein. Die höhermolekularen Partikel haben typischerweise ein Molekulargewicht von 10^4 Da oder höher, typischerweise von 10^6 Da oder höher. Das gewichtsmittlere Molekulargewicht der aggregierten Moleküle in der Lösung kann beispielsweise mit einem oder mehreren der folgenden Verfahren nachgewiesen werden: Lichtstreuungstechniken wie statische und/oder dynamische Lichtstreuung, oder asymmetrische Flussfeldflussfraktionierung. Einzelheiten zu den oben genannten Messmethoden werden im Folgenden näher beschrieben.

[0037] Zusätzlich zur Bestimmung der Opaleszenz des pasteurisierten Filtrats kann die Opaleszenz der Proben nach Pasteurisierung und Inkubation bestimmt werden. Dementsprechend umfasst das Verfahren in Ausführungsformen ferner einen Schritt der Pasteurisierung des Filtrats, insbesondere wie hierin beschrieben, um ein pasteurisiertes Filtrat zu erhalten, einen Schritt des Inkubierens des pasteurisierten Filtrats, um ein inkubiertes Filtrat zu erhalten, und einen Schritt der Bewertung der Opaleszenz des inkubierten Filtrats.

[0038] Insbesondere kann das Bewerten der Opaleszenz unmittelbar nach der Pasteurisierung und/oder Inkubation erfolgen. Der Schritt des Bewertens der Opaleszenz des pasteurisierten und gegebenenfalls inkubierten Filtrats kann jedoch auch nach einer eintägigen bis mehrjährigen, insbesondere etwa fünfjährigen, Lagerung des entsprechenden Filtrats durchgeführt werden. Vorzugsweise wird der Schritt des Bewertens der Opaleszenz des pasteurisierten und gegebenenfalls inkubierten Filtrats nach einer Lagerung des entsprechenden Filtrats für 1 bis 6 Monate, vorzugsweise nach einer Lagerung des entsprechenden Filtrats für 1 bis 3 Monate durchgeführt.

[0039] Die Opaleszenz des inkubierten Filtrats kann bei der Temperatur bewertet werden, bei der die Inkubation durchgeführt wird, insbesondere bei einer Temperatur von 29 °C bis 31 °C. Alternativ oder zusätzlich kann die Opaleszenz auch bei der Temperatur bewertet werden, bei der das inkubierte Filtrat gelagert wird.

[0040] Diese Temperatur kann vom jeweiligen Produkt abhängen und z.B. zwischen 2°C und 8°C liegen oder Umgebungstemperatur betragen. Es ist auch denkbar, dass die Opaleszenz des inkubierten Filtrats weder bei der Inkubations- noch bei der Lagertemperatur, sondern bei Raumtemperatur in einem Labor bewertet wird. Der Begriff „Raumtemperatur“ wird vom Fachmann verstanden und kann insbesondere eine Temperatur von etwa 20 °C bedeuten.

[0041] Dementsprechend wird in Ausführungsformen, in denen das Verfahren ausserdem einen Schritt des Bewertens der Opaleszenz des inkubierten Filtrats umfasst, die Opaleszenz des inkubierten Filtrats bei einer Temperatur von ≤ 35 °C bewertet. Vorzugsweise wird die Opaleszenz des inkubierten Filtrats bei einer Temperatur von ≤ 30 °C, noch bevorzugter bei einer Temperatur von ≤ 25 °C bewertet.

[0042] In bestimmten Fällen wird die Opaleszenz des inkubierten Filtrats bei einer Temperatur von etwa 20 °C bewertet.

[0043] In Ausführungsformen wird die Opaleszenz des inkubierten Filtrats bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 8 °C bewertet.

[0044] In Ausführungsformen wird die Opaleszenz des Filtrats und/oder des inkubierten Filtrats durch eine oder mehrere der folgenden Methoden bewertet: Sichtprüfung, dynamische Lichtstreuung und tunable resistive pulse sensing (TRPS).

[0045] In Ausführungsformen, in denen das Verfahren ausserdem einen Schritt des Bewertens der Opaleszenz des Filtrats und/oder des inkubierten Filtrats umfasst, hat/haben das Filtrat und/oder das inkubierte Filtrat eine Opaleszenz, die im Vergleich zu einem Filtrat der gleichen albuminhaltigen wässrigen Lösung, die nicht durch den konditionierten Filter filtriert wurde, um mindestens eine Klasse reduziert ist. Vorzugsweise weist das Filtrat und/oder das inkubierte Filtrat höchstens eine Opaleszenz der Klasse I auf, klassifiziert mit 3 NTU. Noch bevorzugter weisen das Filtrat und/oder das inkubierte Filtrat bei einer Bewertung 2 Monate nach der Filtration höchstens eine Opaleszenz der Klasse I, eingestuft mit 3 NTU, auf.

[0046] In Ausführungsformen wird die albuminhaltige wässrige Lösung mit einem Druck von etwa 1 bar auf den mindestens einen Filter aufgebracht. Bei diesem Druck kann ein guter Durchsatz erzielt werden, ohne dass der Filter oder die albuminhaltige wässrige Lösung überbelastet werden.

[0047] In Ausführungsformen hat der mindestens eine Filter eine Filterfläche von 0,01 bis 0,8 m². Vorzugsweise hat der mindestens eine Filter eine Filterfläche von etwa 0,4 m². Mit dieser Filterfläche kann ein relativ grosses Volumen, wie es bei der Herstellung filtrierter Albuminlösungen in der pharmazeutischen Industrie vorkommt, in einer akzeptablen Zeit filtriert werden.

[0048] Vorzugsweise beträgt die Porengrösse des mindestens einen Filters 0,22 µm oder weniger. Handelt es sich bei dem mindestens einen Filter um einen mit zwei Membranen ausgestatteten Doppelschichtfilter, kann die Porengrösse der in Durchflussrichtung des Filters zuerst angeordneten Membran eine grössere Porengrösse aufweisen als die in Durchflussrichtung nachgelagerte Membran, d.h. die Membran des Sterilfilters. Insbesondere kann die in Durchflussrichtung des Doppelschichtfilters zuerst angeordnete der beiden Membranen eine Porengrösse von 0,45 µm oder kleiner aufweisen, und die Porengrösse der anderen, in Durchflussrichtung des Doppelschichtfilters nachgelagerten Membran, d.h. der Membran des Sterilfilters, kann 0,22 µm oder kleiner betragen. Filter bzw. Membranen mit solchen Porengrössen sind im Handel allgemein gut verfügbar. Die Porengrösse des Sterilfilters kann insbesondere 0,22 µm oder 0,20 µm betragen. Membranen mit einer solchen Porengrösse ermöglichen den gewünschten Sterilisationseffekt, ohne den Durchfluss durch den Filter übermässig einzuschränken.

[0049] In Ausführungsformen handelt es sich bei dem mindestens einen Filter um einen Polyethersulfon (PES)-Membranfilter oder einen Nylonfilter. Solche Filter eignen sich für den Einsatz in der pharmazeutischen Industrie und sind im Allgemeinen leicht erhältlich.

[0050] In Ausführungsformen umfasst das Verfahren vor dem Filtrieren der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit dem mindestens einen Filter ferner einen Schritt des Filtrierens der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit einem Vorfilter, wobei die Porengrösse des Vorfilters 0,45 µm oder kleiner beträgt.

[0051] Die Menge an Stabilisatoren, die der albuminhaltigen wässrigen Lösung zugesetzt wird, ist proportional zur Albuminkonzentration der betreffenden Lösung. In Ausführungsformen ist die albuminhaltige wässrige Lösung mit etwa 0,08 mM mindestens eines Stabilisators, ausgewählt aus Natrium-N-Acetyltryptophanat und Natriumcaprylat, je Gramm Albumin stabilisiert. Diese Menge kann die Albuminmoleküle wirksam vor Hitzedenaturierung während der Pasteurisierung schützen und die Bildung von Aggregaten reduzieren, um eine Stabilität über einen gewünschten Zeitraum zu erreichen, insbesondere über die Haltbarkeit des finalen Albuminprodukts, z.B. für mindestens 1 Monat, vorzugsweise für mindestens 3 Monate, noch bevorzugter für mindestens 6 Monate, am bevorzugtestens für ein Jahr oder länger, erreicht werden.

[0052] In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung eine durch das hierin offenbarte Verfahren der Sterilfiltration erhaltene filtrierte Albuminlösung, insbesondere eine pharmazeutische Zusammensetzung, welche die filtrierte Albuminlösung enthält. Eine solche Albuminlösung zeichnet sich im Vergleich zu einer vergleichbaren Albuminlösung, die durch einen oder mehrere Filter filtriert wurde, welche(r) jedoch nicht wie hierin beschrieben konditioniert wurde(n), durch eine geringere Opaleszenz aus.

[0053] In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Filters, der durch Spülen mit einer Menge einer albuminhaltigen wässrigen Lösung entweder bei einem Differenzdruck über dem Filter von höchstens 1 bar oder durch Druckfiltration und Halten des Filtrats im Auslass des Filters bei einem Gegendruck von mindestens 0,5 bar konditioniert wurde, zur Verringerung der Opaleszenz der filtrierten albuminhaltigen wässrigen Lösung.

[0054] Einzelne Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung werden unter Bezugnahme auf die beigefügten Abbildungen näher beschrieben, wobei gleiche Bezugszeichen verwendet werden, um auf gleiche oder entsprechende Elemente hinzuweisen. Die verschiedenen Ansichten und Abbildungen der in den Figuren gezeigten Ausführungsformen sind schematische Darstellungen zeigend:

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Sichtprüfkastens, der zur Prüfung auf Opaleszenz verwendet wird;

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Aufbaus zur Sterilfiltration;

Abbildung 3: Zusammenfassung der Ergebnisse der Sichtprüfung für die Beispiele 1-3;

Abbildung 4: Bild zeigend die Opaleszenz der Fläschchen aus den Beispielen 1-3;

Abbildung 5: Bild zeigend weisse Ablagerungsringe der Fläschchen aus den Beispielen 1-3;

Abbildung 6: Zusammenfassung der Ergebnisse der optischen Dichte für die Beispiele 1-3;

Abbildung 7: Zusammenfassung der Trübungsergebnisse für die Beispiele 1-3;

Abbildung 8: Schematische Darstellung der Filtration mit anliegendem Gegendruck;

Abbildung 9: Schematische Darstellung der Filtration mit reduziertem Druck;

Instrumentelle Methoden

[0055] Zur Untersuchung der Proben auf Opaleszenz und zur Bestimmung des Opaleszenzgrades wurde ein Sichtprüfkasten 20 mit schwarzen Innenwänden 21 und einer im oberen Teil des Kastens angebrachten Weisslichtquelle 22 verwendet. Die Probenbehälter 10, 10' wurden vor einen Schlitz 23 in dem Kasten gestellt, so dass die Behälter 10, 10' indirektem Licht ausgesetzt waren, wie in Abbildung 1 schematisch dargestellt. Die Opaleszenz wurde gemäss dem Europäischen Arzneibuch 11.2, 2023, „2.2.1 Clarity and degree of opalescence of liquids“ in Klasse 0 - IV (entsprechend 0, 3, 6, 18 bzw. 30 NTU) eingestuft.

[0056] Die dynamische Lichtstreuung (DLS) wurde mit einem Malvern Zetasizer nano zs gemessen, um die Partikelgrössenverteilung (nicht quantitativ) im Grössenbereich von 0,4 - 7000 nm, den mittleren Z-Mittelwert (Z-Ave) und die optische Dichte (mean derived count rate (DCR), in kcps) zu bestimmen. Der Z-Ave ist der harmonische Mittelwert des intensitätsgewichteten hydrodynamischen Durchmessers, der früher als Richtwert für die Bewertung der Albuminopaleszenz herangezogen wurde. Die mittlere abgeleitete Zählrate (DCR) gibt einen Hinweis auf die Anzahl der Partikel. Die Proben von opalisierenden und klaren filtrierte Albuminlösungen wurden unverdünnt im Vorwärts- (12,8°) und Rückwärtsstreumodus (173°) bei 20 °C gemessen.

[0057] Die Trübung wurde durch 90°-Lichtstreuung bestimmt. Die Ergebnisse werden in nephelometrischen Trübungseinheiten (NTUs) angegeben.

Erzeugung von opalisierendem Ausgangsmaterial

[0058] Um unter kontrollierten Bedingungen ein Ausgangsmaterial bereitzustellen, das nach der aus dem Stand der Technik bekannten Sterilfiltration zu einer ausgeprägten Opaleszenz und zur Bildung weisser Ablagerungsringe führt, wurde das aus dem Kistler/Nitschmann-Niederschlag C hergestellte 20%-ige Albumin-Diafiltrat aufkonzentriert und mit den Stabilisatoren Tryptophan und Caprylsäure (je 20 mM) zu Albumin 25% formuliert. Diese Bulk-Albuminlösung wurde belüftet, indem Druckluft mit einer Düse direkt in die Lösung geblasen wurde, wodurch sich kleine Luftblasen bildeten. Die Durchflussmenge wurde so eingestellt, dass sich kontinuierlich Blasen bildeten. Um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden, wurde ein 0,22-µm-Filter an den Einlass des Behälters mit der Bulk-Albuminlösung angeschlossen. Die Belüftung erfolgte über einen Zeitraum von 6 Stunden. Das so gewonnene Ausgangsmaterial wurde in den Vergleichsexperimenten als albuminhaltige wässrige Lösung verwendet.

Beispiel 1

[0059] Die Referenzproben wurden durch Filtration des wie oben beschriebenen Ausgangsmaterials ohne Konditionierung des Filters hergestellt. Eine schematische Darstellung des Aufbaus zur Sterilfiltration ist in Abbildung 2 gezeigt. Die albuminhaltige wässrige Lösung 2 wurde mit Hilfe einer Pumpe (nicht gezeigt) filtriert, die einen Druck von 2 bar bereitstellte, ohne dass am Auslass 4 des Filters 3 ein Gegendruck angelegt wurde. Bei dem verwendeten Filter 3 handelte es sich um eine Einwegkartusche mit einer Porengrösse von 0,2 µm und einer sterilen Filterfläche von 0,015 m², die das gleiche Material und die gleiche Faltung der Filtermembran enthielt wie die üblicherweise im Produktionsmassstab verwendeten 10-Zoll-Filter. Der Filter 3 wurde zunächst mit 260 mL Reinstwasser (nicht gezeigt) gespült und dann mit 150 mL albuminhaltiger wässriger Lösung 2 gespült. Das Filtrat 1 der Albuminlösung wurde nacheinander in 20 50-mL-Fläschchen 10 aufgefangen, die sofort mit einem Stopfen verschlossen wurden (nicht gezeigt). Danach wurden die Fläschchen 10 10 Stunden lang bei 60 °C pasteurisiert und 15 Tage lang bei 30 °C inkubiert. Die so erhaltenen 20 Proben dienten als Referenz, mit der die nach dem verbesserten Verfahren gemäss der vorliegenden Erfindung erhaltenen Proben verglichen wurden.

[0060] Die Sichtprüfung der Referenzprobenfläschchen im Sichtprüfkasten bestätigte die Opaleszenz (Klasse III) für jedes Fläschchen nach Pasteurisierung und Inkubation, wie die in Tabelle 1 und Abbildung 3 zusammengefassten Ergebnisse zeigen, wobei die statistische Signifikanz mit Hilfe eines zweiseitigen t-Tests mit der Software Sigma Plot 12.0 berechnet wurde. Ein Beispiel für ein Fläschchen mit Opaleszenz (Klasse III) ist auch in Abbildung 4 (mittleres Bild; Bsp. 1) zu sehen.

[0061] Darüber hinaus wurden die Fläschchen enthaltend die Referenzproben zwei Monate nach ihrer Inkubation visuell auf weisse Ringe an der Innenseite der Fläschchen an der Flüssigkeits-Luft-Grenzfläche untersucht, und tatsächlich wurden in den Referenzprobenfläschchen weisse Ringe beobachtet, wie mit dem weissen Pfeil in Abbildung 5 (mittleres Bild; Bsp. 1) angezeigt.

[0062] Die mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) gemessene optische Dichte war bei den Referenzproben am höchsten, wie die in Abbildung 6 dargestellten Ergebnisse zeigen. Dies deutet auf eine vergleichsweise grosse Partikelgrösse und einen hohen Partikelgehalt hin. Dementsprechend waren die Referenzproben auch am trübsten, wie Abbildung 7 zeigt. Auch hier wurden die statistischen Signifikanzen in den Abbildungen 6 und 7 mit Hilfe des zweiseitigen t-Tests der Software Sigma Plot 12.0 berechnet.

Beispiel 2

[0063] Bei einer Ausführungsform des hier beschriebenen, verbesserten Verfahrens zur Verringerung der Opaleszenz filtrierter Albuminlösungen wurden 20 Proben wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt, mit dem einzigen Unterschied, dass während des Spülens mit Wasser und Albumin ein Gegendruck von 1 bar auf den Filter ausgeübt wurde, wie in Abbildung 8 schematisch dargestellt, wobei die Durchflussrichtung durch den Filter 3 durch Pfeile gekennzeichnet ist. Die eingekreisten Zahlen geben die Druckwerte vor bzw. nach dem Filter 3 in bar an.

[0064] Die Sichtprüfung der Fläschchen, die durch Sättigung des Filters mit Gegendruck während der Wasser- und Albuminspülung erhalten wurden, ergab, dass diese Proben eine Verringerung der Opaleszenz von Klasse III (Referenz) auf Klasse (II) aufwiesen, klassifiziert nach dem Europäischen Arzneibuch 2016 (EP9, Abschnitt 2.2.1: Clarity and degree of opalescence in liquids), wie die in Tabelle 1 und Abbildung 3 zusammengefassten Ergebnisse zeigen, wobei die statistische Signifikanz mit einem zweiseitigen t-Test mit der Software Sigma Plot 12.0 berechnet wurde. Ein beispielhaftes Fläschchen mit Opaleszenz (Klasse II) ist auch in Abbildung 4 (linkes Bild; Bsp. 2) dargestellt. Keines der Fläschchen aus Beispiel 2 wies bei der Sichtprüfung zwei Monate nach Inkubation weisse Ringe auf, wie in Abbildung 5 (linkes Bild; Bsp. 2) gezeigt.

[0065] Darüber hinaus verringerte die Sättigung des Sterilfilters durch Gegendruck während der Spülung auch die optische Dichte und die Trübung im Vergleich zu den Referenzproben, wie in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt. Auch hier wurde die statistische Signifikanz mittels eines zweiseitigen t-Tests mit der Software Sigma Plot 12.0 berechnet.

Beispiel 3

[0066] In einer anderen Ausführungsform des hier beschriebenen, verbesserten Verfahrens zur Verringerung der Opaleszenz filtrierter Albuminlösungen wurden 20 Proben wie in Beispiel 1 beschrieben erhalten, wobei der einzige Unterschied diesmal darin bestand, dass das Spülen mit der albuminhaltigen wässrigen Lösung bei einem verringerten Druck von 1 bar (statt 2 bar) durchgeführt wurde, wie in Abbildung 9 schematisch dargestellt ist, wobei die Durchflussrichtung durch den Filter 3 durch Pfeile und die Druckwerte vor bzw. nach dem Filter 3 in bar durch eingekreiste Zahlen angegeben sind.

[0067] Die Sichtprüfung der Fläschchen, die durch Sättigung des Filters mit reduziertem Druck bzw. langsamerer Albuminspülung gewonnen wurden, ergab, dass diese Proben eine Verringerung der Opaleszenz von Klasse III (Referenz) auf Klasse I oder 0 (mit 5 Ausnahmen) aufwiesen, wie die in Tabelle 1 und Abbildung 3 zusammengefassten Ergebnisse zeigen, wobei die statistische Signifikanz mit Hilfe eines zweiseitigen t-Tests mit der Software Sigma Plot 12.0 berechnet wurde. Ein beispielhaftes Fläschchen, welches lediglich eine Opaleszenz der Klasse I aufweist, die gemäss dem Europäischen Arzneibuch 2.2.1. „Clarity and degree of opalescence of liquids“ keiner Opaleszenz entspricht, ist ebenfalls in Abbildung 4 (rechtes Bild; Bsp. 3) dargestellt. Wie bei den Probenbehältern aus Beispiel 2 wies auch keines der Fläschchen aus Beispiel 3 bei der Sichtprüfung zwei Monate nach Inkubation weisse Ringe auf, wie in Abbildung 5 (rechtes Bild; Bsp. 3) dargestellt.

[0068] Die Sättigung des Sterilfilters mittels reduziertem Druck, d.h. mit einer langsameren Durchflussrate während des Spülens, führte ebenfalls zu einer Verringerung der optischen Dichte und der Trübung im Vergleich zu den Referenzproben, wie in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt. Auch hier wurde die statistische Signifikanz mittels eines zweiseitigen t-Tests mit der Software Sigma Plot 12.0 berechnet.

Tabelle 1

[0069]

Probe	Beispiel 1 (Referenz)				Beispiel 2 (Gegendruck)				Beispiel 3 (langsamere Spülen)			
	Opaleszenz				Opaleszenz				Opaleszenz			
	Ja		Nein		Ja		Nein		Ja		Nein	
	III	II	I	0	III	II	I	0	III	II	I	0
1	X					X				X		
2	X					X					X	
3	X					X					X	

Probe	Beispiel 1 (Referenz)				Beispiel 2 (Gegendruck)				Beispiel 3 (langsames Spulen)			
	Opaleszenz				Opaleszenz				Opaleszenz			
	Ja		Nein		Ja		Nein		Ja		Nein	
	III	II	I	0	III	II	I	0	III	II	I	0
4	X					X					X	
5	X					X					X	
6	X					X					X	
7	X					X					X	
8	X					X					X	
9	X					X					X	
10	X					X					X	
11	X					X					X	
12	X					X			X			
13	X					X				X		
14	X					X					X	
15	X					X						X
16	X					X						X
17	X					X				X		
18	X					X					X	
19	X					X				X		
20	X					X						X
Anzahl	20	0	0	0	0	20	0	0	1	4	12	3
Mittelwert	3.0				2.0				1.2			

Patentansprüche

- Verfahren zur Sterilfiltration einer albuminhaltigen wässrigen Lösung (2), wobei das Verfahren das Filtrieren der Lösung (2) mit mindestens einem Sterilfilter (3) umfasst, um ein Filtrat (1) zu erhalten, **dadurch gekennzeichnet, dass** der mindestens eine Sterilfilter (3) vor dem Abfüllen des Filtrats (1) in mindestens einen Behälter (10, 10') konditioniert wird durch Spülen des mindestens einen Sterilfilters (3) mit einer Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung (2)
 - bei einem Differenzdruck über den jeweiligen Sterilfilter (3) von höchstens 1 bar; und/oder
 - mittels Druckfiltration, wobei das Filtrat (1) am Auslass (4) des jeweiligen Sterilfilters (3) bei einem Gegendruck von mindestens 0,5 bar gehalten wird.
- Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Gegendruck am Auslass (4) des jeweiligen Sterilfilters (3) etwa 1 bar beträgt.
- Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung (2), die zum Spülen des mindestens einen Sterilfilters (3) verwendet wird, zwischen 2,5 und 11 Litern je Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Sterilfilters (3) beträgt.
- Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine Sterilfilter (3) mit Reinstwasser gespült wird, bevor der jeweilige Sterilfilter (3) mit der Menge der albuminhaltigen wässrigen Lösung (2) gespült wird.
- Verfahren nach Anspruch 4, wobei das Volumen des Reinstwassers, das zum Spülen des mindestens einen Sterilfilters (3) verwendet wird, 1 bis 10 Liter je Quadratmeter Filterfläche des mindestens einen Sterilfilters (3) beträgt.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die albuminhaltige wässrige Lösung (2) mit einem Druck von etwa 1 bar auf den mindestens einen Sterilfilter (3) aufgebracht wird.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der mindestens eine Sterilfilter (3) eine Filterfläche von 0,01 bis 0,8 m² aufweist, vorzugsweise weist der mindestens eine Sterilfilter (3) eine Filterfläche von etwa 0,4 m² auf.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Verfahren, vor dem Filtrieren der albuminhaltigen wässrigen Lösung (2) mit dem mindestens einen Sterilfilter (3), ferner einen Schritt des Filtrierens der albuminhaltigen wässrigen Lösung mit einem Vorfilter umfasst, wobei die Porengrösse des Vorfilters 0,45 µm oder kleiner beträgt.
9. Verfahren zur Herstellung eines pasteurisierten Filtrats, wobei das Verfahren einen Schritt des Pasteurisierens des gemäss einem Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche erhaltenen Filtrats (1), um das pasteurisierte Filtrat zu erhalten, umfasst.
10. Verfahren zur Herstellung eines inkubierten Filtrats, wobei das Verfahren einen Schritt des Pasteurisierens des gemäss einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8 erhaltenen Filtrats (1), um ein pasteurisiertes Filtrat zu erhalten, und einen Schritt des Inkubierens des pasteurisierten Filtrats, um das inkubierte Filtrat zu erhalten, umfasst.

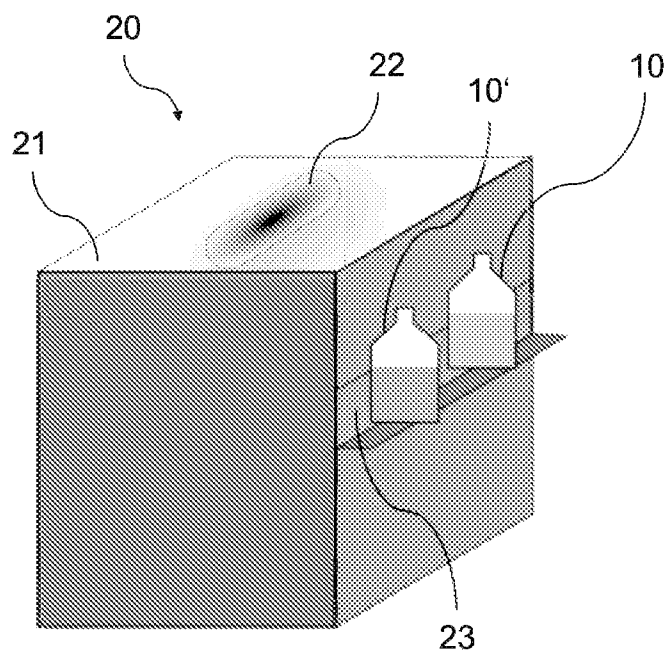


Abbildung 1

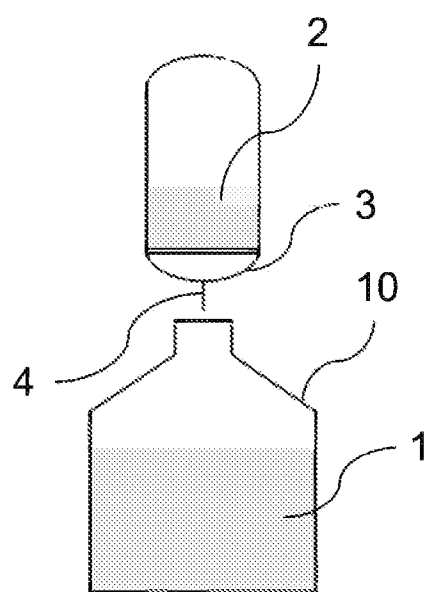


Abbildung 2

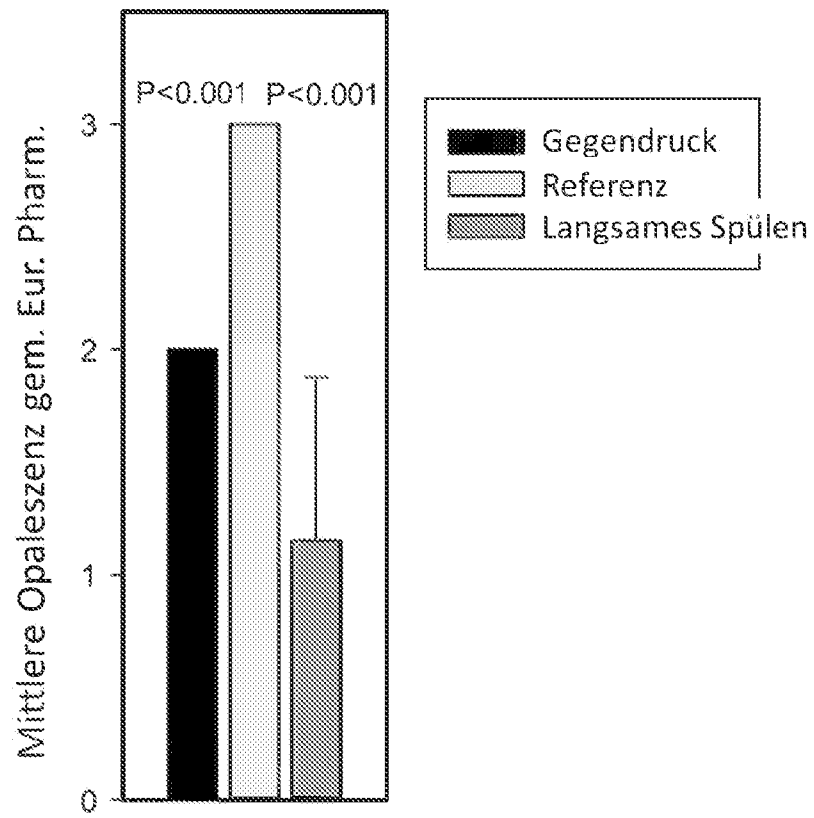


Abbildung 3

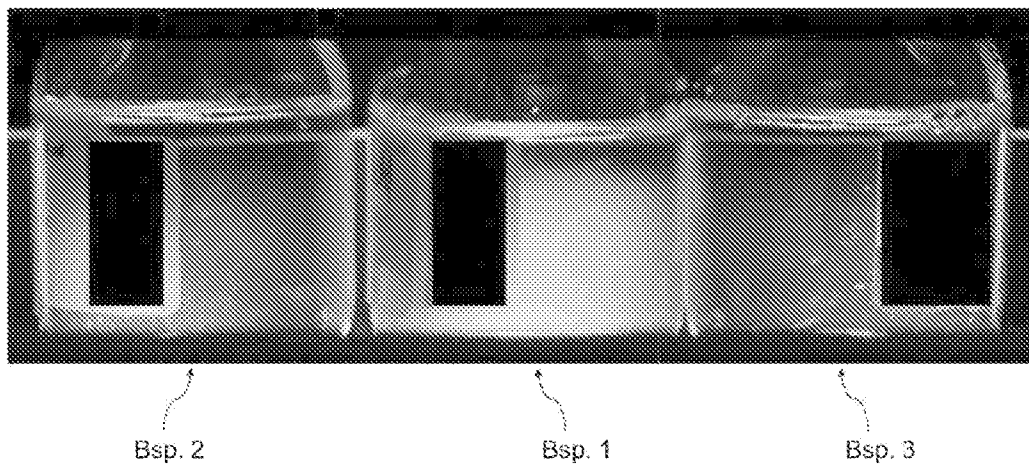


Abbildung 4

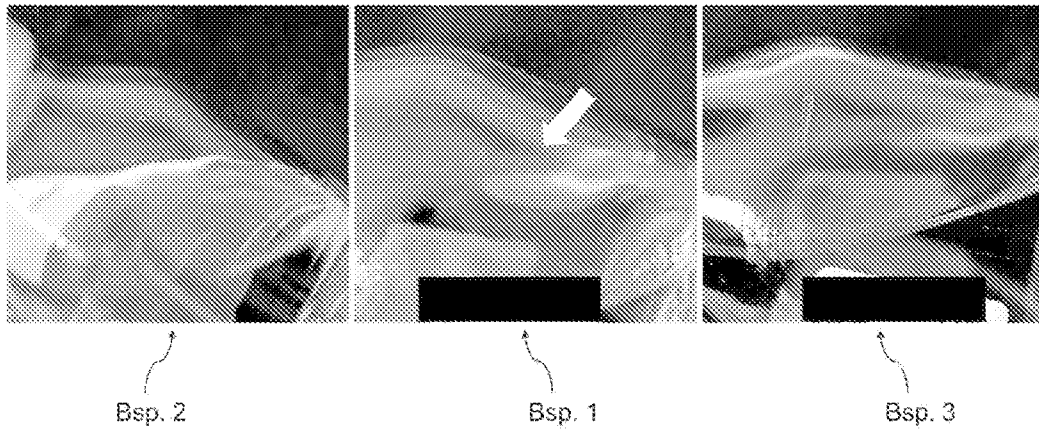


Abbildung 5

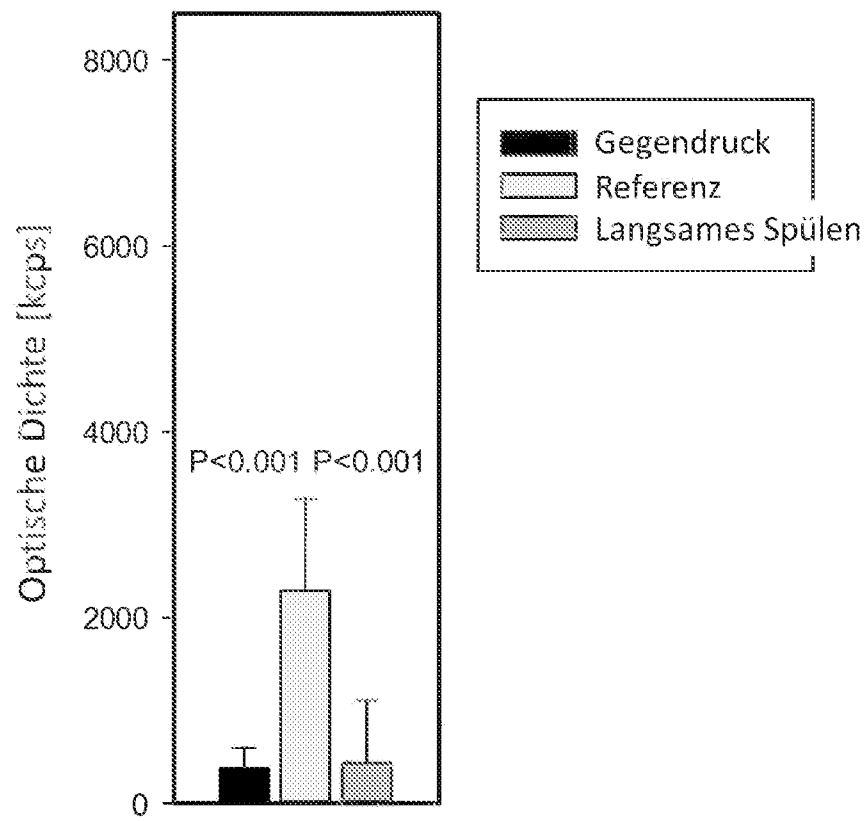


Abbildung 6

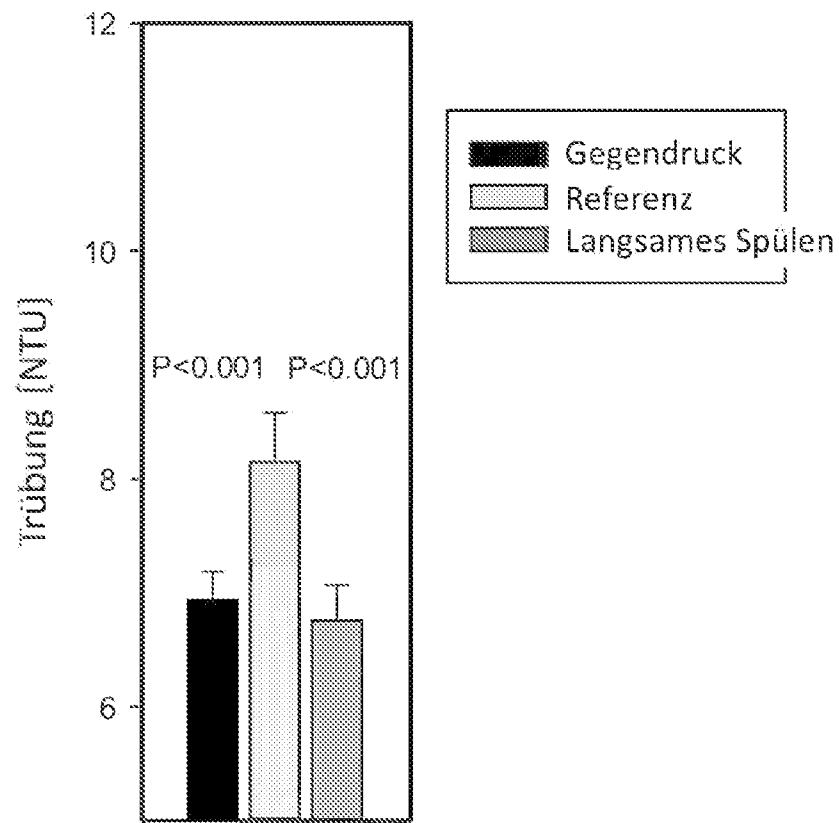


Abbildung 7

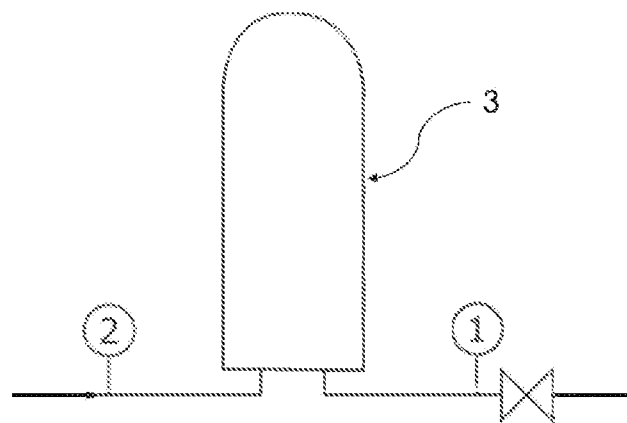


Abbildung 8

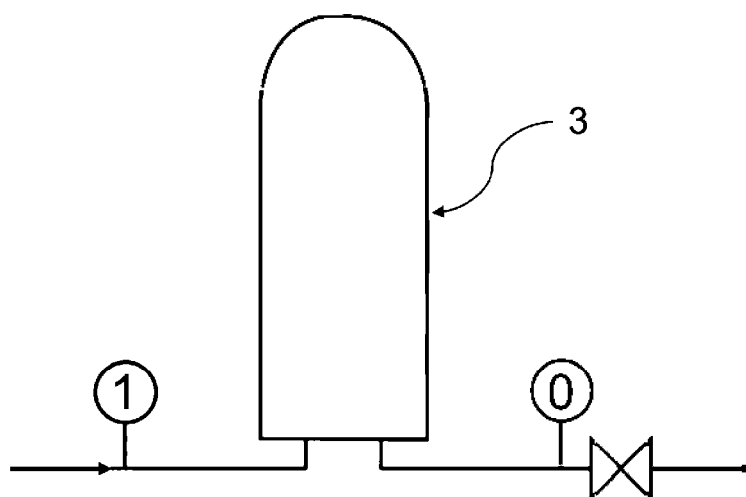


Abbildung 9