

# TRAITEMENT PAR LOVO DE SUSPENSIONS CELLULAIRES DE GRAND VOLUME DANS LE CADRE D'UN PROCESS cGMP

2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés  
- Toute reproduction même partielle est interdite.



DÉVELOPPEMENT RÉALISÉ DANS LE CADRE D'UNE  
COLLABORATION AVEC LA SOCIÉTÉ PDC\*LINE PHARMA

H. Egelhofer, UTICell, EFS Auvergne Rhône Alpes



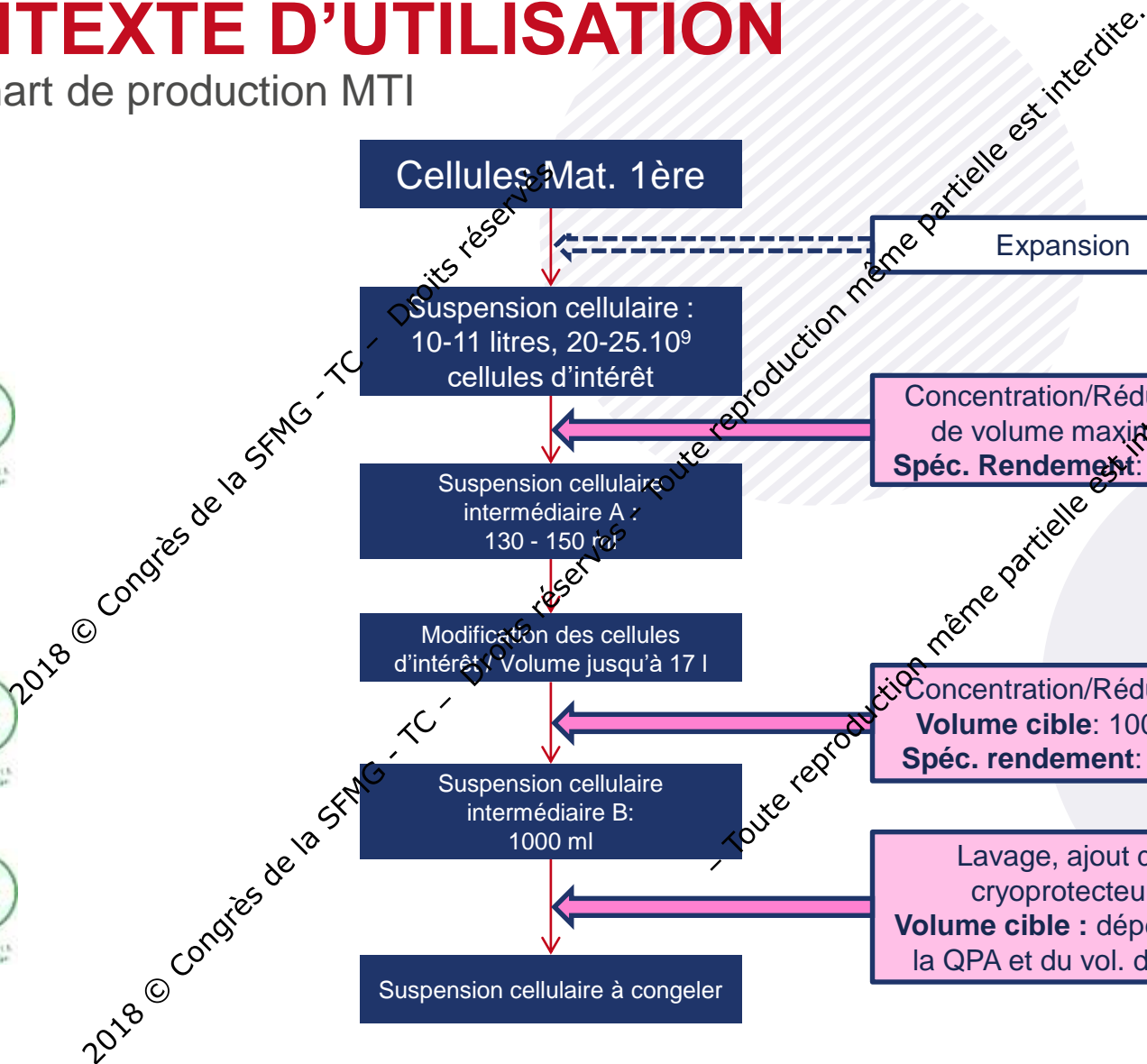
# DEFIS LIÉS AU SCALE UP DES PRODUCTIONS CELLULAIRES À VISÉE THÉRAPEUTIQUE

1. Nombre de cellules à produire élevé
2. Volumes à manipuler
3. Equipements adaptés pour une assurance de reproductibilité et de robustesse.
  1. Upstream processing : Culture / Expansion en Bioréacteur
  2. Downstream processing : Gestion des fluides
    1. Transferts aseptiques (concernent aussi l'upstream)
      1. Connexions stériles
      2. Connecteurs aseptiques
    2. Concentration / Réduction de volumes adaptés à l'échelle
      1. Centrifugation : 1000 ml
      2. Semi-automatique : < 2500-3000 ml
  - 3. Automatique : small scale : LOWO jusqu'à 22 litres**
  4. Automatique : High scale : Différentes solutions selon l'application : > 100 l
4. Pharmaco-Biologique :
  1. Cellules conformes à l'attendu
  2. En nombre suffisant pour assurer la QPA optimale
5. Défis sur les durées/délais de traitement.



# CONTEXTE D'UTILISATION

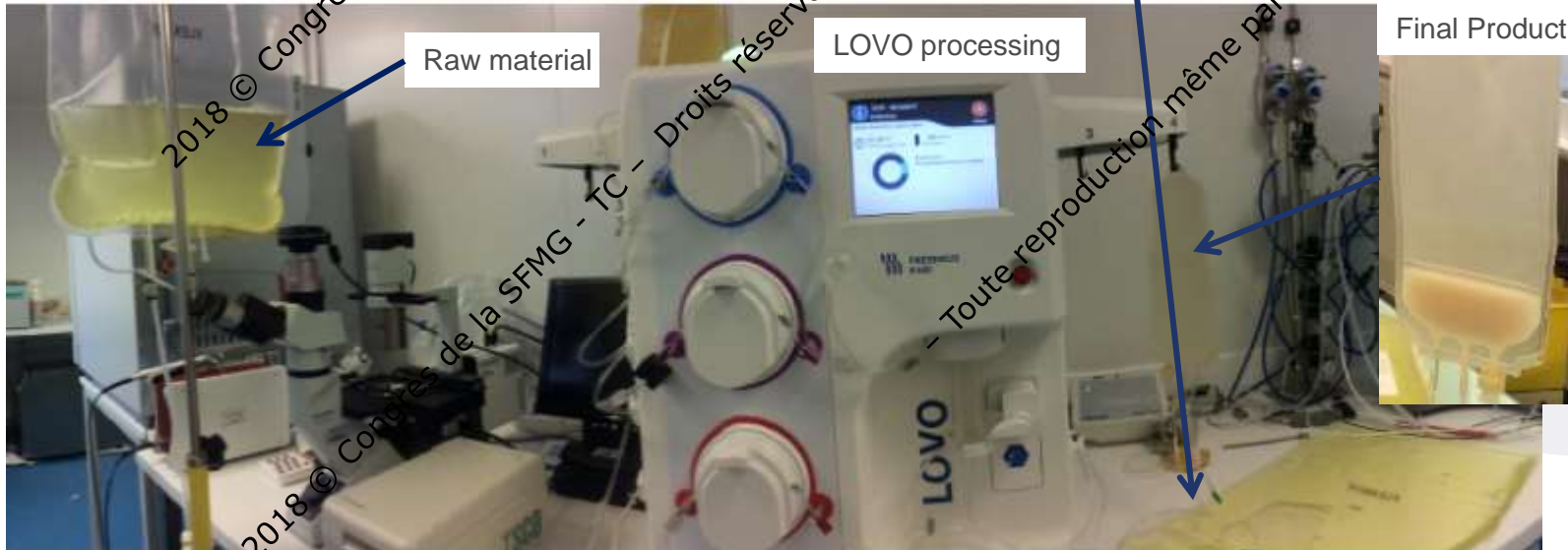
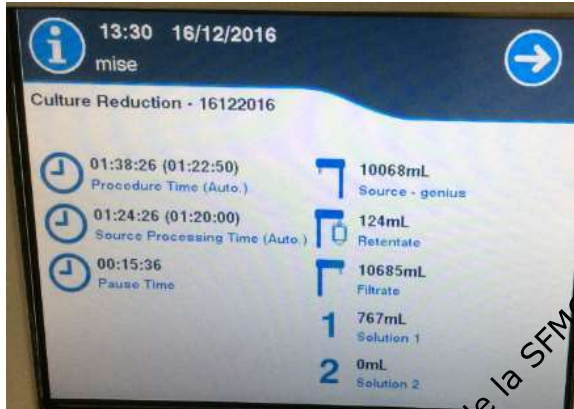
Flowchart de production MTI



# CONCENTRATION / REDUCTION DE VOLUME I

## MATIERE PREMIERE APRES EXPANSION

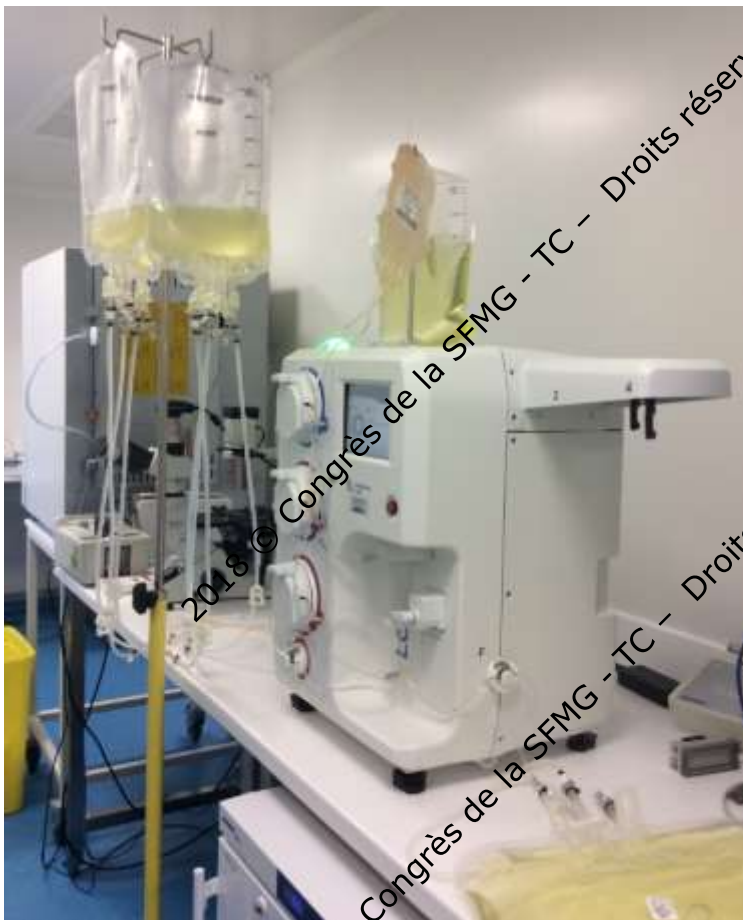
Procédure réalisée après 10-12 jours de culture : le but est de retirer le milieu « usagé », de réduire le volume pour la suite des opérations, de resuspendre dans du milieu « neuf ».



# CONCENTRATION / RÉDUCTION DE VOLUME II

## PRODUIT INTERMÉDIAIRE

Procédure réalisée après traitement des cellules d'intérêt : le but est de retirer les produits de traitement en excès et de réduire le volume pour la suite des opérations, de resuspendre dans un milieu « neuf ».



Poche nouvelle 20 litres

# LAVAGE ET MISE EN CRYOPROTECTEUR

## TRAITEMENT DU PRODUIT INTERMÉDIAIRE B

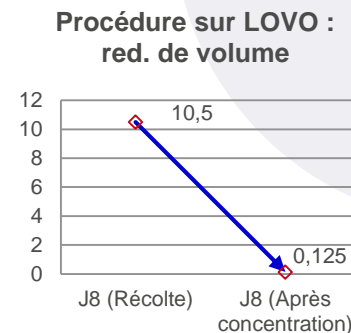
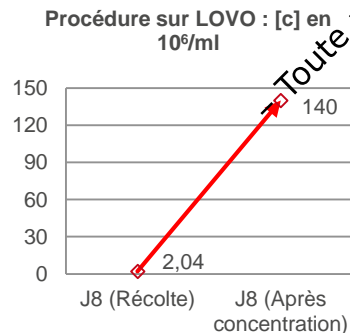
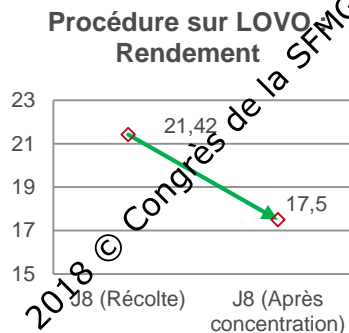
### Procédure réalisée pour la préparation des DS à congeler

1. A partir d'une suspension cellulaire, retirer le milieu de suspension et le remplacer par le milieu cryoprotecteur
2. Opérations en 2 étapes
  - Lavage de la suspension cellulaire
  - Mélange avec le cryoprotecteur
    - **Respect du délai max. avant congélation (7 h) : durée ajout + répartition aseptique**
    - **En automatique, problème de la densité du cryoprotecteur → paramétrage à adapter selon le cryoprotecteur utilisé** (ex : 1,024 pour un mélange SA/DMSO 10%)

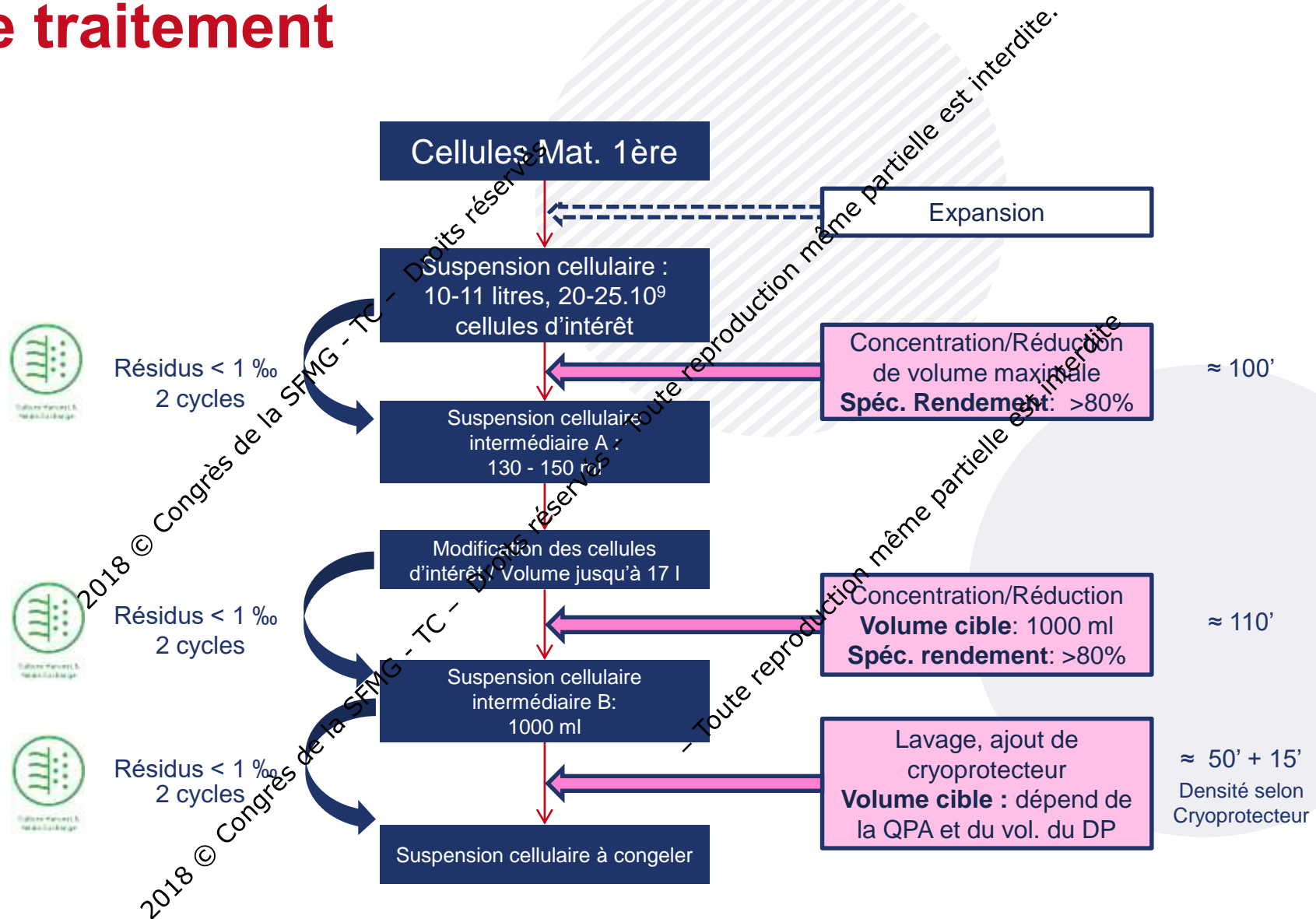
# RESULTATS (N=10)

|                          | Numération*                 | Viabilité                    | Volume   |
|--------------------------|-----------------------------|------------------------------|--|
| Avant                    | 11458                       | 92,4%                        | 9344,4   |
| Après                    | 1013,8                      | 92,3%                        | 132,6  |
| Ratio Avant/Après        | 86,3 ± 10,2%<br>(Rendement) | -0,05 ± 3,32%<br>(Variation) | -2,6 Log ± 0,3<br>(Log réduction)                  |
| Facteur de concentration | 59,71 ± 13,51               |                              |  |
| Volume résidu            |                             |                              | 23,0 ± 7,5 ml<br>(0,2% du vol. initial)            |
|                          |                             |                              | < 1 ml par rapport au produit de départ (2 cycles) |

\* Num. manuelle au BT



# IMPACT sur les résidus ET sur les durées de traitement





# Aide au paramétrage (UTICell)

| Fiche de paramétrage du LOVO pour la réduction de volume |                                   |  |                                       |
|--|-----------------------------------|--|---------------------------------------|
| Nombre total de cellules :                               | <input type="text" value="10"/>   | $10^6$   | Diamètre cellules ( $\mu\text{m}$ ) : |
| Volume source :  | <input type="text" value="10"/>   | ml   | 10                                    |
| Source PCV :   | <input type="text" value="0,00"/> | Si PCV = 0,00, saisir <b>0,01</b> dans le LOVO |                                       |
| Vol. cellule :   | 5,236E-10                         | ml   | Pour information                      |
| Vol. culot :   | 0,00                              | ml   |                                       |

| Fiche de calcul de paramétrage du LOVO pour la congélation |                                   |            |                                       |
|--|-----------------------------------|------------|---------------------------------------|
| Nombre total de cellules :                                 | <input type="text" value="10"/>   | $10^6$     | Diamètre cellules ( $\mu\text{m}$ ) : |
| Nombre de flacons à x.10e6 :                               | <input type="text" value="150"/>  |            | Volume source :                       |
| <b>Volume total à répartir :</b>                           | <input type="text" value="150"/>  | ml         | 150                                   |
| Densité DMSO :   | 1,1                               |            | Pour information                      |
| Densité Albumine :   | 1,016                             | (Info LFB) |                                       |
| Volume DMSO/Alb à préparer :                               | <input type="text"/>              | ml         | (Ou autre cryoprotecteur)             |
| Volume DMSO :  | <input type="text"/>              | ml         |                                       |
| Volume Albumine :  | <input type="text"/>              | ml         |                                       |
| % DMSO :   | <input type="text"/>              |            |                                       |
| Densité mélange :  | <input type="text"/>              |            | Pour information                      |
| Poids du mélange :   | <input type="text"/>              | g          |                                       |
| Final project volume à paramétrer dans le LOVO :           | <input type="text"/>              | ml         |                                       |
| Source PCV :   | <input type="text" value="0,00"/> |            |                                       |
| Vol. cellule :   | 5,236E-10                         | ml         | Pour information                      |
| Vol. culot :   | 0,00                              | ml         |                                       |

Le volume de la poche après lavage

Saisir le nb de cellules après lavage



# CONCLUSIONS

## Pas d'effets délétères sur les cellules !

- identité et pureté préservée,
- perte de viabilité négligeable malgré 3 passages successifs sur la machine,
- pas d'effets centrifuges (pelletisation),

**Intérêt de l'automatisation de la préparation à la congélation.**

**Le LOVO s'inscrit dans un process en circuit clos (connexion stériles possibles)**

**Equipement adapté pour les volumes importants à l'échelle d'une structure GMP / MTI**

**Paramétrable à volonté... à condition de bien connaître les limites globales (volumes, vitesse de rotation du spinner, débits, PCV ... etc.) et de bien connaître les cellules traitées**

**Virtuellement, il n'y a pas de limites... sauf celles imposées par les cellules (Délai de traitement, colmatage du spinner...)**

# CONCLUSIONS annexes

## Faible encombrement de la machine

- Tient sur une paillasse standard

## Précision des procédures (poids / volume)

Très intuitif mais... nécessite d'avoir compris comment la machine travaille ! Tout est dans les ratios de réduction.

Peut travailler en séquences pendant lesquelles on peut compléter la procédure : ex. pauses avec ajout de produits pendant la procédure... etc

Résistant à la décontamination au peroxyde d'hydrogène (procédure de décontamination)

Compliant BPF/cGMP, 21 CFR part 11

Exploitation des logfiles, connexion possible au réseau

# MERCI

**Equipe MTI de l'UTICell** : Sébastien MICHEL, Mélody PEYRET, Aurélie LECOUD, Emilie Brunner, Floriane MULLER, Laura NOTEL, Sonia CHOUK, Anaïck MOISAN

**Equipe support FRESENIUS KABI** : Mathieu Mercier, Vincent LEYNIER

**Mention spéciale à Steven BINNINGER !!!** A great pleasure to work with you !

**Merci également à PDC\*Line Pharma d'avoir accepté ce challenge** : Claude DEDRY, Mike COLLODORO

