

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



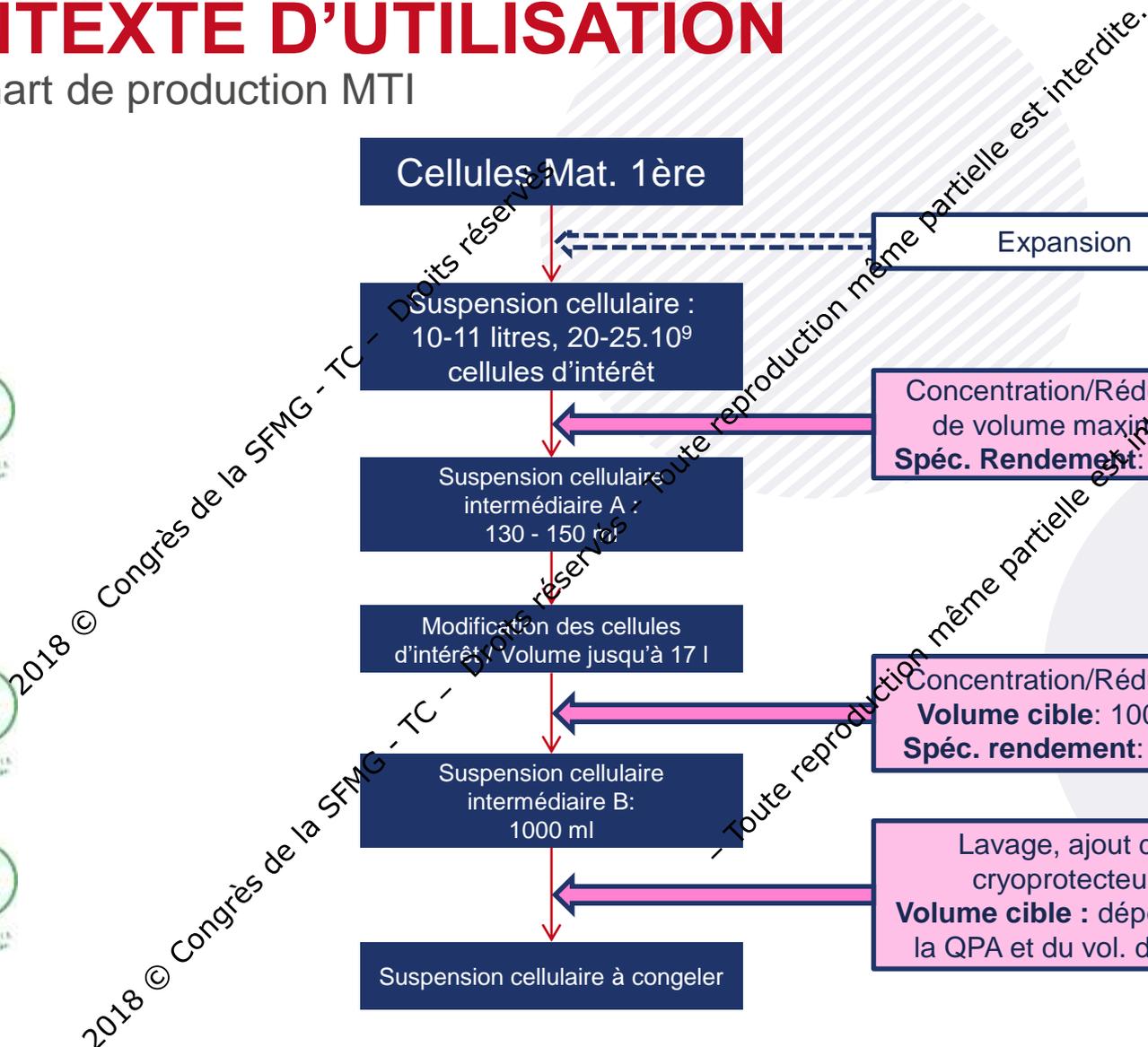
DEFIS LIÉS AU SCALE UP DES PRODUCTIONS CELLULAIRES À VISÉE THÉRAPEUTIQUE

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

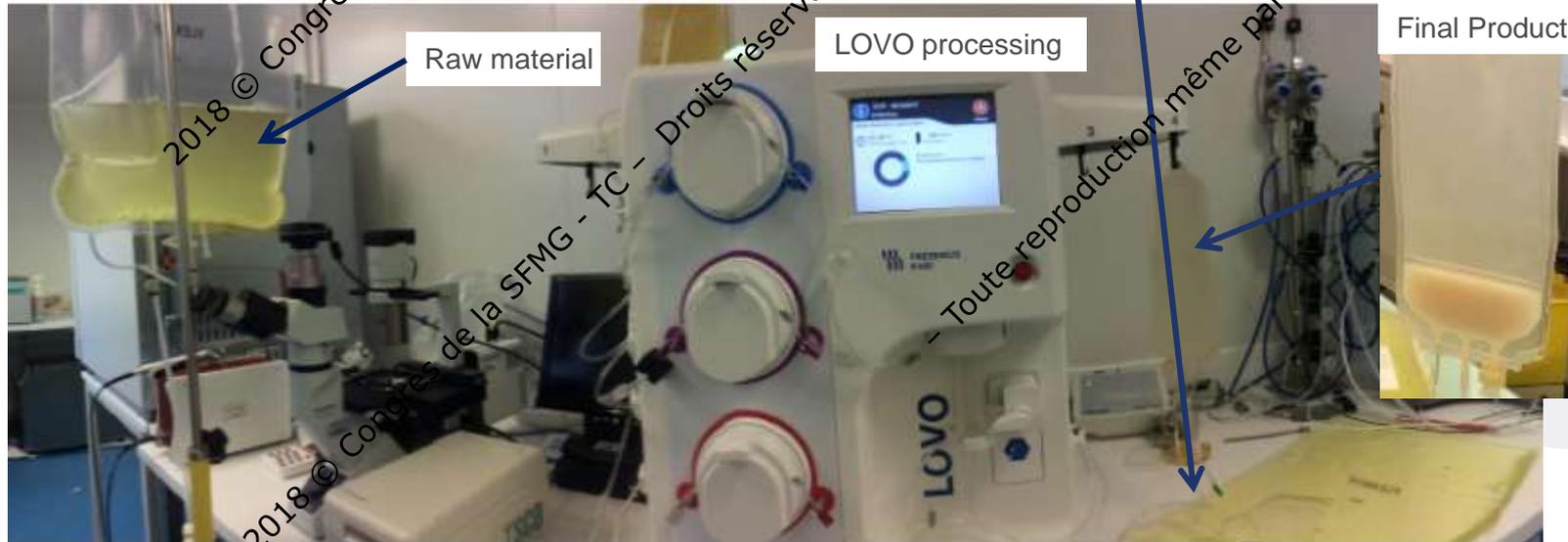
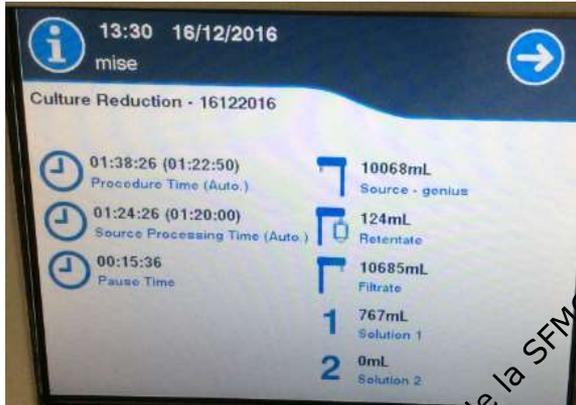
Flowchart de production MTI



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

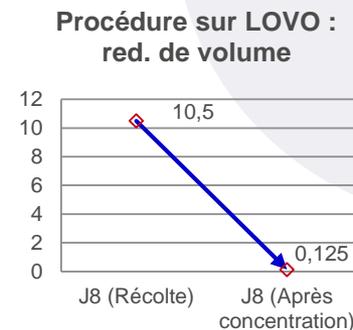
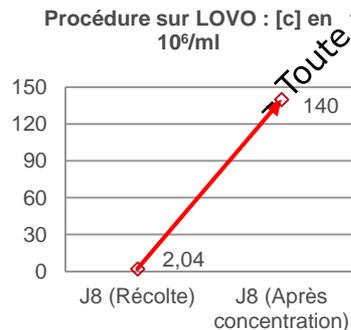
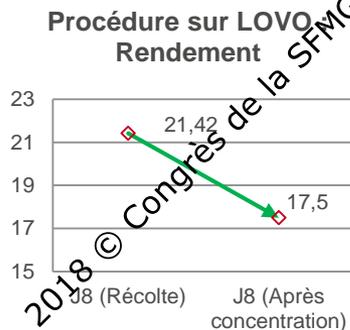
Procédure réalisée pour la préparation des DS à congeler

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%)

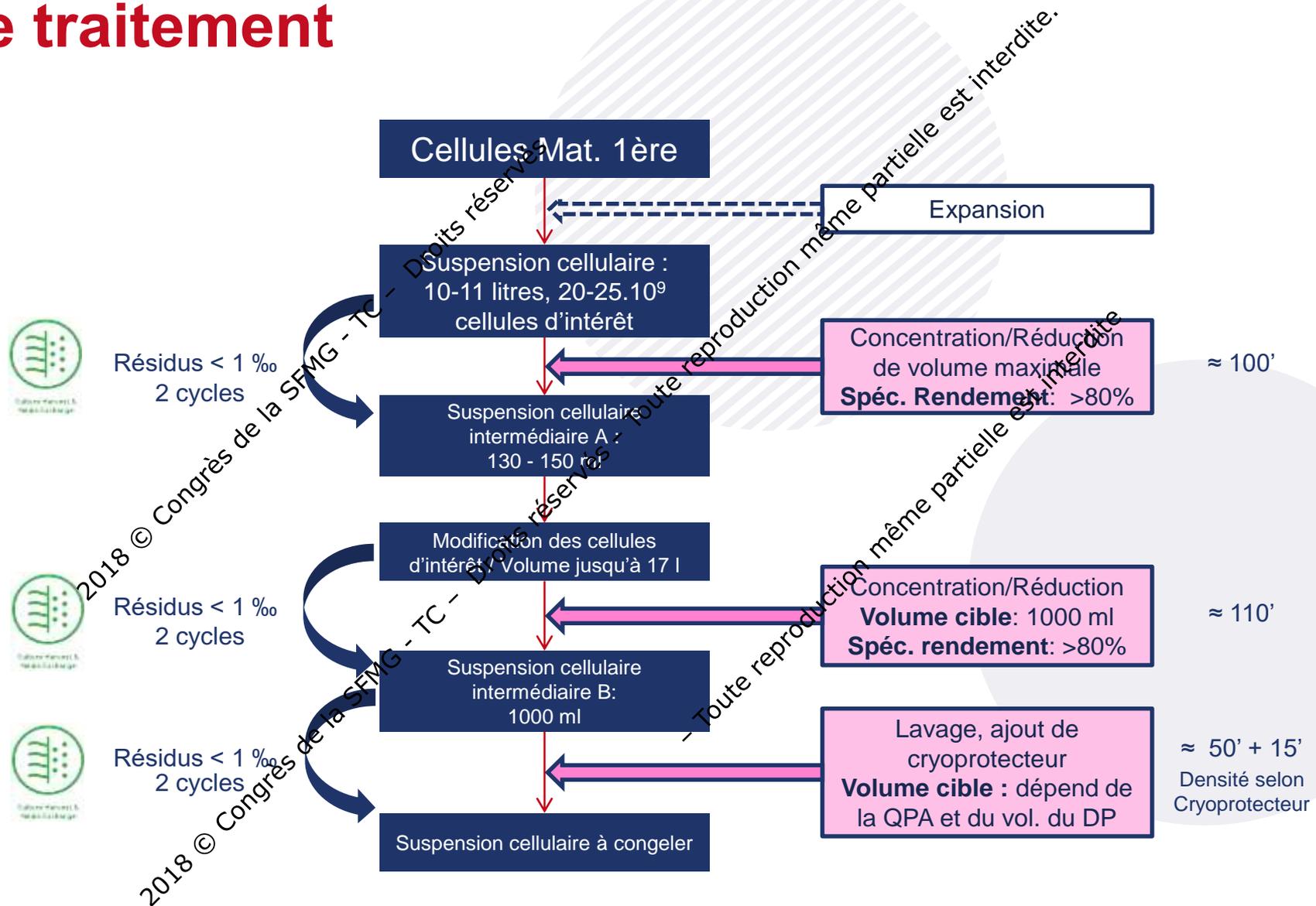
RESULTATS (N=10)

	Numération*	Viabilité	Volume
Avant	11458	92,4%	9344,4
Après	1013,8	92,3%	132,6
Ratio Avant/Après	86,3 ± 10,2% (Rendement)	-0,05 ± 3,32% (Variation)	-2,6 Log ± 0,3 (Log réduction)
Facteur de concentration	59,71 ± 13,51		
Volume résidu			23,0 ± 7,5 ml (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 (μm) :
Volume source :	<input type="text" value="10"/>	ml	10
Source PCV :	<input type="text" value="0,00"/>	Si PCV = 0,00, saisir 0,01 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 (μm) :
Nombre de flacons à x.10e6 :	<input type="text" value="150"/>		Volume source :
Volume total à répartir :	<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

