



Impacts et Bénéfices du Concept PAT dans les Procédés Industriels "Downstream"



PARIS 30 OCTOBRE 2013
MARGIT HOLZER



/// Process Analytical Technologies (PAT)

- ❖ Définition
- ❖ Bénéfices
- ❖ Domaines d'Applications
- ❖ Comment introduire le concept PAT dans un procédé ?

/// 1^{ière} étude de cas : Contrôle élaboré d'une Dilution En Ligne ("In-line dilution").

/// 2^{ième} étude de cas : Monitoring en parallèle ("at line") d'un procédé chromatographique par lots ("batch process").

/// 3^{ième} étude de cas : PAT pour un procédé chromatographique séquentiel multi-colonne.

/// Conclusions



/// PAT = Process Analytical Technologies

/// Définition de PAT selon la FDA

Systeme pour concevoir, analyser et contrôler un procédé de fabrication grâce à des mesures faites régulièrement (pendant le procédé) de paramètres critiques et de caractéristiques de performance de matériaux bruts dans le but d'assurer la qualité correcte du produit final".

/// PAT est un guide de la FDA

pour encourager l'industrie à développer et à mettre en place volontairement des approches pertinentes basées sur les développements technologiques les plus récents pour la production de produits pharmaceutiques innovants.

Définition



/// **Contrôle/Analyse hors ligne ("Off line")**
Les échantillons sont collectés et analysés au laboratoire

/// **Contrôle/Analyse en parallèle ("At line")**
Une petite partie du produit est dérivée/ prélevée pour être analysée à proximité du procédé.



/// **Contrôle/Analyse en ligne (« On line »)**
Une petite partie du produit est dérivée pour être analysée sans dégradation et retourne ensuite au flux principal



/// **Contrôle/Analyse directe ("In line")**
L'analyse est faite à l'intérieur du système lui-même





/// Méthodes analytiques traditionnelles "off line" vs PAT

❖ Méthodes analytiques traditionnelles "off line"

- Coûts élevés en personnel et laboratoire d'analyse
- Temps longs pour avoir les résultats des analyses
-> occupation des zones couteuses de la production

❖ Méthodes analytiques innovatrices "on", "in" ou "at-line"

- Coûts potentiellement élevés équipements et maintenance
- Information en continu du procédé analytique
- Compatible avec une automation du procédé

❖ Outil multi-variable, pour la conception, acquisition & analyses des données

- Base de données pd développement, modèles mathématiques, évaluations statistiques -> modèle de prédiction

❖ Control du procédé

/// Objectif principal du PAT : compréhension & maîtrise du procédé

❖ Un procédé est bien compris et bien maîtrisé quand :

- Toutes les sources critiques de variations sont identifiées et comprises.
- Les sources de variations sont prises en compte dans le procédé.
- Les critères de qualité du produit peuvent être prédits précisément et de façon fiable.



/// Bénéfices attendus pour l'Industrie

- ❖ Meilleure compréhension du procédé pendant son développement
 - ❖ Meilleur et plus efficace contrôle lors de changements dans le procédé
 - ❖ Meilleur contrôle du procédé pendant sa mise en œuvre
 - ❖ Moins de lots non-conformes
 - ❖ Gain de temps
 - ❖ Réduction des coûts (Contrôle Qualité)
 - ❖ Introduction of « real time release »
- > **Réduction des coûts de production**



/// Paramètres de monitoring typiques :

- ❖ En amont (USP : Up Stream Process) : OD, O₂, glucose, teneurs en acides aminés, teneur en acides organiques, etc.
- ❖ En aval (DSP : Down Stream Process): UV, pH, conductivité, indice de réfraction, etc.

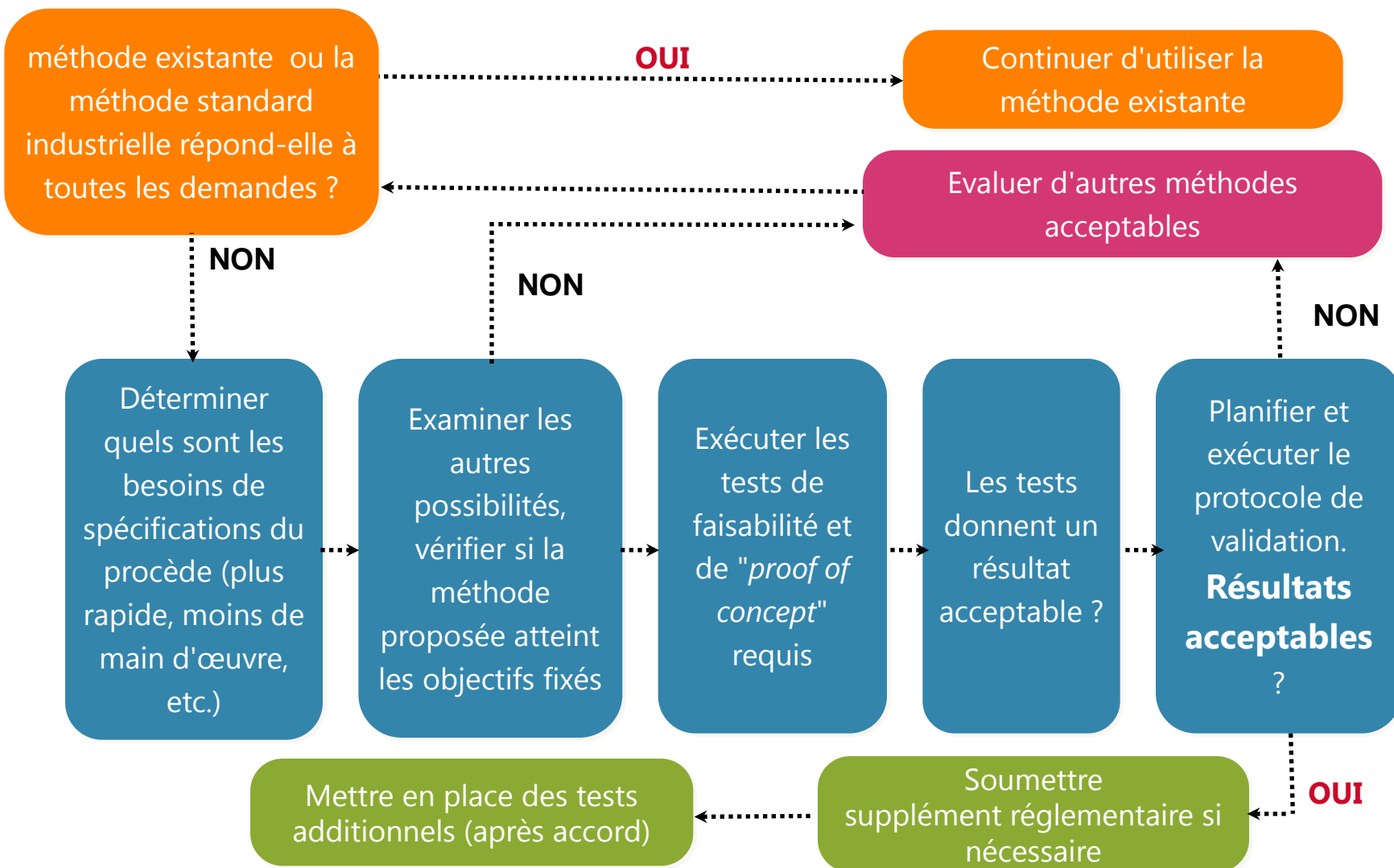
/// Des applications nouvelles en USP et DSP sont décrites dans la littérature mais lesquelles sont réellement utilisées? Quelques exemples :

- ❖ Utilisation de la "on-line capacitance spectroscopy" pour surveiller la variation de la taille des cellules CHO cultivées dans les bio-réacteurs à perfusion
- ❖ Utilisation de « micro DNA chip » comme indicateurs de la physiologie cellulaire et de la qualité des produits
- ❖ Utilisation de l'échantillonnage automatique et stérile dans les bio-reacteurs couplé avec la chromatographie pour l'analyse des acides aminés et des protéines ou avec CE pour l'analyse des protéines
- ❖ Utilisation de la HPLC avec prise d'échantillon automatique pour analyser les effluents d'étapes de chromatographie afin de déterminer quand collecter les fractions
- ❖ PAT implémenté dans des procédés multi-colonne de chromatographie continue (SMB-Varicol®) à l'échelle industrielle



Comment introduire PAT dans un Procédé ?

Sélection, Evaluation & Validation d'une Méthode Rapide



Comment introduire PAT dans un Procédé ?



- /// Les analyseurs de procédé doivent être:
 - ❖ Efficaces
 - ❖ Robustes
 - ❖ Simples d'utilisation
 - ❖ Ne pas nécessiter de prétraitement de l'échantillon
 - ❖ Avoir une interface compatible avec le procédé (fibres optiques, par ex.)
 - ❖ Avoir un temps de réponse court
- /// Base de donne -> création des corrélations, modèles mathématiques
- /// Les possibilités de transfert de PAT doit être examinées:
 - ❖ Lors de la conception de l'équipement
 - ❖ Lors du changement d'interface
 - ❖ Au niveau de la calibration
 - ❖ Au niveau de la maintenance
 - ❖ Au niveau de la qualification de l'équipement et validation du software
 - ❖ Au niveau de la sécurité (opérateur, contamination potentielle du produit, etc.)
 - ❖ Satisfaire au aspects réglementaires
 - ❖ Au niveau du coût global et du retour sur investissement

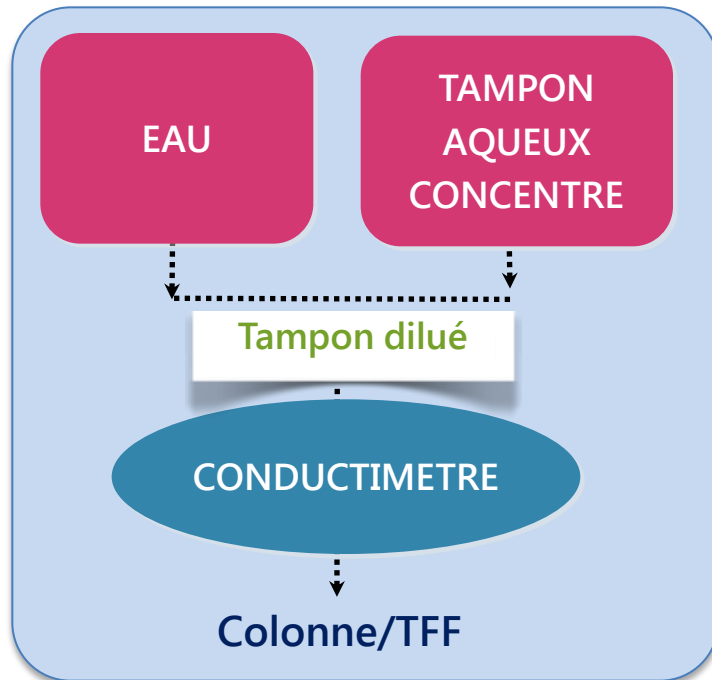


1^{er} Cas étudié : Contrôle avancé pour une dilution En-Ligne

/// Définition:

- ❖ La mesure/contrôle "En Ligne" du système de dilution permet de contrôler la composition de tampons dilués utilisés dans les procédés chromatographiques

/// Principes :



/// Bénéfices

- ❖ Taille de l'équipement plus réduite (réservoirs, pompes, etc.)
- ❖ Surface des salles propres réduite
- ❖ Consommation d'énergie réduite
- ❖ Coûts de l'investissement réduit (environ 20%)

1^{er} Cas étudié : Contrôle avancé pour une dilution En-Ligne



/// Points principaux. Challenges

❖ Robustesse du procédé aux anomalies

- Pression dans la boucle d'Eau
- Variations brusques de la pression dans la boucle suite à demandes multiples
- Pression dans les lignes de tampon
- Contre-pression de la colonne de chromatographie

❖ Boucles de rétroaction rapides

- Cascades de conductimètres/débitmètres
- Stratégies d'élimination/redémarrage en cas de situations hors spécifications

1^{er} Cas étudié : Contrôle avancé pour une dilution En-Ligne

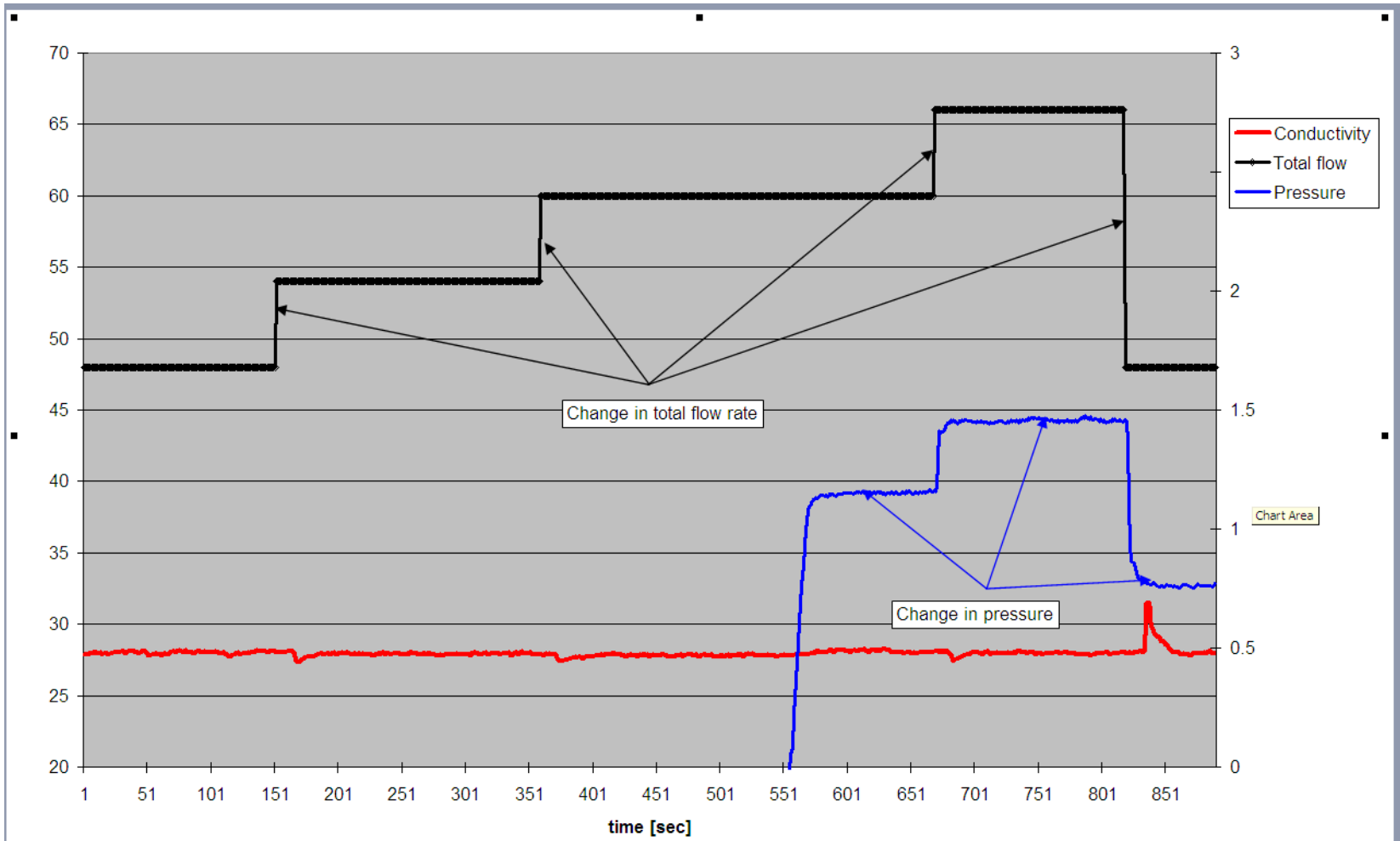


/// Applications à grande échelle

- ❖ Unités d'Ultrafiltration
- ❖ Unités de chromatographie



1^{er} Cas étudié : Contrôle avancé pour une dilution En-Ligne





2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

/// Qu'est le "At-line" monitoring d'un procédé chromatographique ?

❖ "At line" monitoring permet de :

- Suivre le procédé (par ex : affichage de profiles d'élution) avec des détecteurs qui prélèvent un échantillon automatiquement, l'analyse et produit des informations quantitatives & qualitatives.
- Prendre des décisions quant à l'évolution future du procédé

/// Cas étudié :

❖ Développement de 2 technologies de monitoring pour la purification de phospholipides qui permettent de:

- Suivre la séparation en continu
- Déterminer les stratégies de combinaison des fractions
- Déterminer la composition du produit final purifié par Spectrométrie de masse



2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots



/// Méthodologie

- ❖ Le monitoring classique par détection UV ne fonctionne pas avec les phospholipides
- ❖ Evaluation de 3 méthodes de détection : NIR, ELSD, MS au niveau Laboratoire
- ❖ ELSD et MS donnent les résultats souhaités
- ❖ Passage à l'échelle Pilote
- ❖ Tests de reproductibilité
- ❖ Etude du passage à l'échelle industrielle



Colonne de chromatographie Novasep LC 50

2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots



/// ELSD : Evaporative Light Scattering Detector

- ❖ Applicables aux produits semi-volatils et non-volatils
- ❖ Donne une réponse linéaire entre l'intensité du signal et la concentration massique
- ❖ Utilisé pour déterminer la stratégie de combinaison des fractions
- ❖ Principes
 - Nébulisation de l'éluent de la colonne (à une température appropriée) par un flux de gaz dans une chambre d'évaporation
 - Le solvant est volatilisé laissant un brouillard de micro-particules qui diffuse un faisceau de lumière sur un dispositif approprié (par ex : photomultiplicateur)
 - Amplification du signal. Le signal est proportionnel à la concentration massique, le facteur de réponse étant pratiquement indépendant du produit.

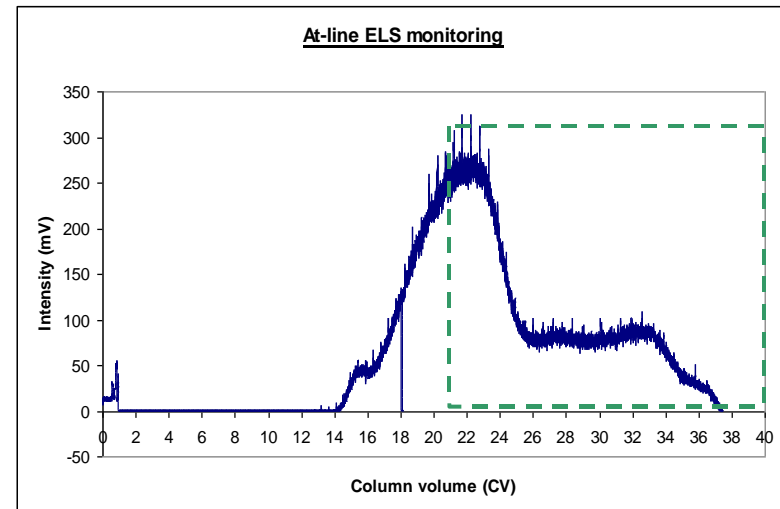
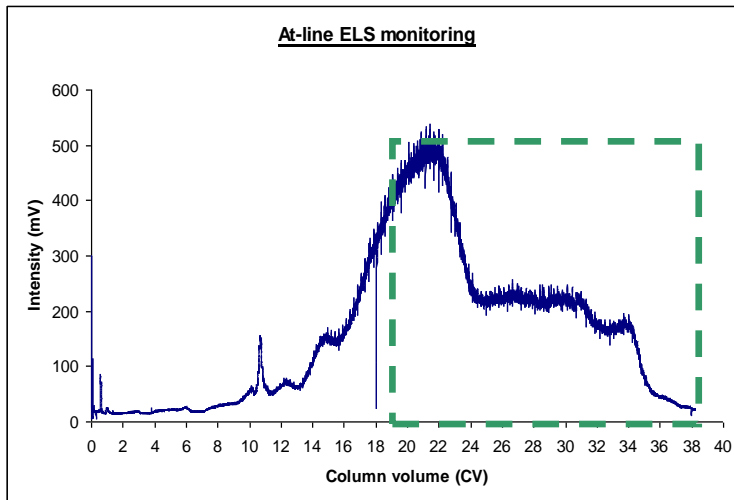


2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

/// Développement à l'échelle Laboratoire

- ❖ Sélection des paramètres: température de nébulisation et d'évaporation, débit de gaz, etc.
- ❖ Détermination des limites de détection et optimisation du facteur de dilution pour passer à l'échelle industrielle

Exemples : chromatogrammes quantité injecté différentes





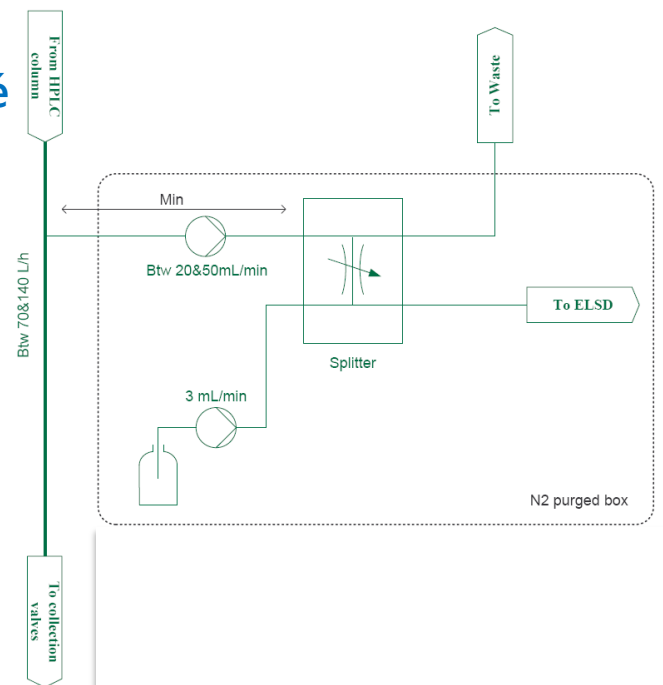
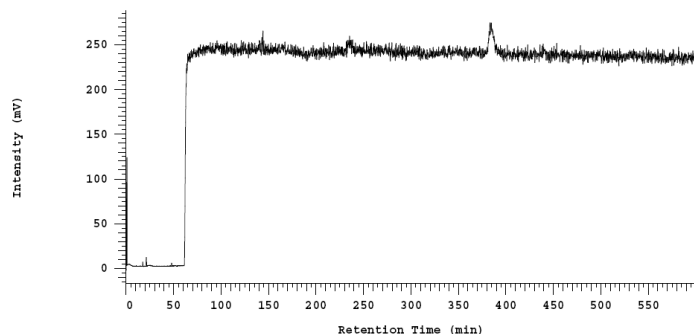
2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

Dispositif de détection "At-line" à l'échelle Pilote

- ❖ Développement d'un système "At line" pour éviter un encrassement trop rapide du détecteur à l'échelle industrielle
- ❖ Test de stabilité de la dilution "On-line" (nécessité de dilution)

Etude du passage à l'échelle industrielle:

- ❖ Etude de l'installation un ELSD près de l'unité de chromatographie dans une boîte purgée dans un environnement ATEX





2^{ème} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

/// Détection par Spectrométrie de masse

❖ Besoin:

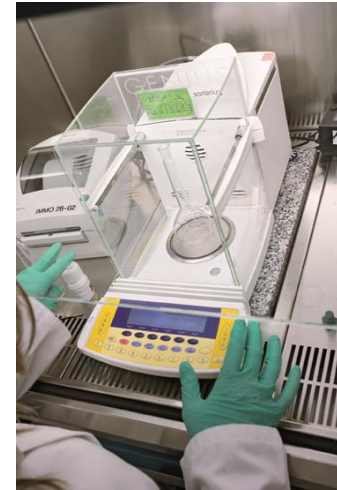
- Chaque famille de lipides a un domaine de masse moléculaire différent

❖ Utilisé pour:

- Suivre la composition en temps réel de chaque famille de lipides dans l'effluent de la colonne
- Analyser la composition du produit purifié

❖ Equipement :

- Spectromètre de masse simple quadropôle
- Système de dilution en ligne

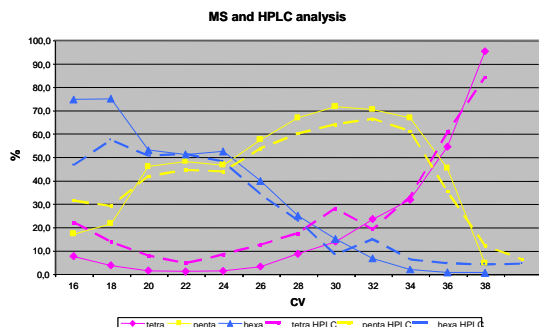




2^{ème} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

/// Développement à l'échelle Laboratoire

- ❖ Acquisition de 6 rapports différents m/Z simultanément
- ❖ Ajustement des paramètres MS pour obtenir la même composition relative que celle donnée par HPLC avec dérivation
- ❖ Etude de l'effet de la concentration pour définir la dilution optimale à l'échelle industrielle



/// Test à l'échelle Pilote

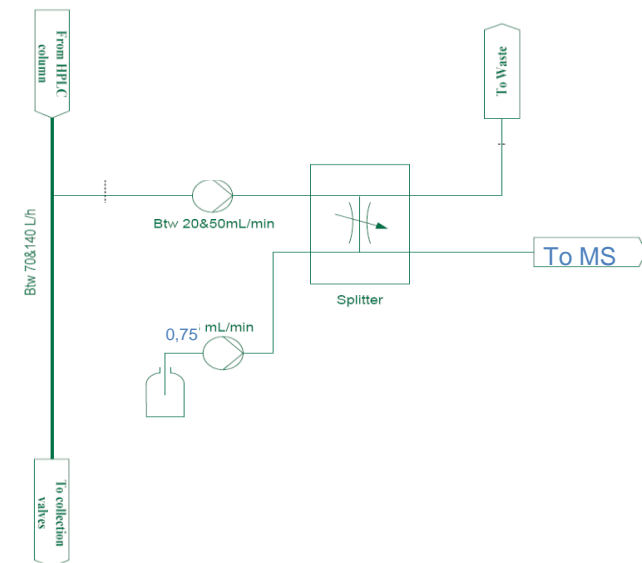
- ❖ Etape chromatographique faite sur une colonne de 50 mm d.i.
- ❖ Profiles de la masse éluée totale par MS, ELSD et masse sèche semblables
- ❖ Composition relative des familles de lipides obtenues par HPLC et MS très voisines



2^{ième} Cas étudié : Monitoring "At line" d'un procédé de chromatographie par lots

- /// En conclusion, la MS peut être utilisée pour:
 - ❖ Suivre "at-line" la masse totale aussi bien que les masses individuelles des familles de lipides pendant une étape de chromatographie préparative.
 - ❖ Définir des stratégies de fractionnement relatives au rapport des masses de chaque famille de lipides.
 - ❖ Déterminer la composition relative en différentes familles dans les fractions éluées: cela élimine les besoins d'extraction, de dérivatisation et d'analyses HPLC.

- /// 2 grandes limites cependant:
 - ❖ Coûts associés.
 - ❖ Complexité à utiliser dans des conditions de fabrication industrielles





3^{ème} Cas étudié : PAT pour un procédé chromatographique multi-colonne

- /// Améliorer l'efficacité de toutes les applications chromatographiques:
 - ❖ Capture ou *Flow through*
 - ❖ Pratiquement tous les types de phases stationnaires (Affinité, IEX, HIC, etc.)
 - ❖ Applicable à la chromatographie basse, moyenne et haute pression

- /// Applicable à tous les types de biomolécules:
 - ❖ rTherapeutics.
 - ❖ Mab's
 - ❖ Peptides
 - ❖ Fractionnement sanguin
 - ❖ Vaccins....





Pardigme typique de la Productivité en chromat. Exemple : capture par Affinité

Chromatographie
d'affinité batch



Augmentation de
capacité de charge
(50 mg/ml – 100 cm/h)

OU

Augmentation du
débit de charge
(24 mg/ml – 450 cm/h)

Chromatographie
d'affinité SMCC



Augmentation de
capacité de charge

ET

Augmentation du débit
de charge

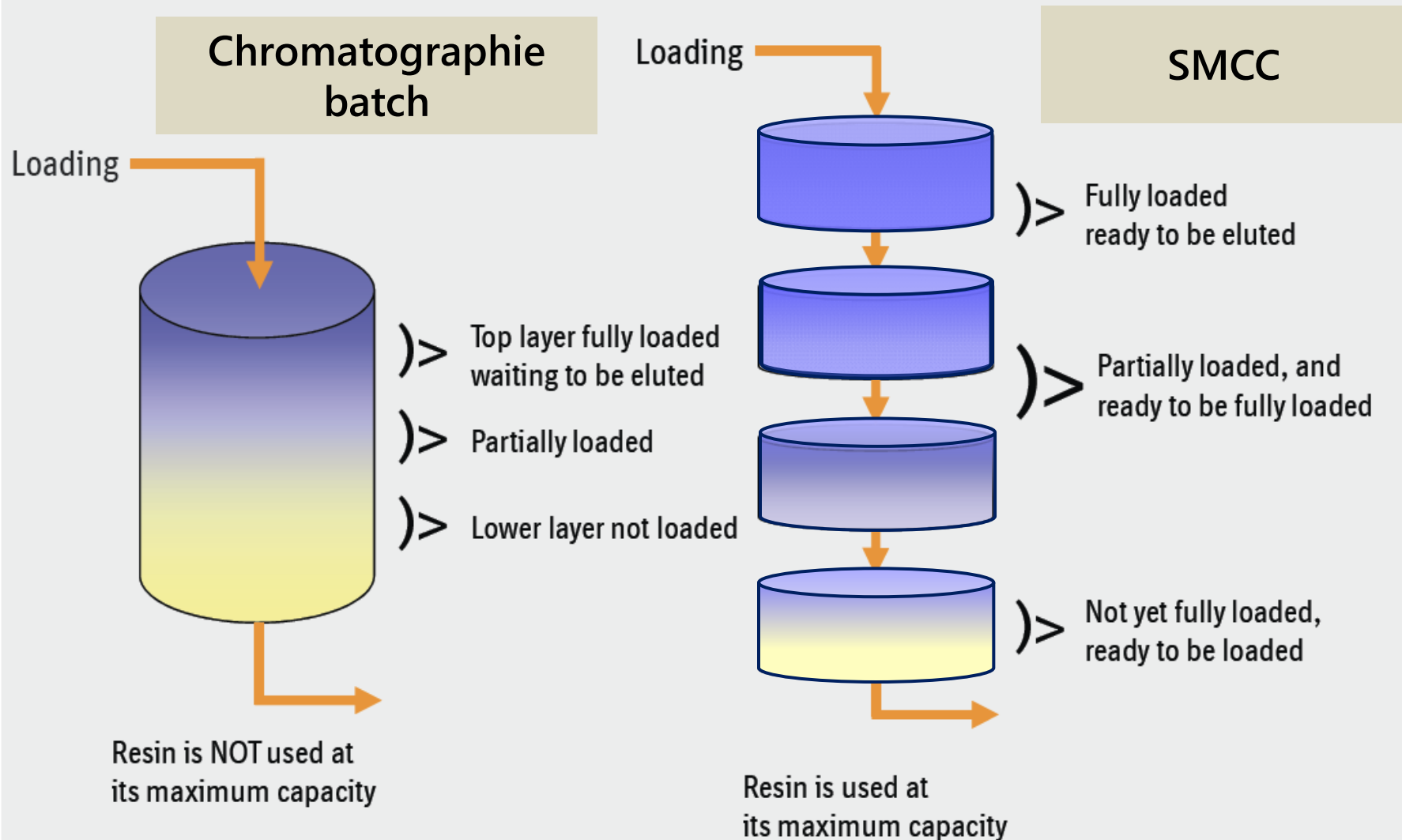
- Thermodynamique des interactions
"Charge/Résine" vs cinétique (débit/vitesse)
- La nécessité d'une vitesse appropriée (et souvent faible) limite la productivité

- Débits significativement plus élevés
- Charge appliquée sur plusieurs colonnes plus petites
- Minimise les limitations cinétiques
- Augmente la capacité de la résine (g/L)



Chromatographie séquentielle multi-colonne.

Principes



Chromatographie séquentielle multi-colonne.

Principes



/// CHROMATOGRAPHIE BATCH

- ❖ **Sous-utilisation de la capacité de la résine**
- ❖ **Gaspillage de l'eau**
 - Quantité d'eau utilisée pour éluer, régénérer, etc., basée sur le volume du lit
- ❖ **Perte de temps**
 - Le haut du lit attend pour être éluée
 - Le bas du lit attend pour être chargé

/// SMCC

- ❖ **Utilisation de moins de résine**
 - Dia des colonnes 3-6 fois plus petit
 - Typiquement 40% de résine en moins
 - Réduction de l'espace requis
- ❖ **Utilisation de moins d'eau**
 - Volume de colonne plus faible
 - Même nombre de Volumes de lit (BV)
 - Moins de tampons
- ❖ **Procédé plus rapide**
 - Plus grande productivité



Aspects réglementaire et Qualité pour SMCC.

Développement du procédé et validation

- /// Stratégies typiques pour la validation des procédés SMCC:
 - ❖ Caractérisation du procédé "Batch": courbes de perçage avec des produits purs et avec la charge
 - ❖ Définition des stratégies de monitoring "At line" et/ou "On line"
 - ❖ Détermination de chaque séquence et dimensionnement de l'unité laboratoire SMCC avec l'aide d'outils de simulation
 - ❖ Tests laboratoire pour vérifier et ajuster le procédé simulé
 - ❖ Test de robustesse et de précision des méthodes de monitoring
 - ❖ Etude de la durée de vie de la résine
- /// Dimensionnement et implémentation du procédé industriel en prenant en compte les aspects IQ, OQ et PQ.
- /// Validation des modules automatisés

Note: SMCC utilise la même les mêmes tampons, solutions de nettoyage et phases stationnaires que le procédés "Batch"



Caractéristiques du BioSC™. Monitoring "At-line"/"On-line", contrôle et PAT

Monitoring du procédé par l'approche "3 niveaux de capteurs":

❖ 1. Contrôles d'entrée:

- Débit
- Conductivité
- Composition du gradient

❖ 2. Profile externe contrôle des fractions:

- Monitoring du pH, débit et UV sur la ligne de collecte
- Sur la ligne de collecte, un changement de la hauteur des pics, de la pente ou de la forme du signal indique :
 - ✓ Une variation de la composition de la charge (titre en protéine, concentration des impuretés)
 - ✓ Un vieillissement de la résine
 - ✓ Un problème technique autre





Caractéristiques du BioSC™. Monitoring "At-line"/"On-line", contrôle et PAT

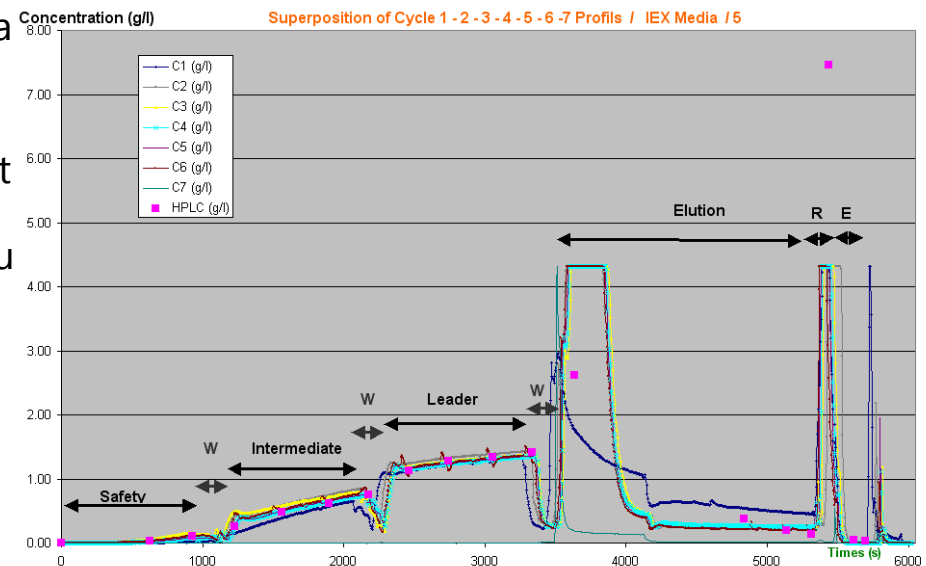
Monitoring du procédé par l'approche "3 niveaux de capteurs":

❖ 1. Contrôles d'entrée:

❖ 2. Contrôle des fractions:

❖ 3. Profile interne après une colonnes

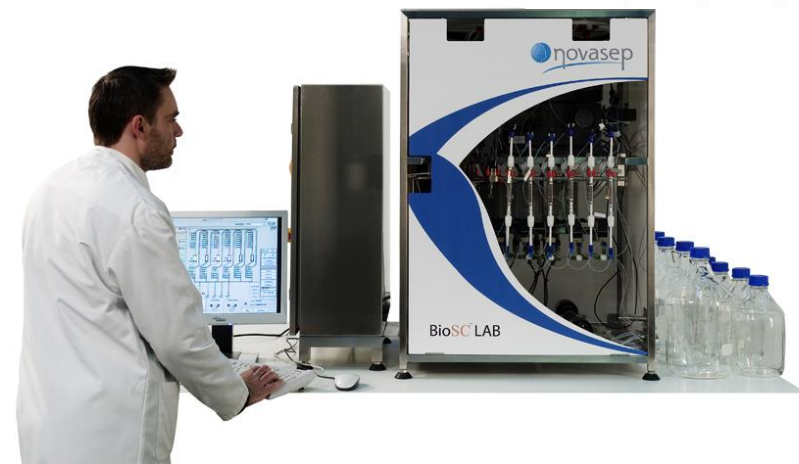
- Monitoring du pH et UV à la sortie de la colonne considérée
- Agit comme un espion de la performance de la colonne en mesurant le profil réel de la protéine à chaque étage du procédé et en le comparant au profil attendu
- Pendant le développement R&D: la forme des profils internes est très utile pour optimiser les étapes
- Pendant la fabrication: des profils similaires d'un cycle à l'autre indiquent qu'un régime stable est atteint. "At line" HPLC est une option.





Caractéristiques du BioSC™. Monitoring "At-line"/"On-line", contrôle et PAT

- /// Contrôle rétroactif ("Feedback") du procédé:
 - ❖ Basé sur les performances chromatographiques attendues
 - ❖ Le logiciel de contrôle du BioSC a la capacité/possibilité d'ajuster le procédé dans une fenêtre de fonctionnement prédéterminée:
 - Ajustement du temps de fonctionnement des colonnes à chaque phase du procédé .
 - Permet de prendre en compte le vieillissement des colonnes et les variations de titre de la charge.



PAT & procédés "Downstream": Conclusions



- /// PAT est une stratégie pour surveiller/contrôler des procédés de fabrication d'une façon continue sur la base de connaissance scientifique
- /// Pour les nouveaux produits et/ou les nouveaux procédés, PAT est utilisé pendant toutes les étapes de la R&D aux changements d'échelle et à la production
 - ❖ Réduire les temps de R&D et la durée des procédés
 - ❖ Définir des procédés efficaces et créatifs
 - ❖ Réduction des risques des non conformités
 - ❖ Possibilité de libérer le produit quasiment en temps réel
 - ❖ Réduction des couts de production



/// Sincères remerciements à:



- ❖ Laurence Pégon
- ❖ Laurent David



Des questions?



Merci pour votre attention

m.holzer@ulyссе-consult.lu