



## Suivi en-ligne et signatures des procédés de production virales

**Emma PETIOT, PhD**

CPE-Lyon

ICBMS – Gembas Team / 3dFab

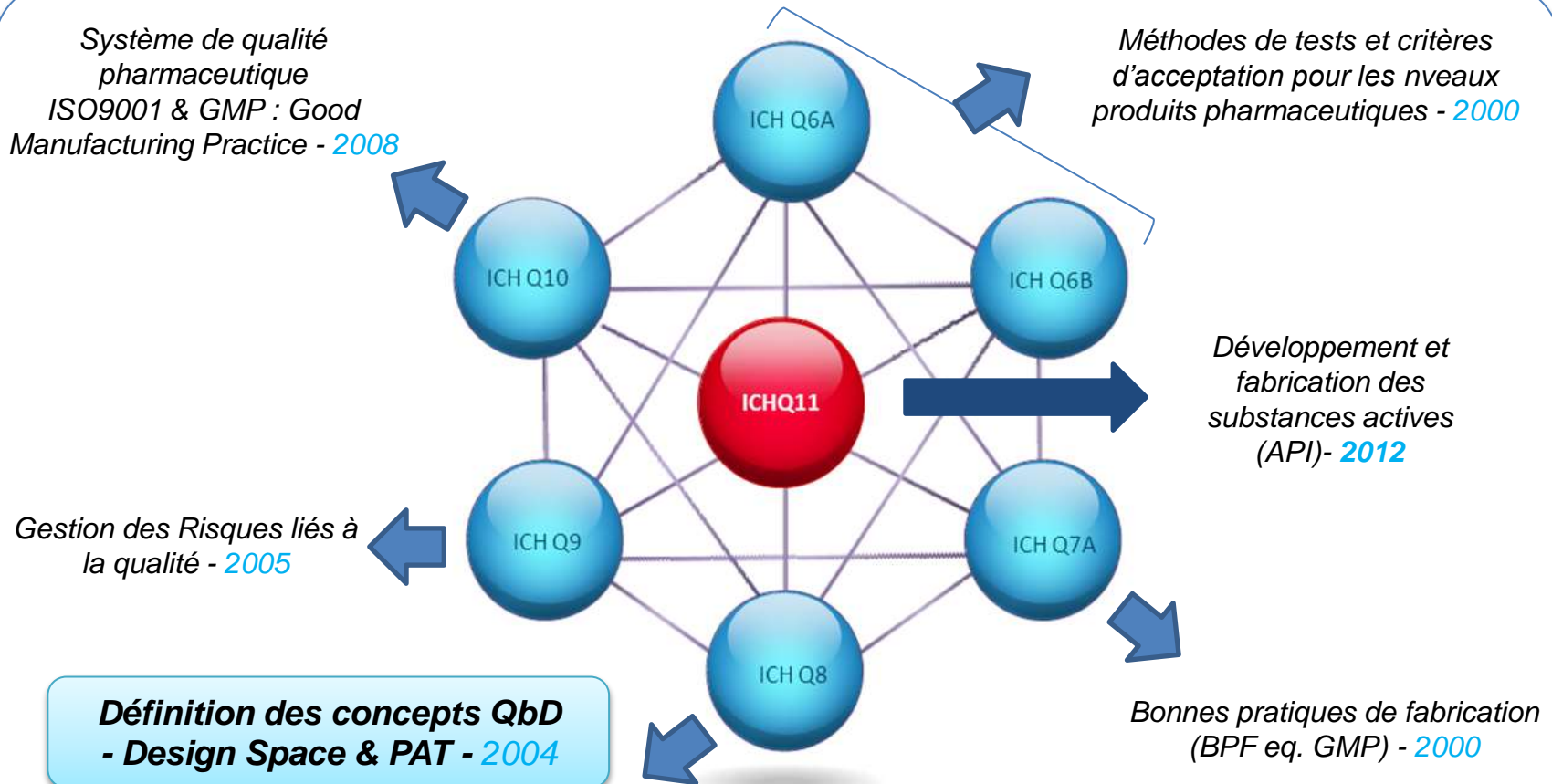
[Emma.petiot@cpe.fr](mailto:Emma.petiot@cpe.fr)



## Un nouveau paradigme pour l'industrie pharmaceutique

*Système de qualité pharmaceutique  
ISO9001 & GMP : Good Manufacturing Practice - 2008*

*Méthodes de tests et critères d'acceptation pour les nveaux produits pharmaceutiques - 2000*



*Développement et fabrication des substances actives (API)- 2012*

*Gestion des Risques liés à la qualité - 2005*

*Bonnes pratiques de fabrication (BPF eq. GMP) - 2000*

**Définition des concepts QbD - Design Space & PAT - 2004**

**Guidance for Industry  
PAT — A Framework for  
Innovative Pharmaceutical  
Development, Manufacturing,  
and Quality Assurance**

**Une initiative récente**

# QbD & PAT – Process Analytical Technology

Un nouveau paradigme pour l'industrie pharmaceutique



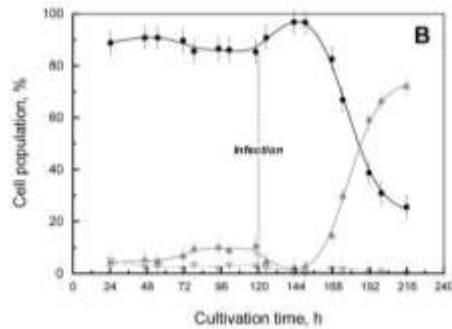
La qualité des produits ne peut plus être testée seulement à la fin du procédé de fabrication, elle doit y être intégrée et être conçue en amont.



- Libérer les lots en temps réel
- Réduire les durées de production
- Maitriser la variabilité
- Faciliter l'amélioration continue
- Accroître l'automatisation

# Deux approches complémentaires pour la démarche QbD & PAT

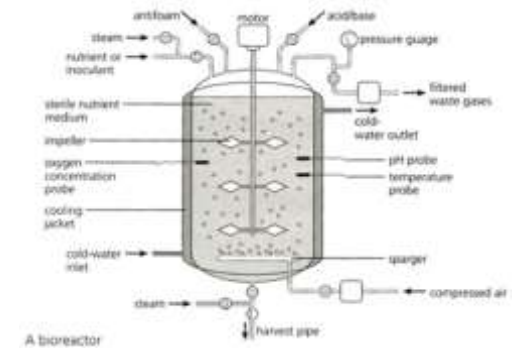
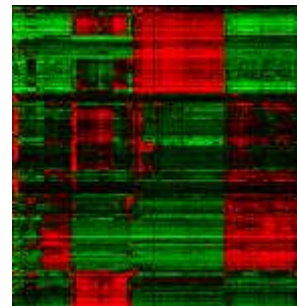
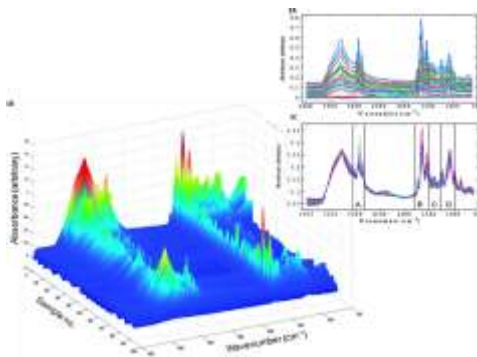
Description et caractérisation du procédé de production



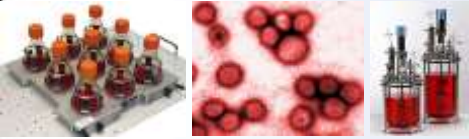
Mise en place et/ou développement d'outils de suivi en-ligne



SIGNATURE DU PROCEDE



# Les procédés de production virale



# Les procédés de production virale

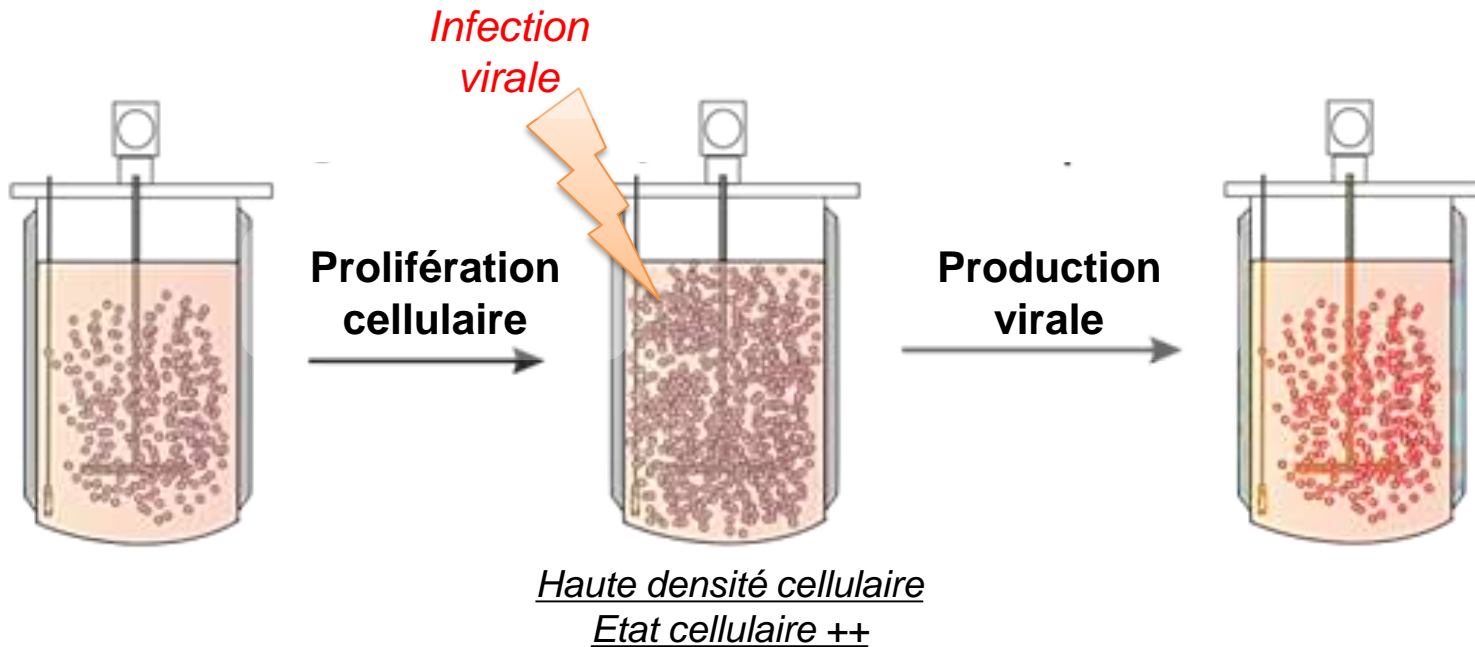
Les procédés de production à base de culture cellulaire sont complexes

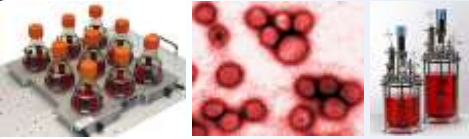
Procédés bi-phasiques

Unité de production = Cellules

Croissance cellulaire

Production virale





# Les procédés de production virale

Les procédés de production à base de culture cellulaire sont complexes

Approche pluridisciplinaire

Au niveau du procédé

Paramètres mécaniques et hydrodynamiques  
(ex. agitation, mode d'aération, modèle de réacteur / volume de culture)

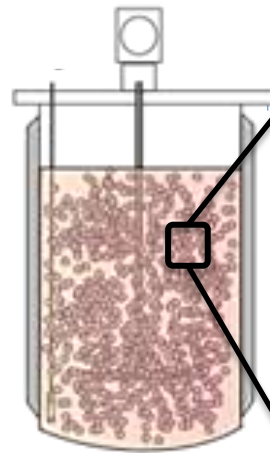
Paramètres physico-chimiques  
(ex. température, pH,  $pO_2$ )

Mode d'alimentation  
(Batch/Fed-batch /Perfusion)

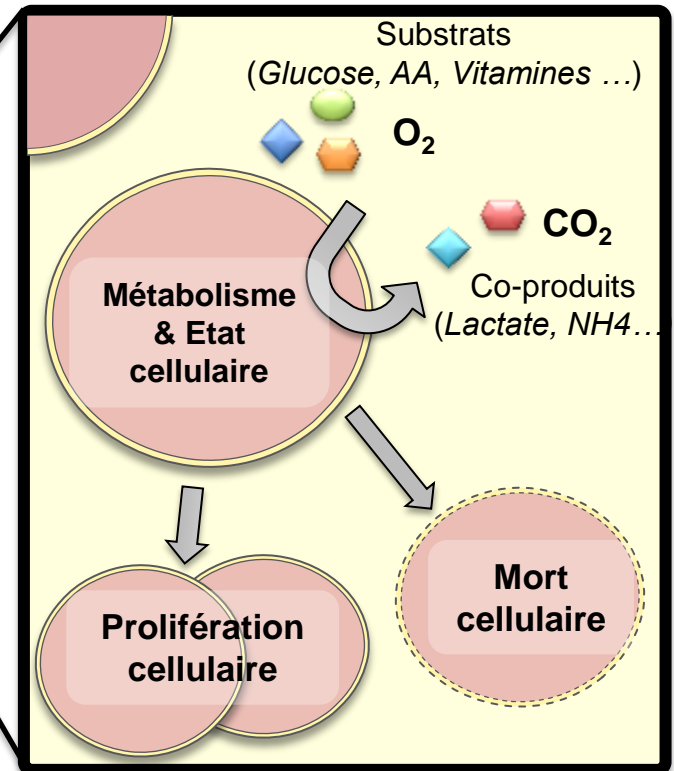
Milieu de culture  
(avec ou sans sérum de veau foetal)

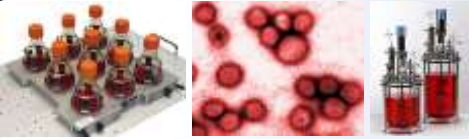


Au niveau de la cellule



*Haute densité cellulaire*  
*Etat cellulaire ++*





# Les procédés de production virale

Les procédés de production à base de culture cellulaire sont complexes

Approche pluridisciplinaire

Au niveau du procédé

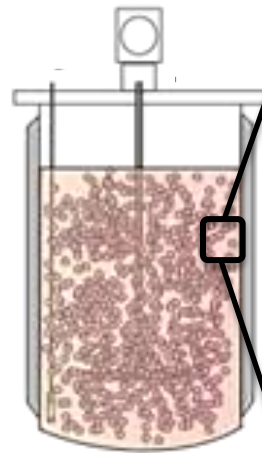
Paramètres mécaniques et hydrodynamiques  
(ex. agitation, mode d'aération, modèle de réacteur / volume de culture)

Paramètres physico-chimiques  
(ex. température, pH,  $pO_2$ )

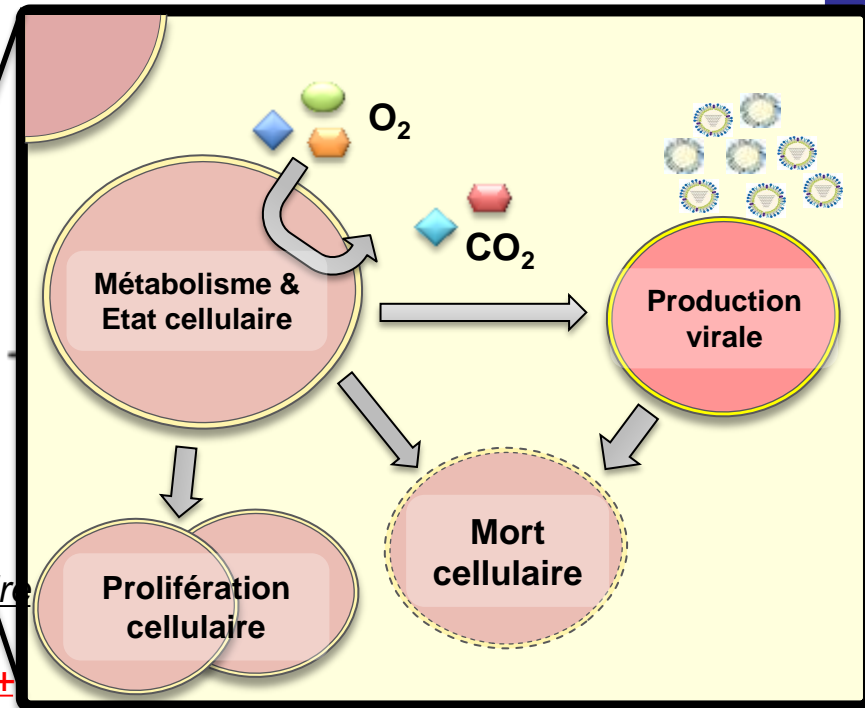
Mode d'alimentation  
(Batch/Fed-batch /Perfusion)

Milieu de culture  
(avec ou sans sérum de veau foetal)

Au niveau de la cellule



*Haute densité cellulaire*  
*Etat cellulaire ++*  
*Production virale +++*



Phénomènes dynamiques et en compétition



Titration infectieuse



**Off-line**  
Results > 2H

**IN-PROCESS** = Techniques analytiques qui permettent un rétro contrôle direct ou via l'opérateur sur le procédés

**At-line**  
Results : 30 mins – 2H



Metabolites



Compteur de cellules



Analyseur de Gaz

**In-line**



Sonde Oxygène

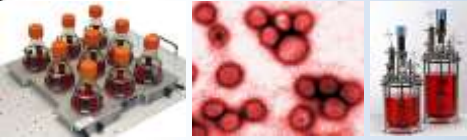
**PROCESS**

**On-line**  
Results : 5-10 mins

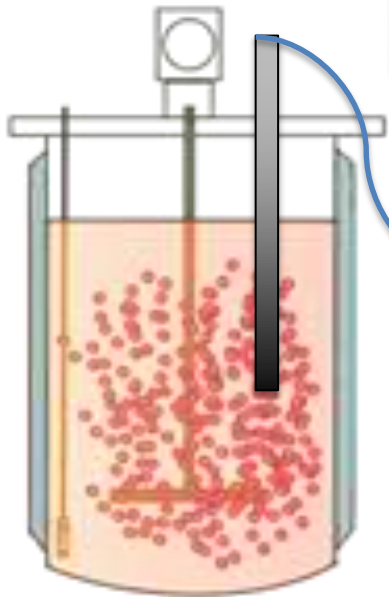
Chambre de mesure

**ZONE DE PRODUCTION**

# Quelles variables sont critiques pour ce type de procédés?



Suivi en-ligne - PAT



## QUANTITE & ETAT des cellules

**Quantité cellules viables** = productrices

**Viabilité** = % cellules viables

« **Etat** » cellulaire { Métabolisme  
Transcriptome / Protéome

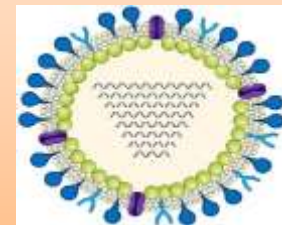
## QUANTITE & QUALITE du produit

**Quantité de particules virales** i.e. d'antigène produit

**Qualité des particules virales :**

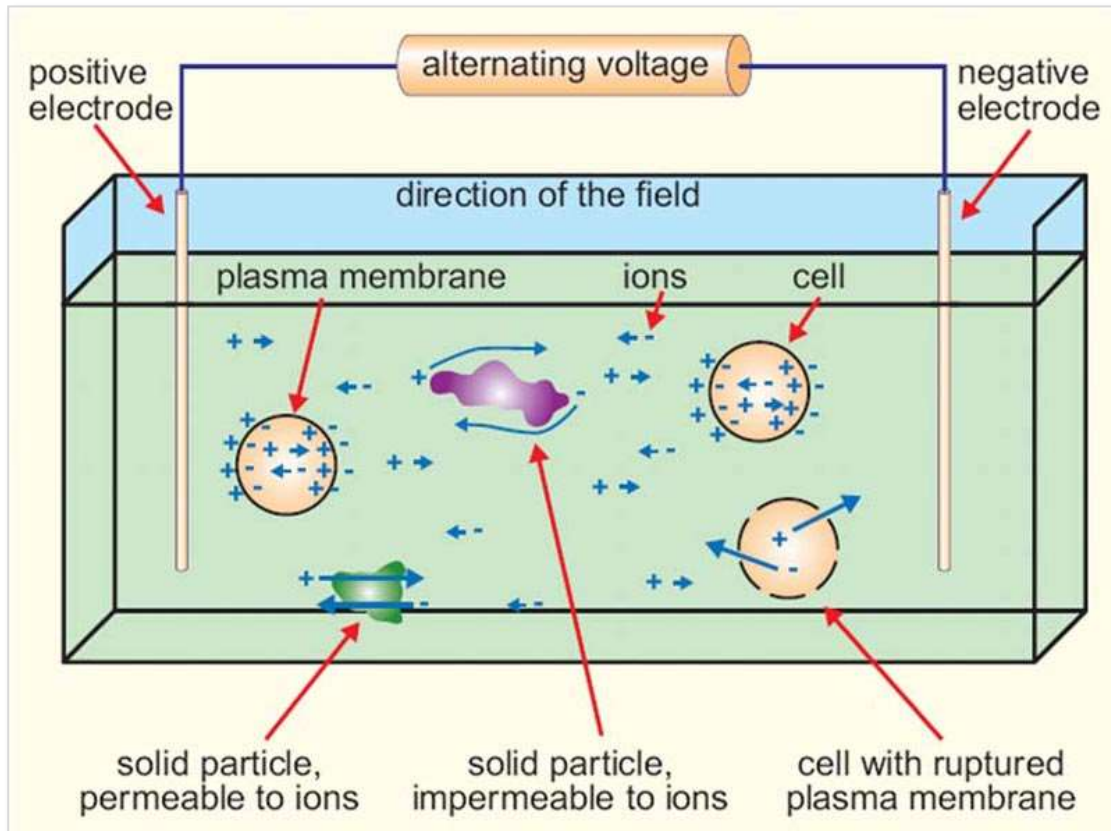
- infectieuse / non-infectieuse
- morphologie

**Qualité des antigènes**

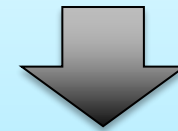


**Un outil de suivi en-ligne des cellules productrices**

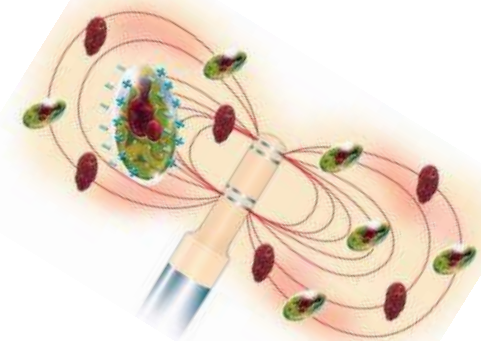
## Sonde de capacitance



**Polarisation des structures  
sphériques par un champ  
électrique**



Mesure de la décharge électrique  
- **Permittivité,  $\Delta\epsilon$**   
- **Fréquence caractéristique,  $f_c$**



# Suivi en-ligne des cellules productrices

Les paramètres de la décharge des cellules sont liés à leurs caractéristiques morphologiques & physiologiques

Permittivité,  $\Delta\varepsilon$

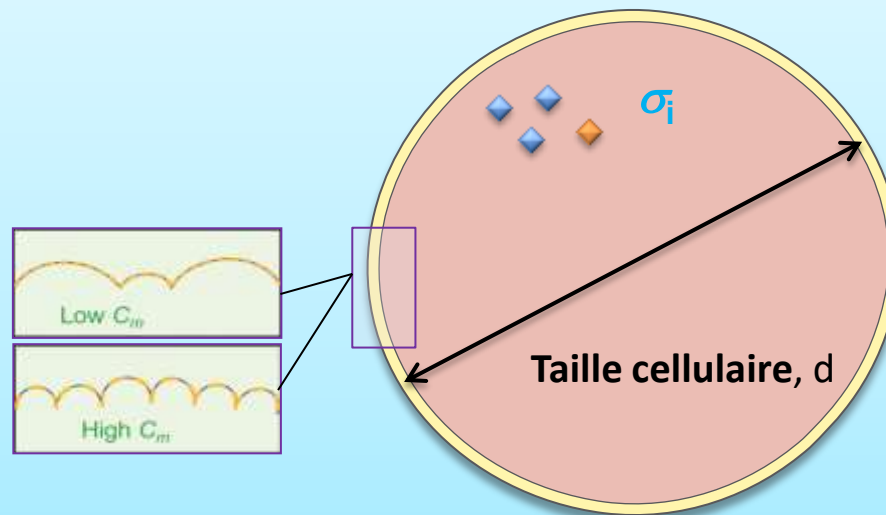
$$\Delta\varepsilon = f(d.Cm.Bv)$$

Fréquence caractéristique ( $f_c$ )

$$f_c = f(Cm \cdot d \cdot \sigma_i)$$

## Conductivité intracellulaire $\sigma_i$

Capacité du cytoplasme à conduire un courant électrique = composition / conc. Ionique



## Capacitance membranaire, $C_m$

épaisseur & replis de la membrane

# Suivi en-ligne des cellules productrices

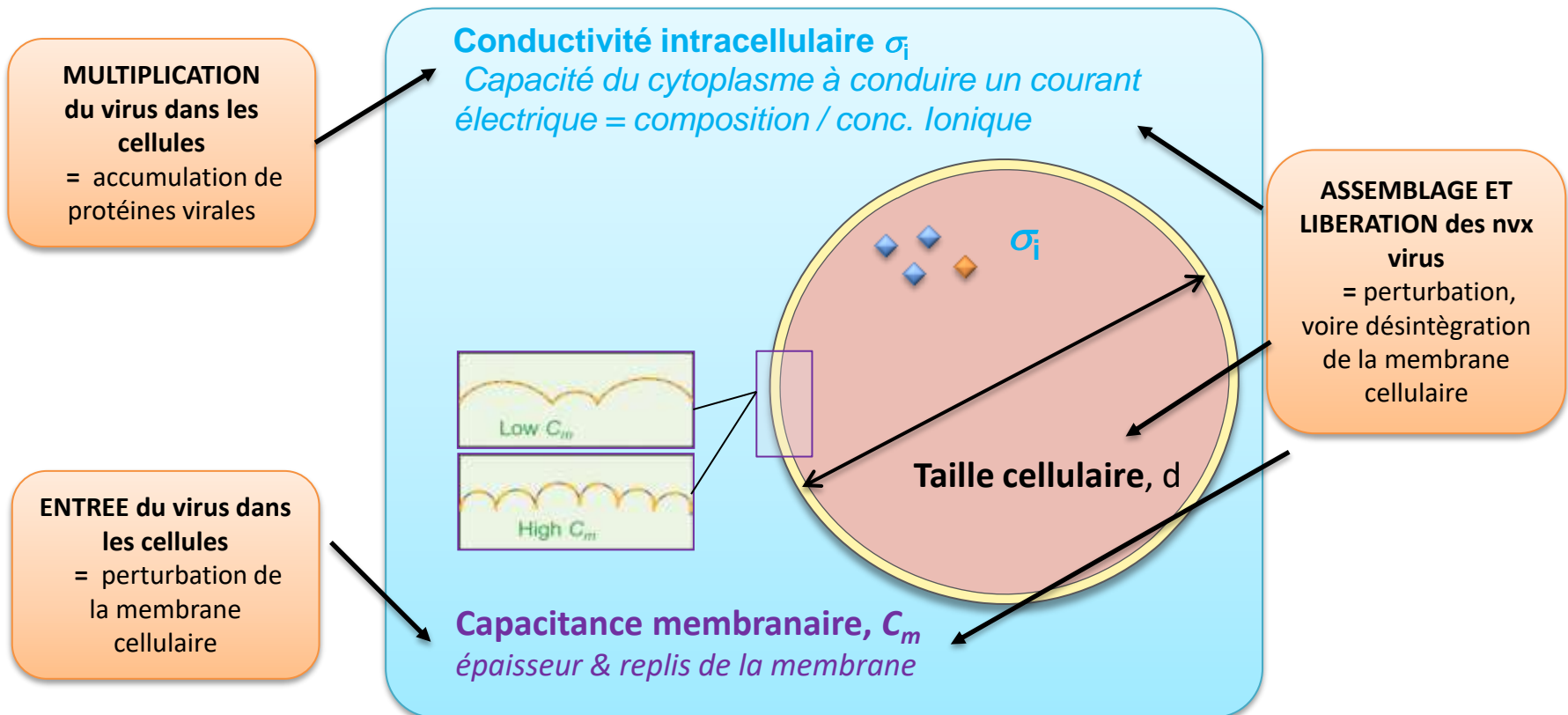
La réplication de virus dans une cellule comprend différentes phases qui ont un impact direct sur la morphologie et l'état cellulaire

Permittivité,  $\Delta\varepsilon$

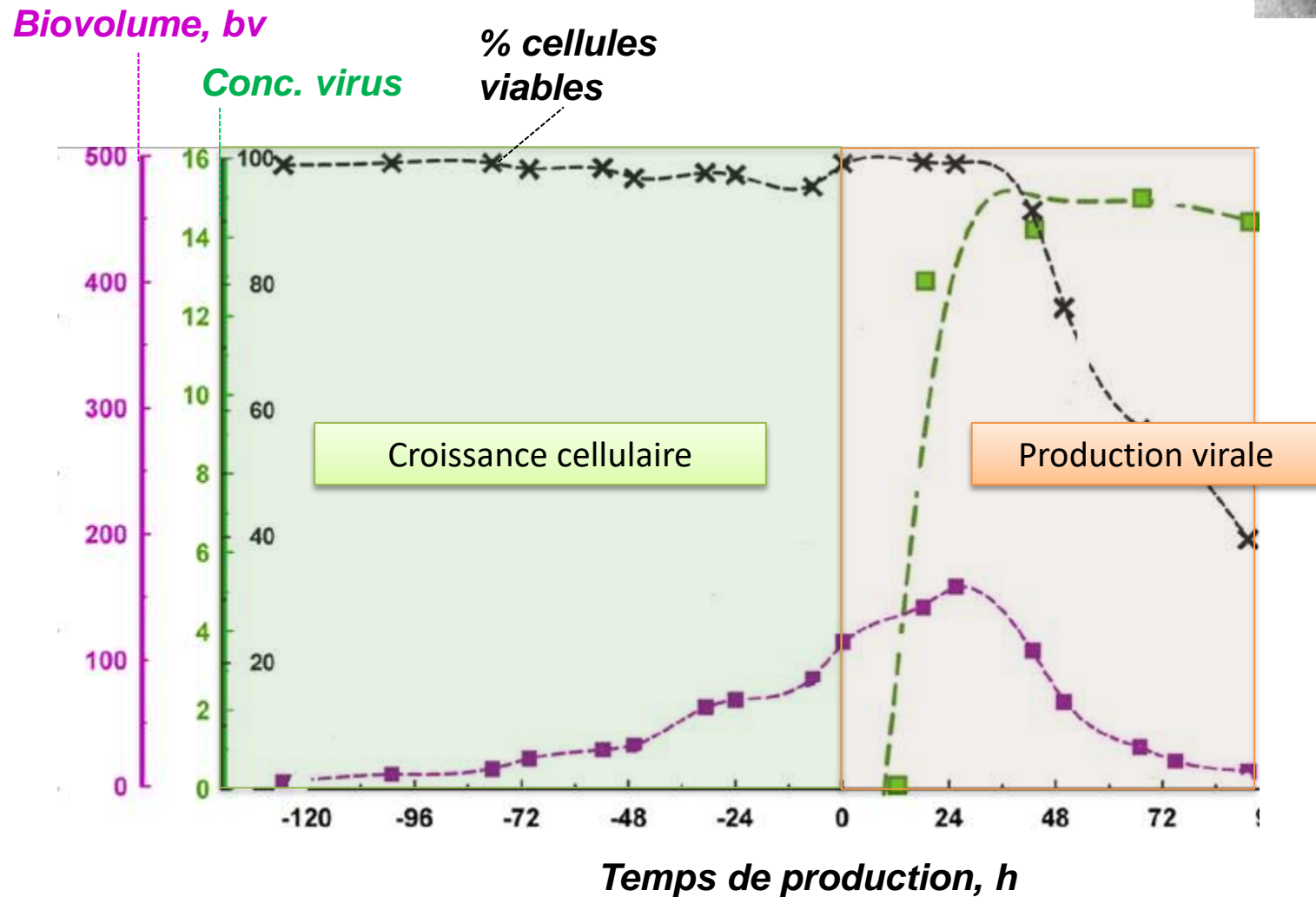
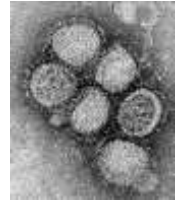
$$\Delta\varepsilon = f(d.Cm.Bv)$$

Fréquence caractéristique ( $f_c$ )

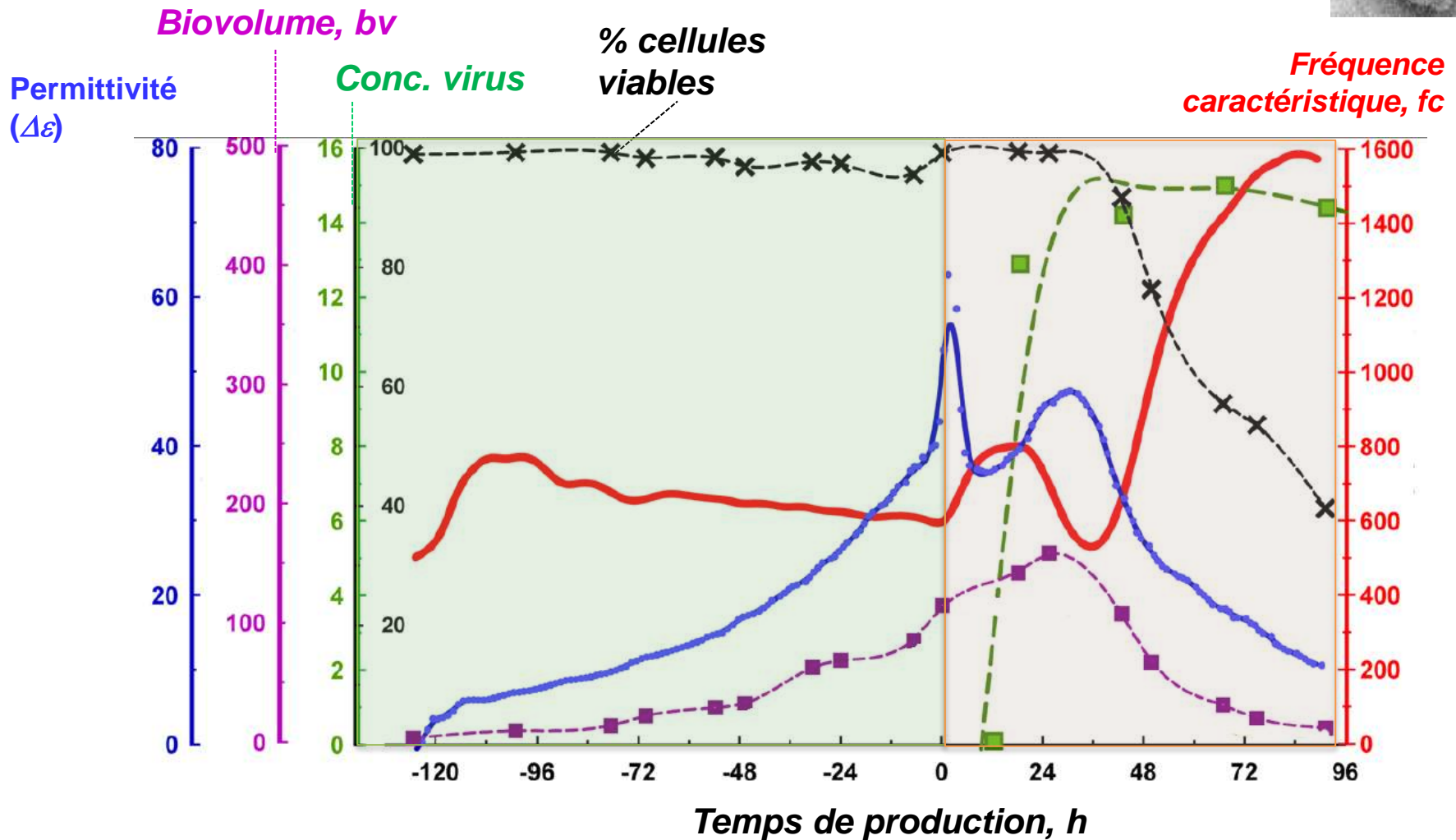
$$f_c = f(Cm \cdot d \cdot \sigma_i)$$



## Suivi de la production de virus de la grippe

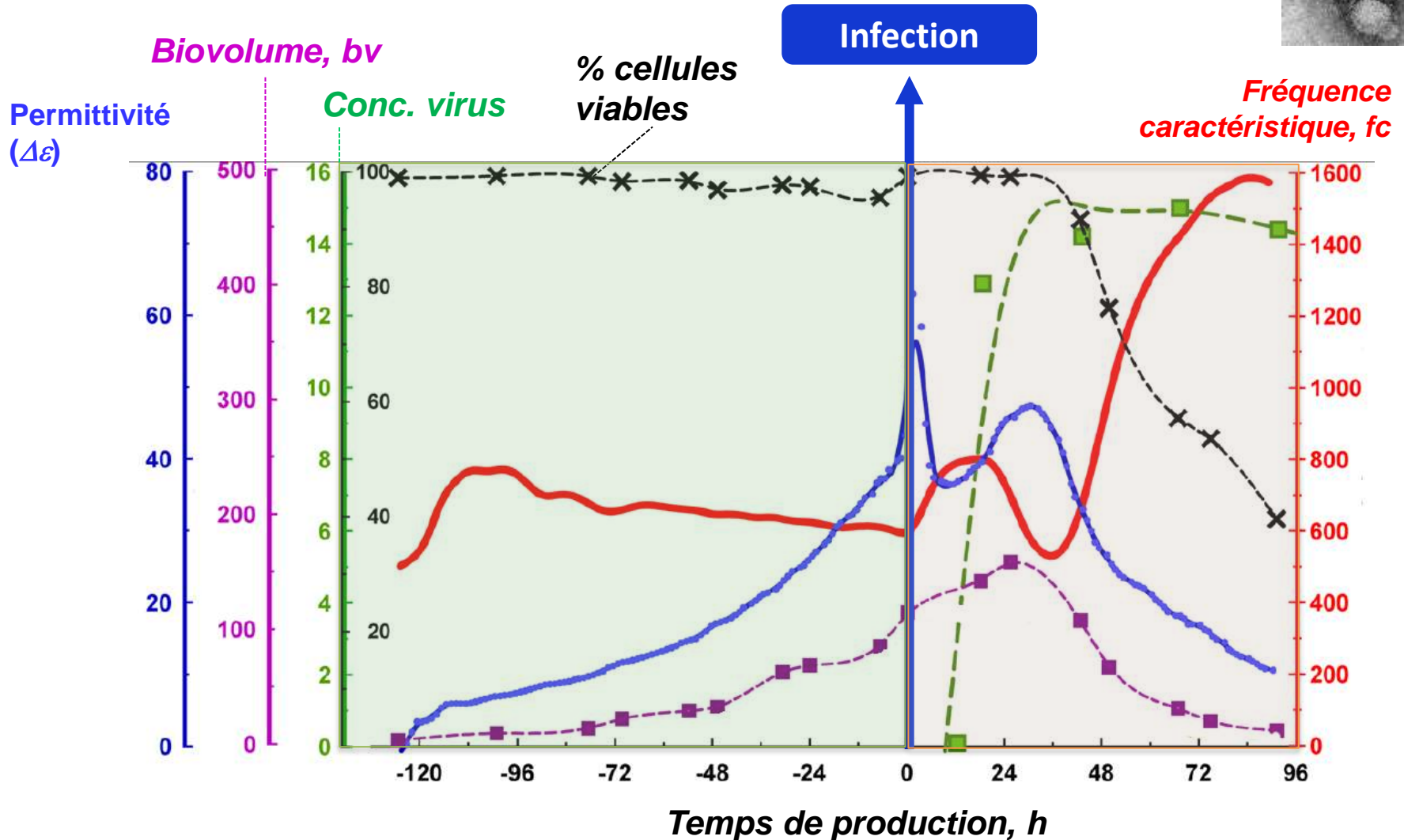
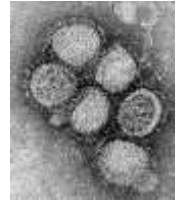


## Suivi de la production de virus de la grippe

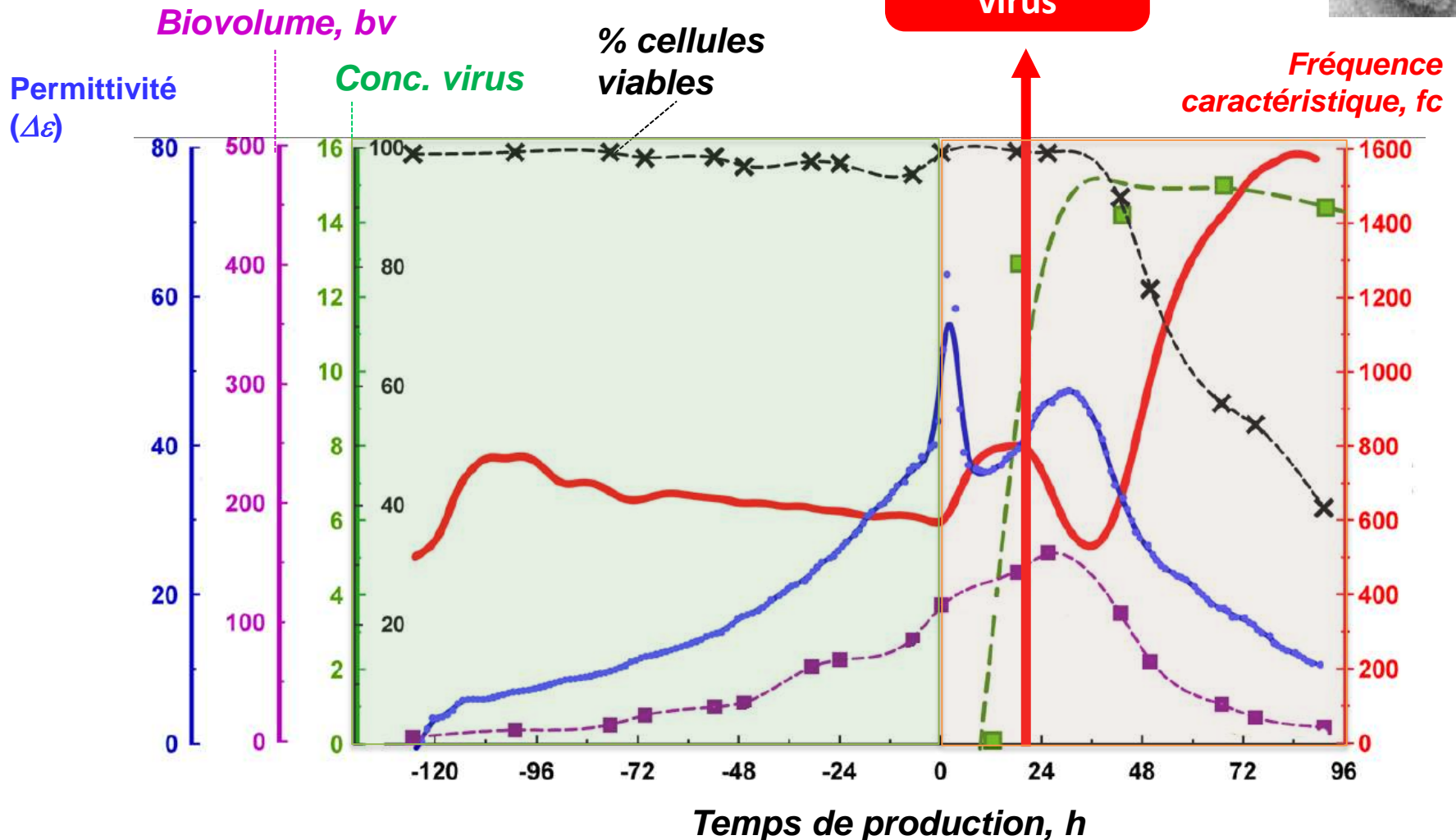




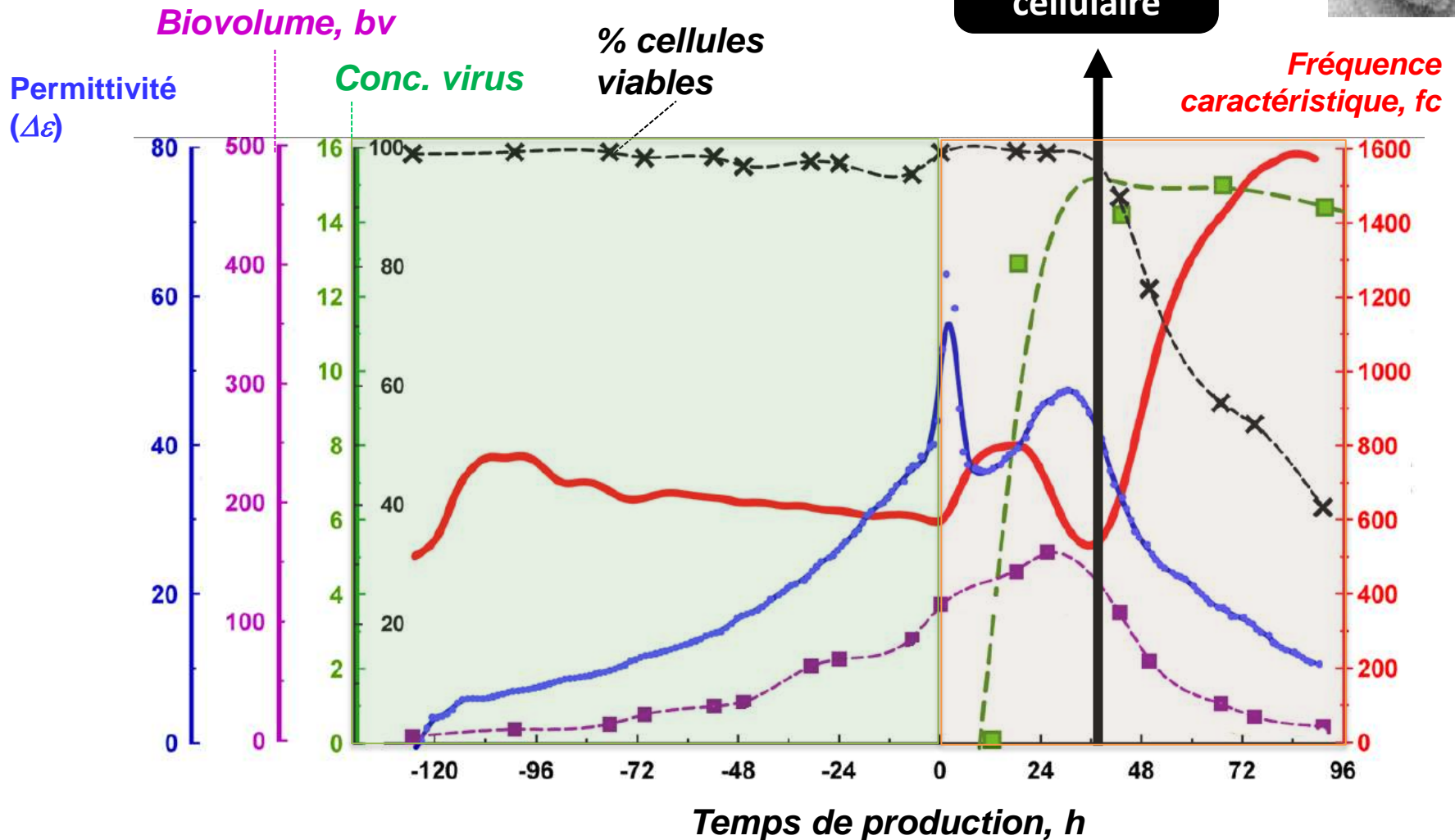
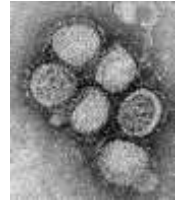
## Suivi de la production de virus de la grippe



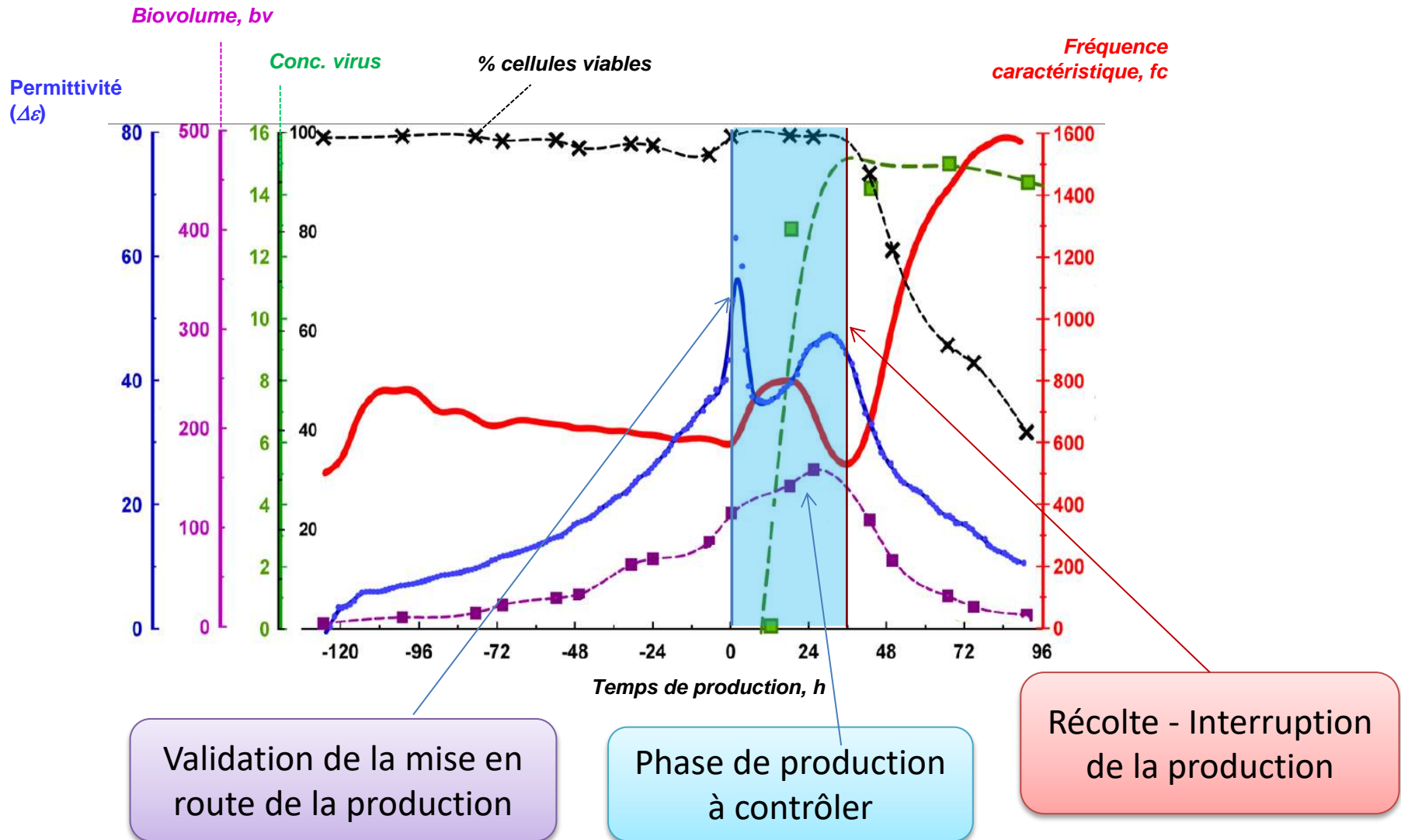
## Suivi de la production de virus de la grippe



## Suivi de la production de virus de la grippe



## SIGNATURE de l'état CELLULAIRE et du PROCÉDE

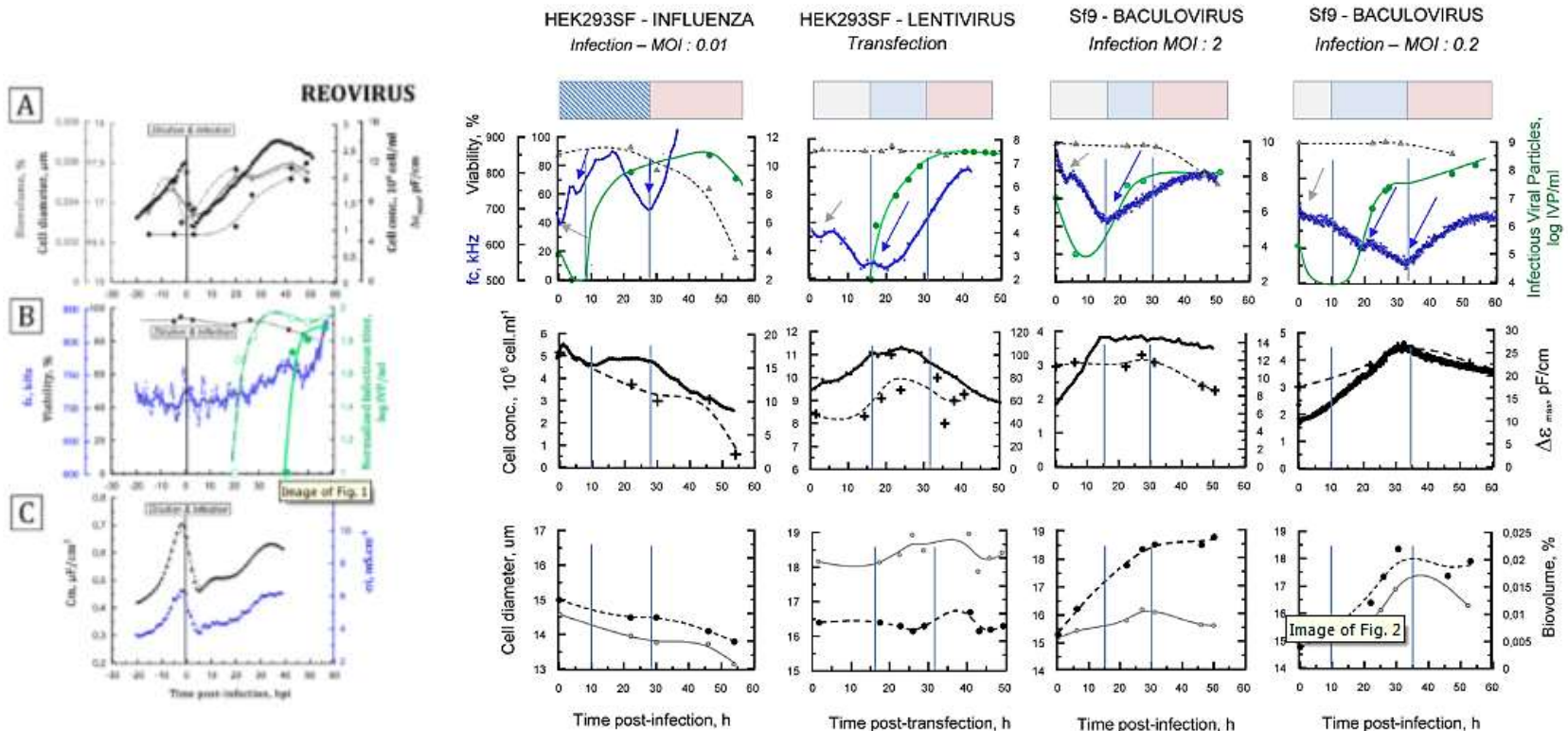


## Un outil générique pour le suivi en ligne des procédés de production de virus

- 5 procédés de production de virus
- 2 virus non-enveloppés / 3 virus enveloppés
- 2 lignées cellulaires

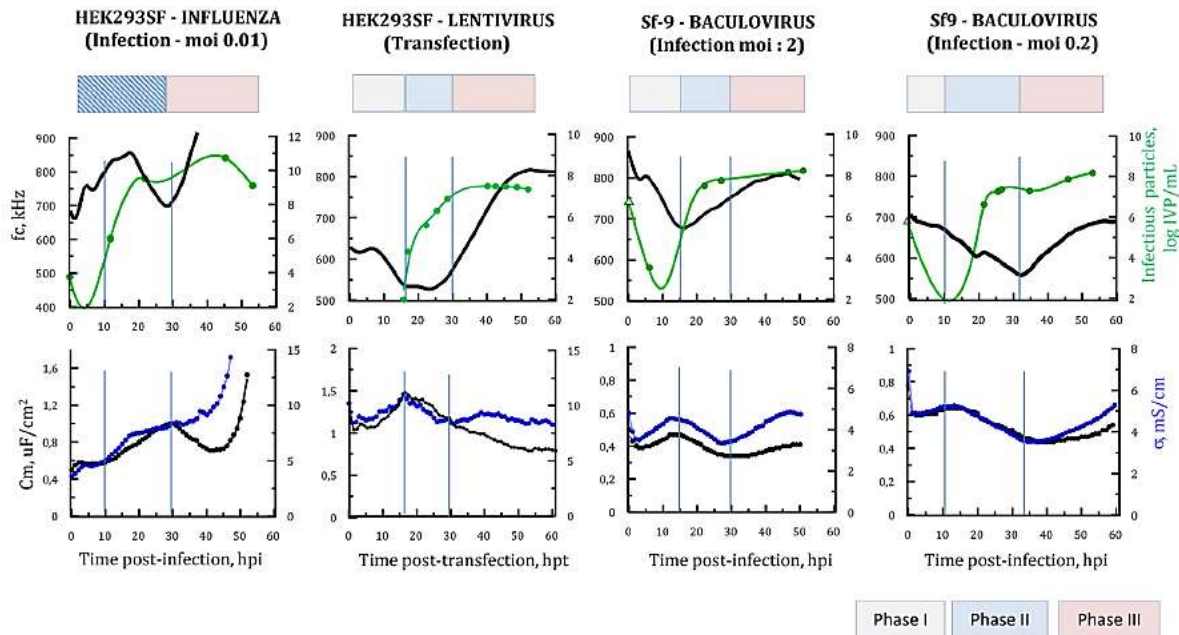


Identification des phases de production pour toutes les configurations

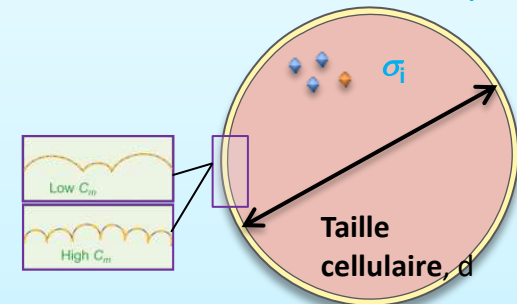


## Un outil générique pour le suivi en ligne des procédés de production de virus

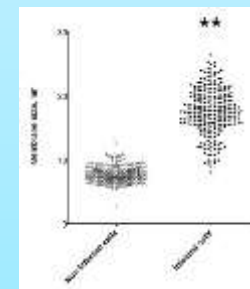
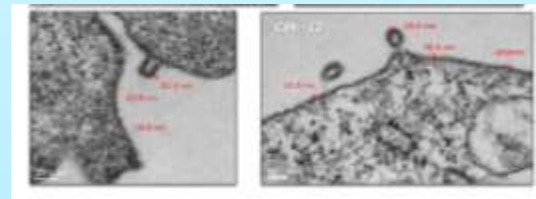
Accès aux paramètres biologiques via Cm & si



Conductivité intracellulaire  $\sigma_i$



Capacité membranaire,  $C_m$   
épaisseur & replis de la membrane



# Suivi en-ligne et signature des procédés de production virale

## Procédés de production opérationnels

Accessibilités aux procédés de productions réels - au plus près des procédés industriels

## Expertise pour le développement d'outils de suivi en-ligne

Outils analytiques développés pour ce type de bioprocédés ou issus d'autres types de procédés (bactério / chimie)

## Outils de qualification et quantification

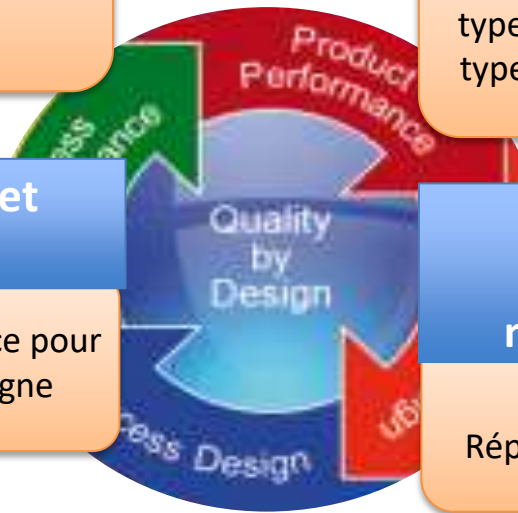
Méthodes analytiques de référence pour la mise en place d'un suivi en ligne

## Expertise sur la compréhension des mécanismes biologiques

Connaissance fondamentales  
Réplication virale / Biologie cellulaire

## Expertise en bioprocédés

Connaissance des procédés USP / DSP  
Paramètres critiques (CQA / CPP)





## Suivi en-ligne et signatures des procédés de production virales

**Emma PETIOT, PhD**

CPE-Lyon

ICBMS – Gembas Team / 3dFab

[Emma.petiot@cpe.fr](mailto:Emma.petiot@cpe.fr)

