

Introduction

Le Nivolumab est un anticorps monoclonal anti-PDL-1, indiqué et en développement dans de nombreuses indications d'onco-hématologie. Après dilution, la stabilité annoncée dans le RCP est de 24h à 2-8°C. Le but de ce travail a été d'étudier la stabilité physico-chimique de solutions de Nivolumab pures (10 mg/mL) et diluées (2mg/mL) à 2-8°C.

Matériel et méthodes

- Préparation de 3 poches de 3 lots différents
- 1 concentration : 2mg/ml dilué dans du NaCl 0,9%
- Préparation sous hotte à flux laminaire
- Calendrier de prélèvement: Jour (J) 0, J7, J14 et J28
- Conservation entre +2 et +8°C à l'abri de la lumière
- Conservation des flacons à 10 mg/ml dans les mêmes après ouverture



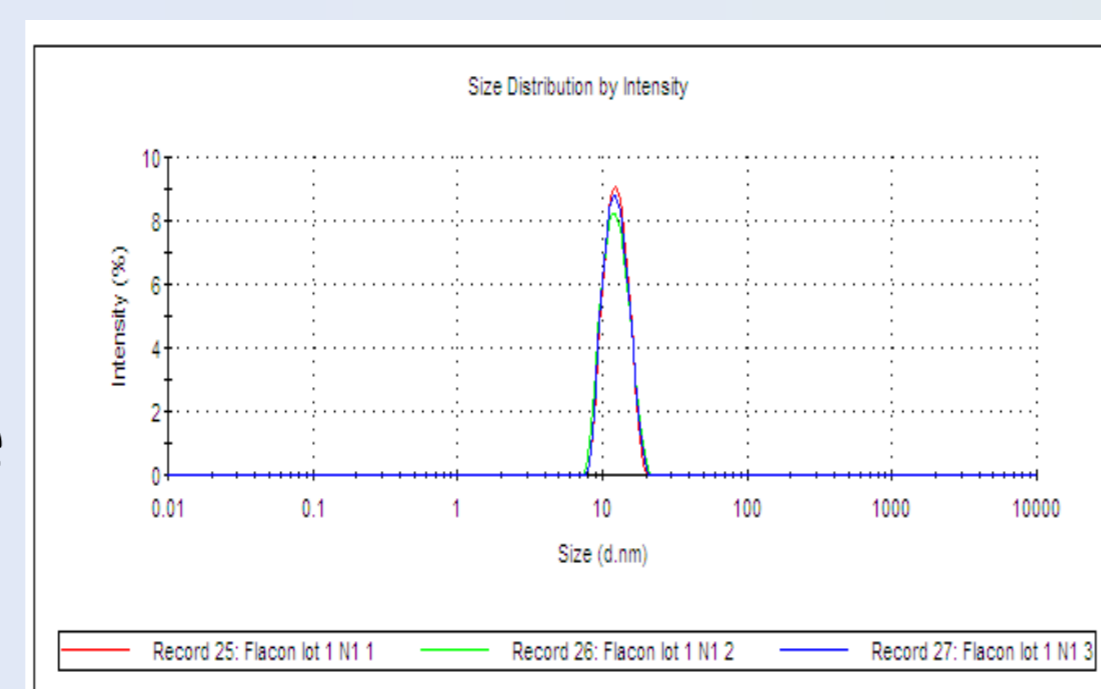
- Analyse de la stabilité physique:
 - Spectroscopie UV à 350 nm, mesure de turbidité
 - Diffusion dynamique de la lumière
 - Courbe de dénaturation thermique
 - Chromatographie d'exclusion de gel
- Analyse de la stabilité chimique:
 - Dérivée seconde en UV
 - Chromatographie d'échange ionique



- Les flacons peuvent-ils être utilisés après ouverture?
- Les poches peuvent-elles être conservées plus de 24 heures (RCP) après dilution?

Résultats

Diamètre moyen (nm)	J0	J28
Poche	11,002 ± 0,032	11,006 ± 0,08
Flacon	12,02 ± 0,05	12,04 ± 0,05



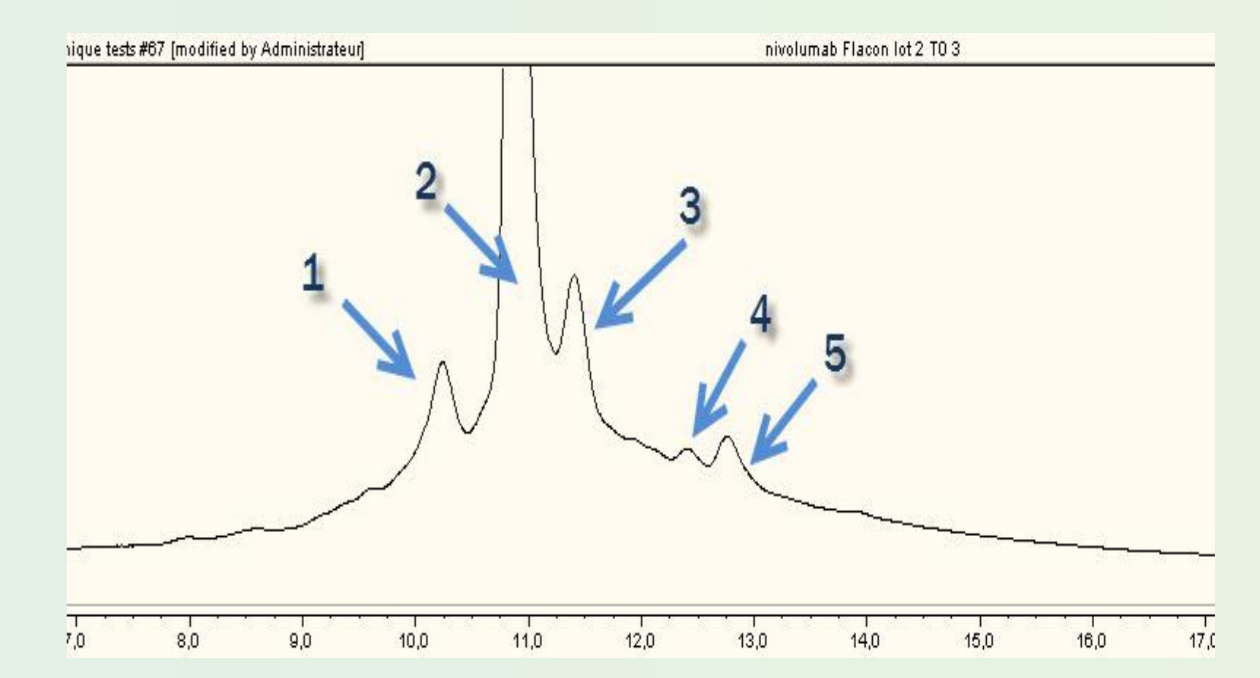
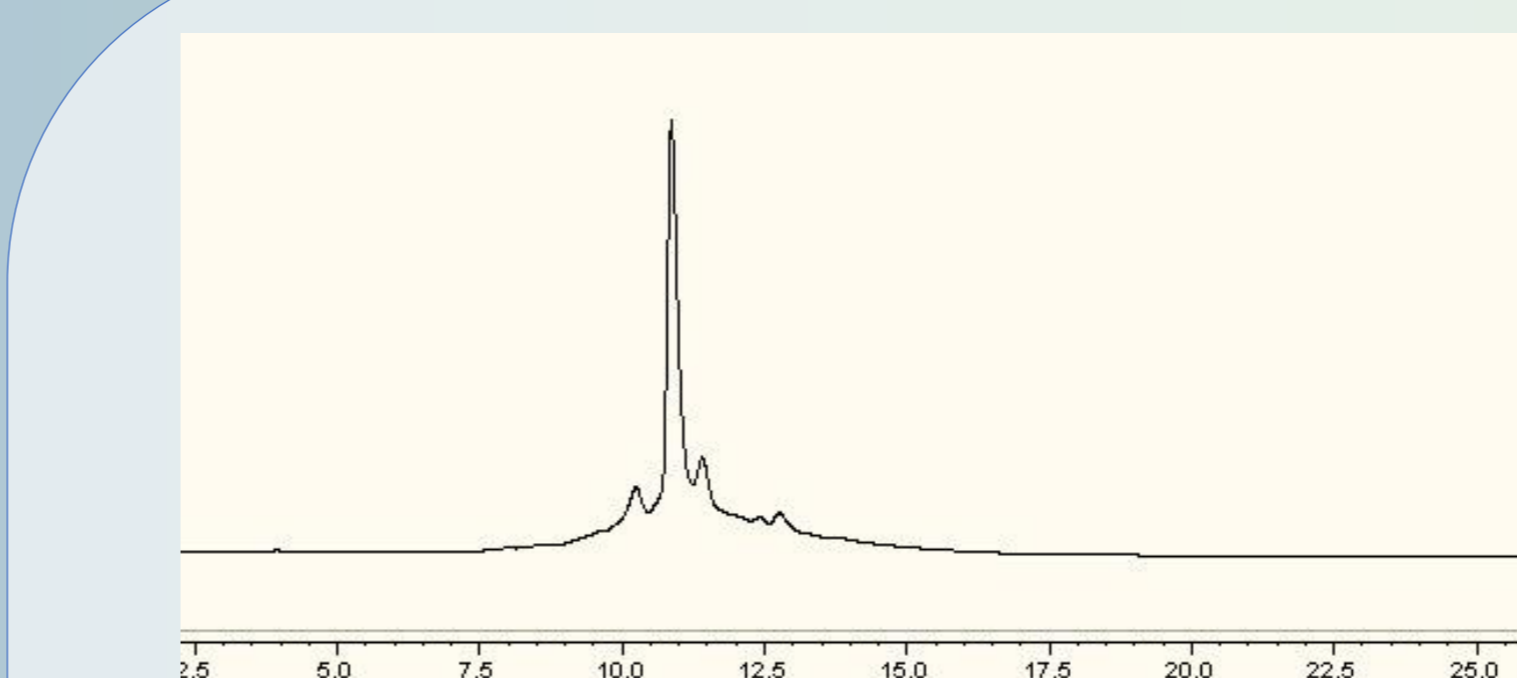
Absence de modification du diamètre hydrodynamique moyen mesuré par DLS.

Faible indice de polydispersité

- Population monodisperse

Absence de modification de la turbidité après 28 jours pour les poches et 7 jours pour les flacons

DO moyenne	J0	J28
Poche	0,0491 ± 0,0015	0,0586 ± 0,0034
Flacon (J7)	0,0750 ± 0,005	0,0861 ± 0,076

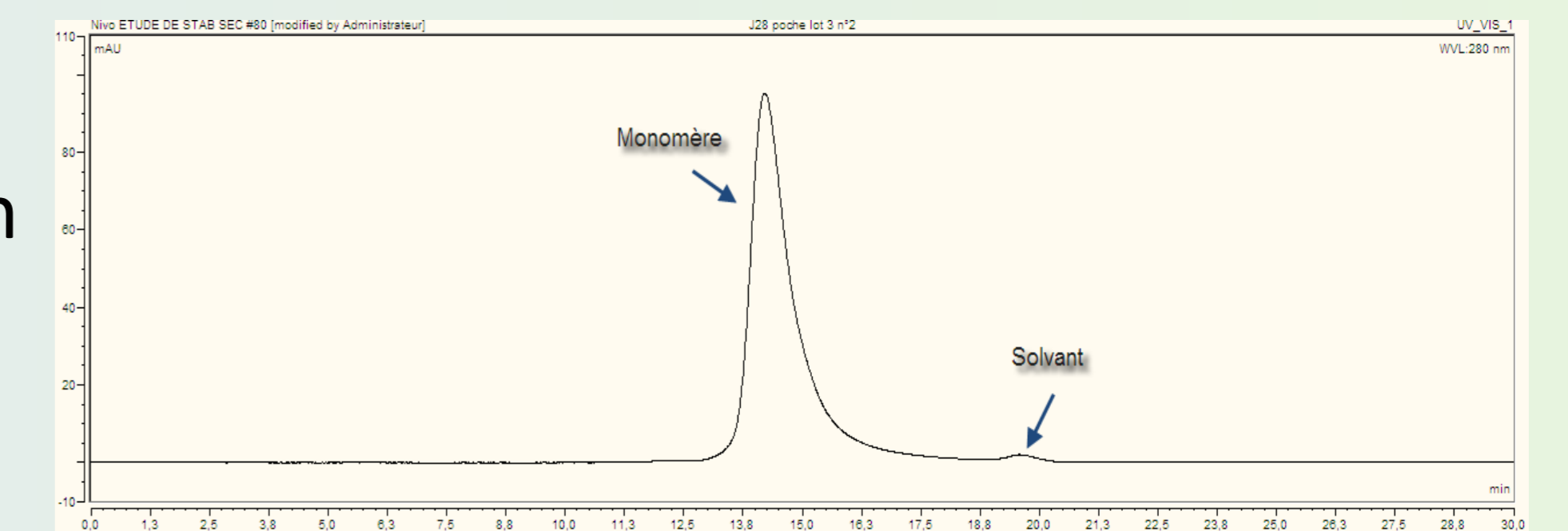


En chromatographie ionique, aucun nouveau pic n'est apparu et les pourcentages des différents variants sont restés proches.

➤ Absence de déamidation et donc d'instabilité chimique
Des résultats similaires sont observés pour les flacons près 21 jours de conservation.

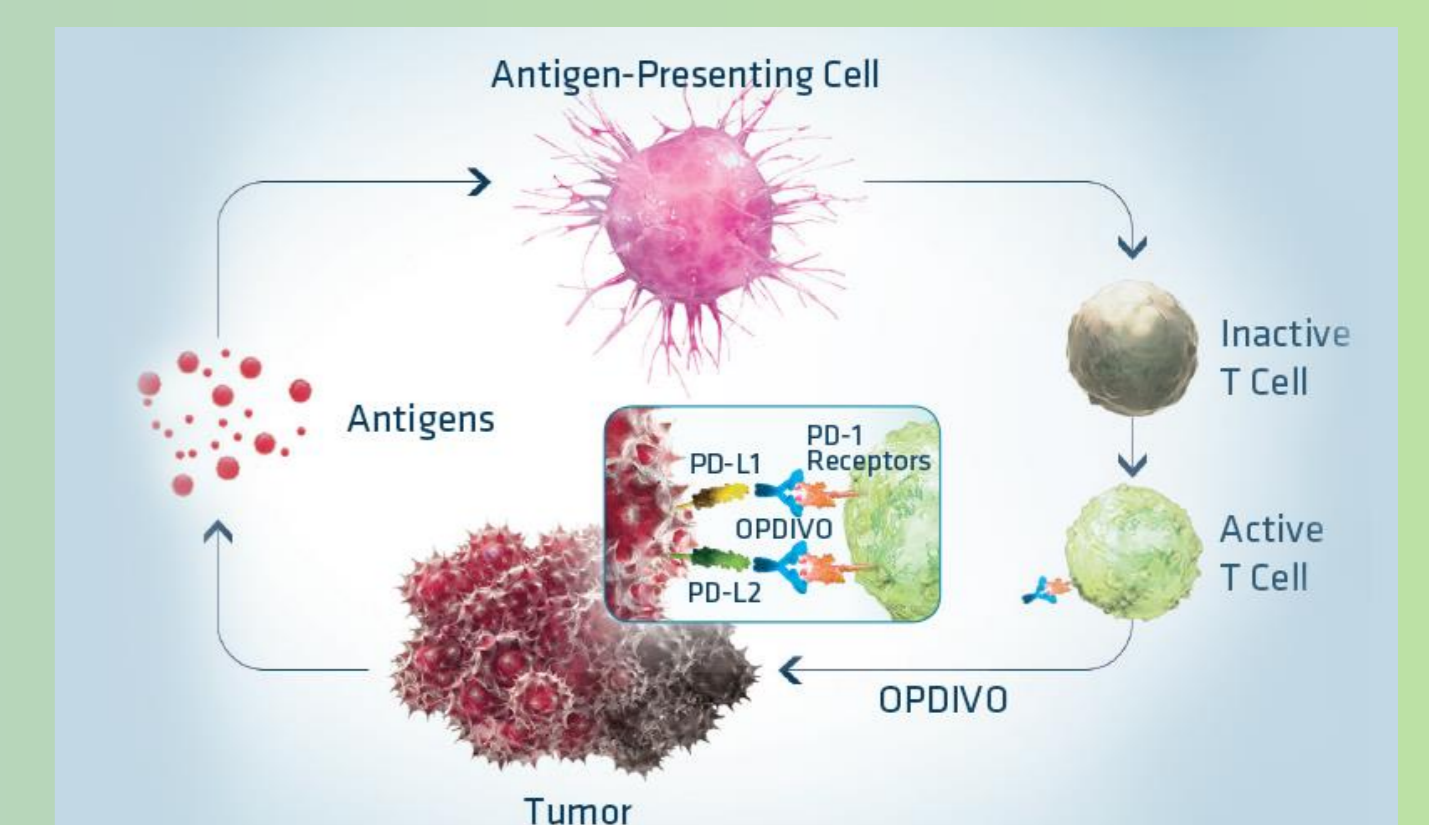
%pic/total	J0	J28
Pic 1	5,76% ± 0,0011	5,91% ± 0,00249
Pic 2	82,29% ± 0,0036	82,58% ± 0,0063
Pic 3	7,68% ± 0,0014	7,35% ± 0,0041
Pic 4	0,90% ± 0,00076	1,05% ± 0,0015
Pic 5	3,40% ± 0,0035	3,23 ± 0,00226

Absence de modification du profil chromatographique en SEC et absence d'apparition de pic de fragmentation ou d'aggrégation.

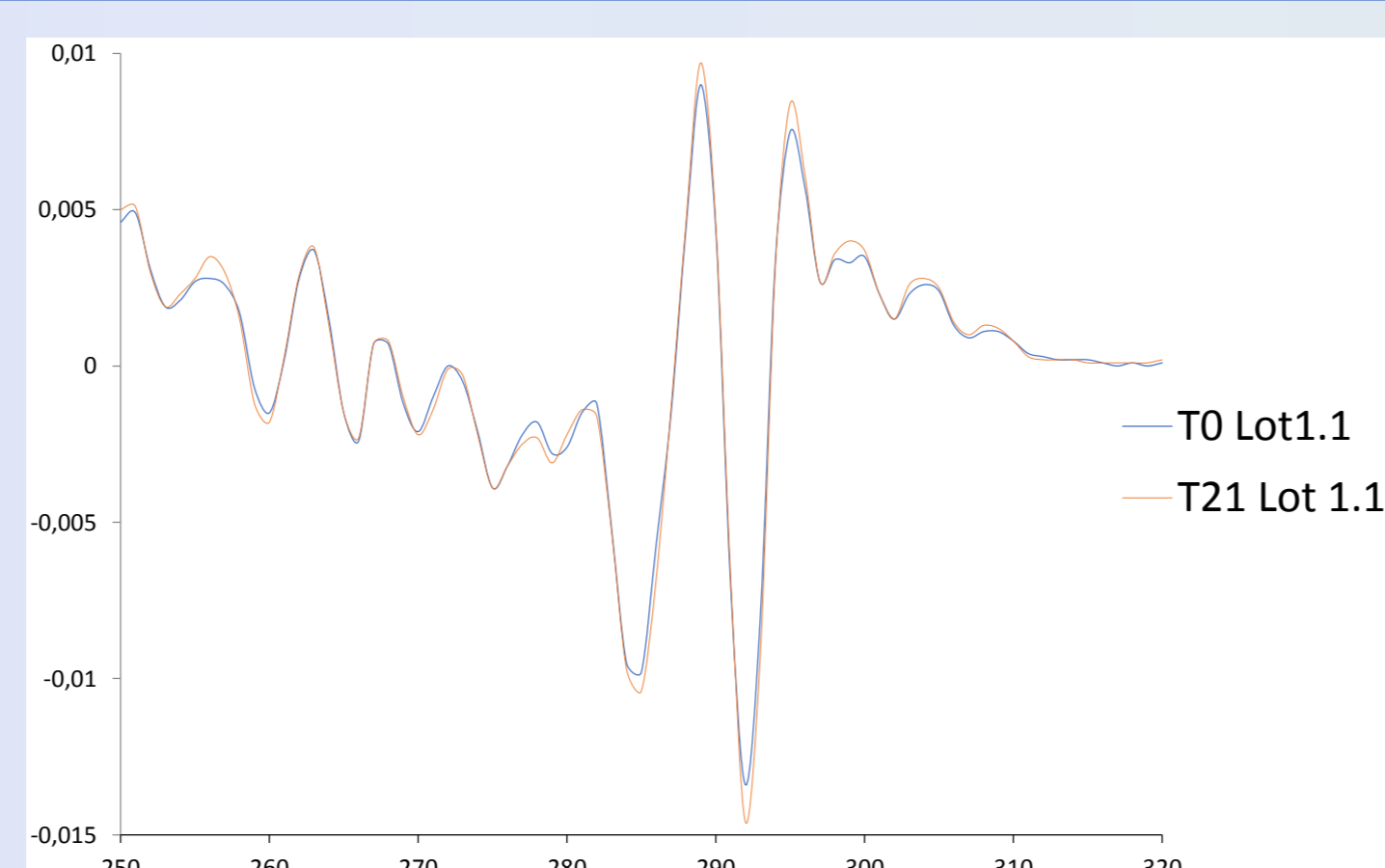


Les autres critères étudiés tels que l'aspect visuel et l'osmolarité sont restés conformes jusqu'à 28 jours.

Les tests biologiques préliminaires ont montré une capacité équivalente du Nivolumab à se fixer à PD1 quel que soit son mode, sa durée et sa concentration de conservation.



Les spectres de dérivé seconde sont restés superposables.



- Absence de modification de la structure tertiaire.

- Les flacons sont stables après ouverture (7 jours)
- Les poches peuvent être conservées 28 jours à +4 °C après dilution

Discussion/Conclusion

Ces résultats laissent présager d'une stabilité du Nivolumab compatible avec une utilisation des reliquats de flacons en routine dans les unités de préparation. Pour la solution diluée en poche, cela permettrait une préparation à l'avance, notamment en cas d'utilisation à dose fixe dans le futur et de réattribution en cas de report de cure. Des techniques supplémentaires pourraient être envisagées pour confirmer ces résultats: Spectroscopie de fluorescence, Peptide mapping et Spectroscopie infra rouge.