

Validation physico-chimique et biologique d'une méthode de transport par tube pneumatique des préparations de Cetuximab

F. Brémont¹, P. Auzeloux², M-J. Galmier², N. Robin¹, F. Leal², S. Tarrit², H. Chabrolles, N. Vauche, R. Chevrier¹ et M. Doly¹

¹ Centre Jean Perrin, 58 rue Montalembert BP 392, 63 011 Clermont-Ferrand Cedex 1

² Faculté de Pharmacie, 28 place Henri Dunant BP 38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 1

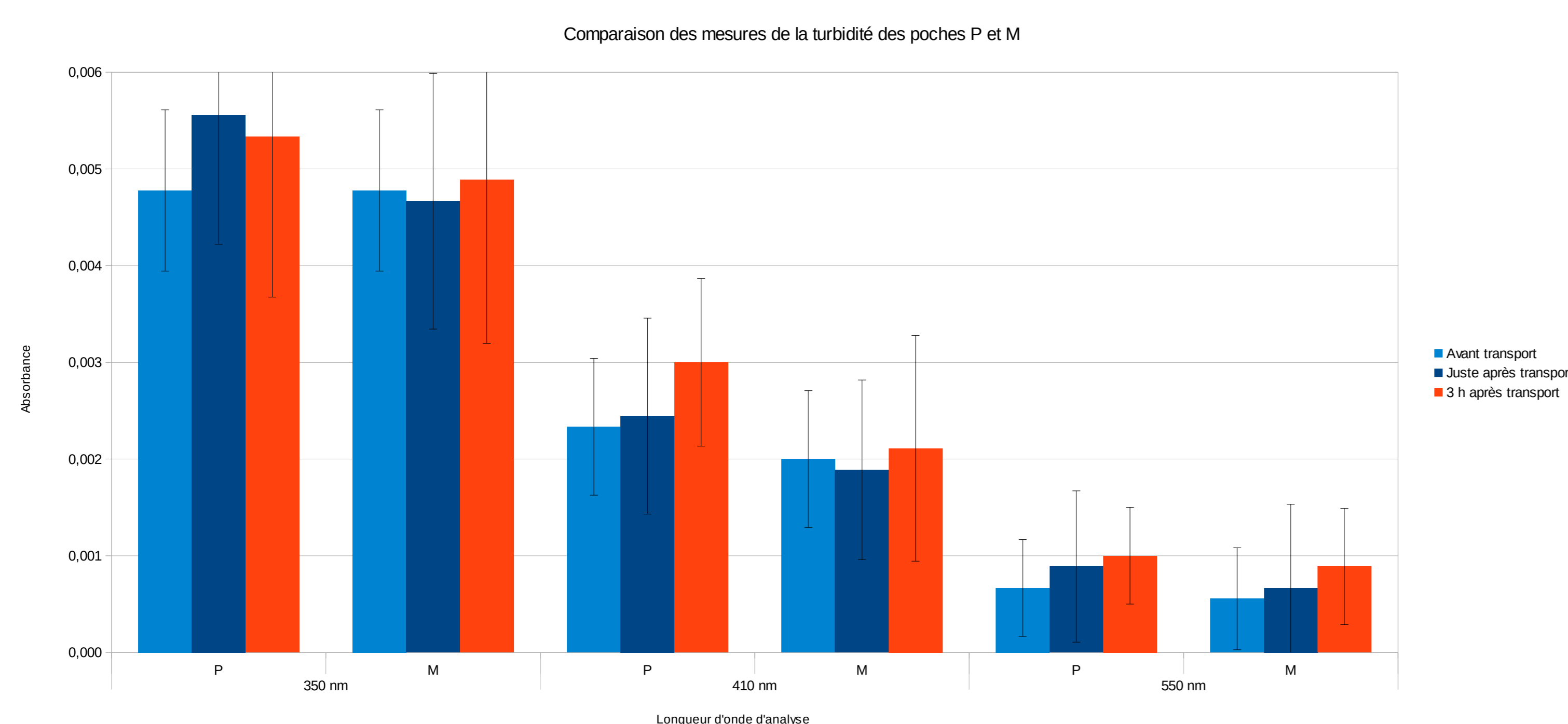
Introduction

Les anticorps sont des molécules fragiles et la validation du transport pneumatique pour ce type de molécules est essentiel pour la sécurité des patients compte tenu des contraintes physiques (essentiellement mécaniques) subies par une cartouche de transport qui se répercutent nécessairement sur son contenu, pouvant avoir un impact négatif sur sa qualité.

Nous cherchons à mettre en évidence une différence de qualité du Cetuximab reconstitué avant son transport pneumatique, après son arrivée et après 3 h d'attente. Par ailleurs, nous comparons le transport pneumatique (poches P) au transport manuel (poches M) tel qu'il se déroulait jusqu'à présent pour toutes les préparations d'anticorps.

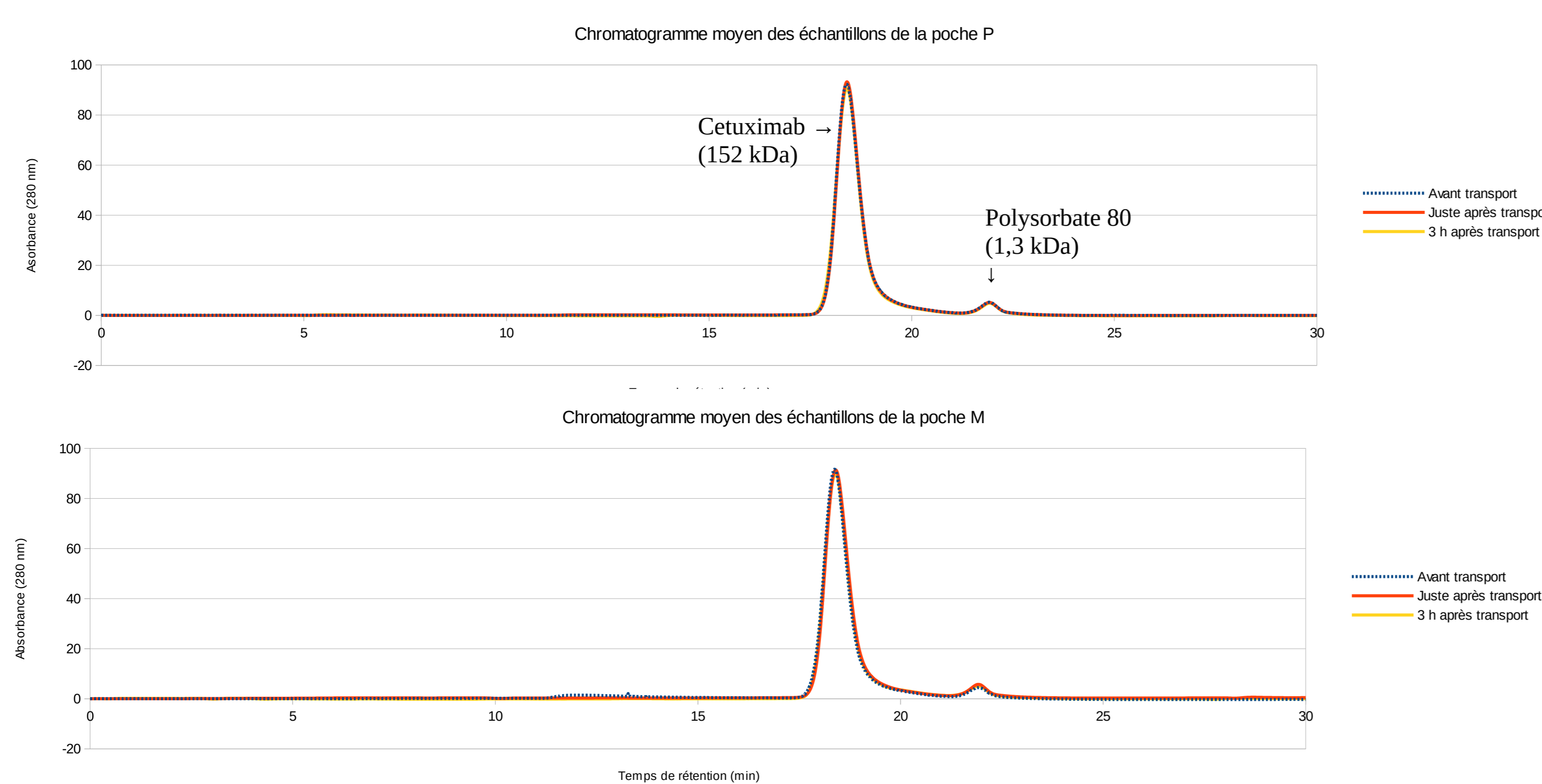
Recherche des agrégats insolubles par turbidimétrie

On réalise une mesure de la densité optique de la solution de Cetuximab à trois longueurs d'onde dans le visible (350, 410 et 550 nm), si la solution absorbe de façon significative à au moins deux de ces longueurs d'onde, on peut conclure à une agrégation.



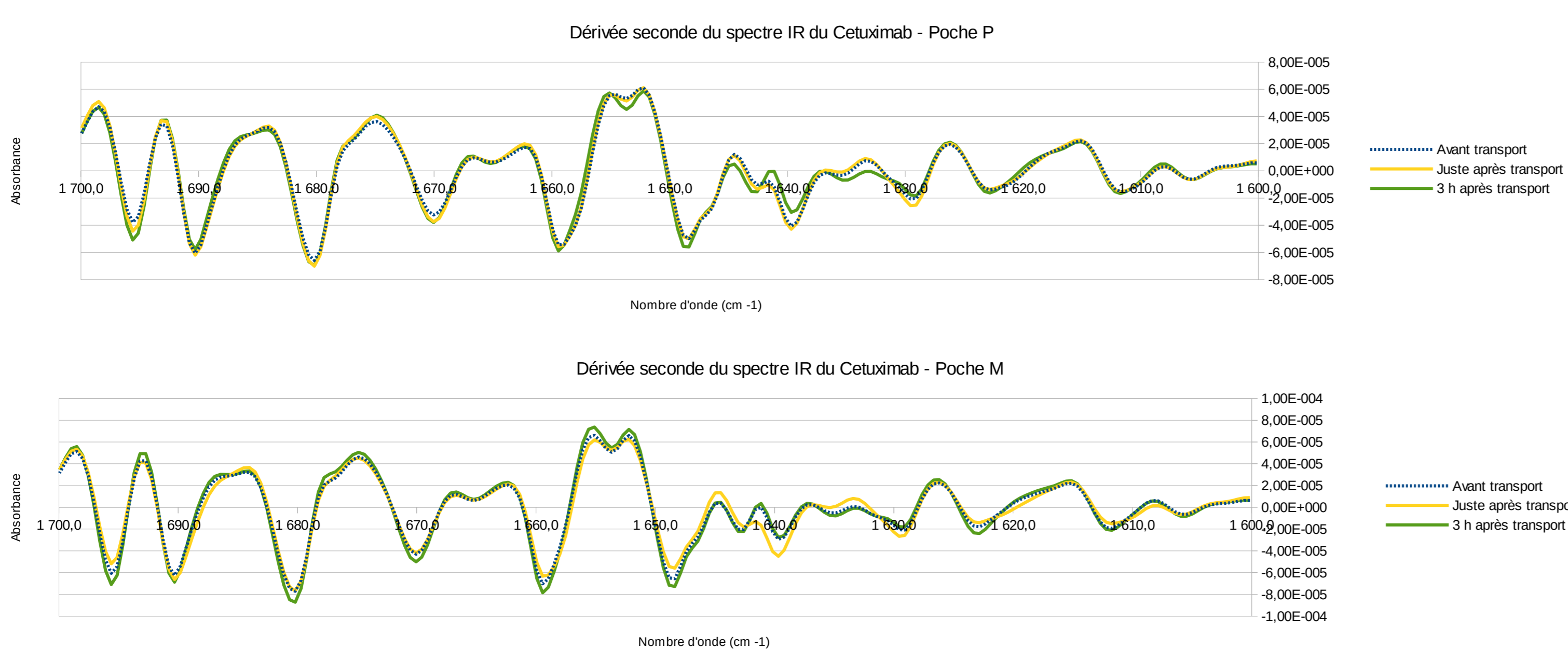
Recherche des agrégats solubles par SEC

La chromatographie d'exclusion stérique (SE-Chromatographie) est une méthode séparative permettant de cribler les espèces solubles selon leur poids moléculaire, des plus grosses aux plus fines. Elle nous sert ici à mettre en évidence de potentielles fragmentations ou agrégations (agrégats solubles, invisibles en turbidimétrie) de protéines.



Spectrométrie Infra-Rouge

Cette technique d'analyse permet de mettre en évidence des modifications chimiques sur les fonctions C=O, dans la région 1700-1600 cm⁻¹ du spectre. On travaille avec la dérivée seconde des spectres car la dénaturation et l'agrégation des protéines sont des phénomènes qui s'accompagnent de l'apparition de nouvelles bandes autour de 1620 cm⁻¹.



Système pneumatique du centre Jean Perrin

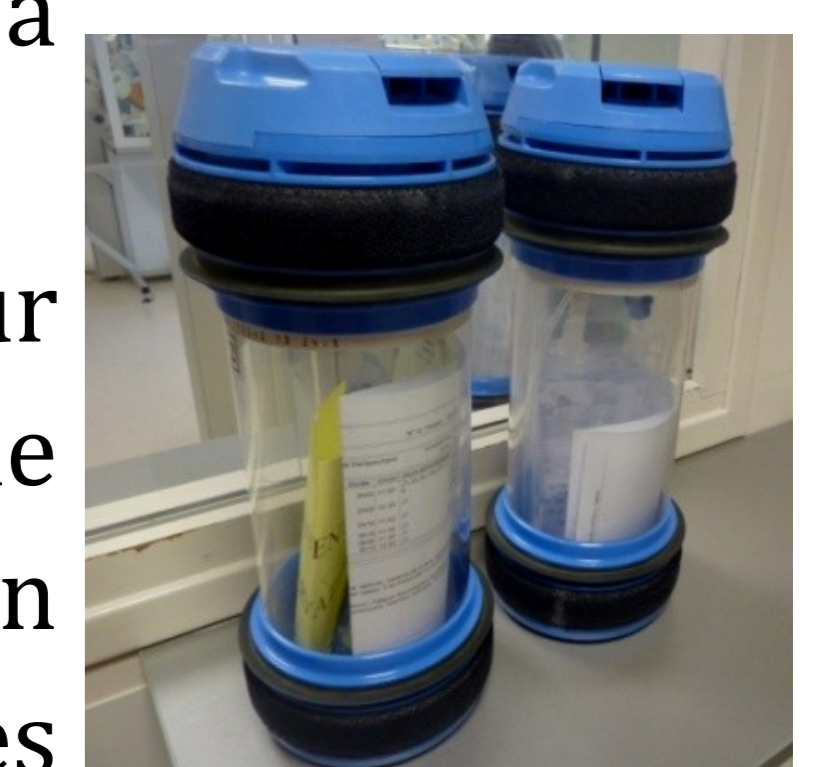
Lors de son installation, avant même de lancer les essais sur le Cetuximab, les caractéristiques du système pneumatique ont été adaptées sur les lignes destinées à transporter des médicaments pour limiter les perturbations physiques pendant le transport.

Ces précautions sont :

- la mise en place d'amortisseurs dans les tubes de réception des cartouches.
- la réduction de la vitesse de transport de 5 à 2,7 m/s.
- l'utilisation de cartouches hermétiques pour éviter une contamination du système en cas de rupture d'une poche en plus de rendre son contenu insensible aux variations extérieures de la pression.



Station d'envoi/réception

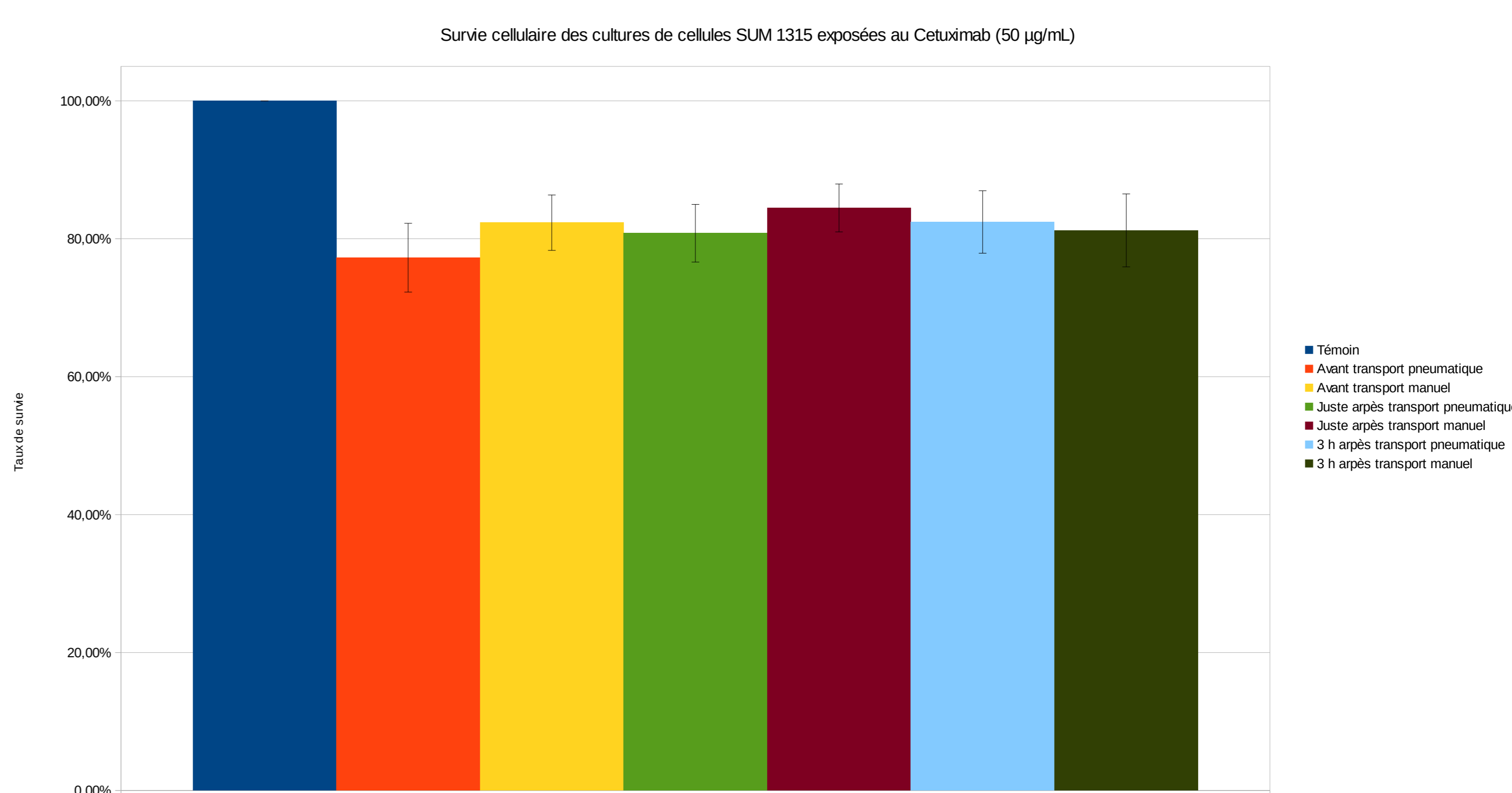


Cartouches hermétiques

Mesure de l'activité biologique

La majorité des études portant sur la stabilité des anticorps monoclonaux sur lesquelles nous nous sommes appuyés explorent l'état physique et chimique des anticorps mais peu d'entre elles se sont avancées sur le maintien de leur activité biologique.

Or, mesurer son activité biologique est le seul moyen de s'assurer qu'il n'y a pas eu de modification dans la nature d'un anticorps qui n'ait pas été détecté par les autres méthodes d'analyse employées, pour ce faire, nous utiliserons un test de viabilité cellulaire à la sulforhodamine B. Ce test a été réalisé sur des cellules SUM 1315, une lignée BCC (Breast Cancer Cells) qui a la particularité d'avoir un haut niveau d'expression de l'EGFR (récepteur du facteur de croissance épithélial), cible du Cetuximab.



Conclusion

Les essais ont été conduits sur trois couples de poches envoyés soit par système pneumatique soit manuellement. Les poches étaient de 250 mL titrées à 2 mg/mL de Cetuximab.

Les résultats des différentes techniques d'analyse mises en œuvre dans cette étude montrent tous qu'il n'y a pas de différence de qualité entre les préparations de Cetuximab qui ont été transportées manuellement et celles qui ont été acheminées par pneumatique. On ne retrouve pas d'agrégats qu'ils soient insolubles ou solubles, ni de modification de la structure chimique de l'anticorps. De plus l'activité biologique de la dose est toujours la même qu'elle soit la méthode de transport ou le temps de prélèvement.

Dans les conditions d'utilisation du Centre Jean Perrin, le transport pneumatique de préparations de Cetuximab est considéré comme validé et les poches de Cetuximab préparées à l'UPCO sont transportées par cette méthode depuis le 30 mars 2015.

Les anticorps autres que le Cetuximab préparés à l'UPCO sont en revanche toujours acheminés manuellement par une navette et devront faire l'objet d'une validation, eux aussi, avant d'être expédiés par le système pneumatique.