



Terapia celular y genética

Cinco razones

Para utilizar los sistemas de terapia celular (STC) de los CO₂ incubadoras en la producción de su terapia celular y génica



Producción de terapia celular y genética

Cada día se desarrollan nuevas terapias celulares y génicas que cambian vidas. En el paso de la investigación al desarrollo a escala, la reproducibilidad de las condiciones en las que se desarrolló biología es crucial. La forma en que se cultivan las células puede afectar a los atributos críticos de calidad (CQA), como la frecuencia de expresión de proteínas de la superficie celular, la duración, la potencia y otros. [1]

Entendemos que su proceso de cultivo celular es único para su nuevo biológico, y los años que ha dedicado en desarrollo pueden culminar en un avance que ayude a mejorar la salud humana. Hay tantos pasos en el proceso, tantas variables que controlar. Nosotros podemos ayudarle. Los incubadores Thermo Scientific™ CO2 Cell Therapy Systems Incubators (CTS™) Series son conocidos en todo el mundo por su calidad, rendimiento, fiabilidad y reproducibilidad.

He aquí 5 razones por las que puede confiar en estos modelos como centro de su proceso de producción.



1 Protección de muestras probada



Características de las incubadoras de CO2 de la serie CTS:

- Filtración HEPA en la cámara
- Esterilización automática por calor con nivel de garantía de 12 litros (SAL)
- Depósitos de humedad protegidos
- Estantes electropulidos Juntas, estas avanzadas tecnologías ayudan a minimizar las posibilidades de que los microorganismos colonicen la incubadora o sus células cultivadas.

Filtración HEPA en la cámara

Un filtro de partículas de aire de alta energía (HEPA) capturará todas las partículas y microorganismos, independientemente de su tamaño. Esto se debe a diferentes procesos físicos que incluyen la impactación, la difusión y la interceptación. [2]

Las incubadoras de CO2 de la serie CTS de Thermo Scientific cuentan con filtración HEPA en cámara que filtra todo el volumen de aire de la cámara cada 60 segundos, logrando condiciones ISO Clase 5 o mejores en cinco minutos o menos después de cada apertura de la puerta. Esta tasa de reducción de partículas es sólo

posible con componentes internos de la cámara. Algunos fabricantes de incubadoras sitúan un filtro HEPA fuera de la cámara de la incubadora en un bucle de derivación, lo que requiere que las muestras de aire se extraigan de la cámara y pasen a través del tubo hasta el filtro HEPA, accionado por una bomba de aire. Esta disposición puede resultar en una filtración incompleta del aire y un tiempo mucho más lento para limpiar la calidad del aire de la cámara.

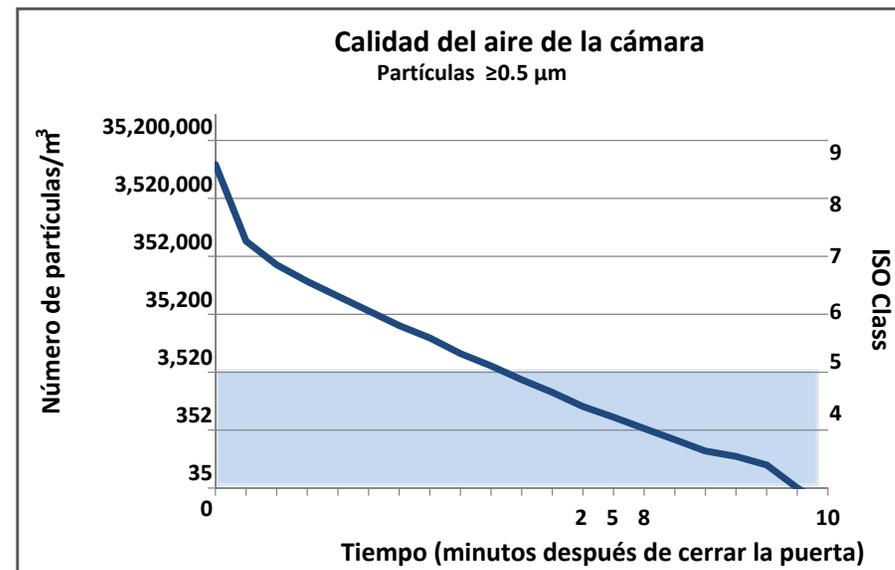


Figura 1. El sistema de filtración HEPA de CO2 Thermo Scientific™ Heracell™ Vios™ CR reduce el número de partículas circulantes en la cámara de la incubadora en 10.000/m³ en 5 minutos tras una Apertura de la puerta en 30 segundos. Todo el volumen de aire de la cámara circula a través del filtro HEPA cada 60 segundos, con lo que el recuento de partículas se aproxima a cero mientras la puerta de la incubadora permanece cerrada.

1

Protección continua probada de las muestras



Esterilización térmica automatizada SAL de 12 log

El control de los microorganismos en una sala blanca de producción es primordial, ya que estas terapias únicas no pueden someterse a la filtración final. Los métodos utilizados para la eliminación deben ser eficaces para lograr resultados consistentes y fiables que ayuden a proteger la integridad del producto y, en última instancia, la seguridad del paciente.

La esterilización se define en las farmacopeas estadounidense y europea [3,4] como la evidencia de la eliminación de un millón (10⁶) de microorganismos específicos que son más resistentes al tratamiento que cualquier otra forma de vida. Para la esterilización por calor seco, el organismo indicador biológico (BI) aceptado es la forma endosporosa de *Bacillus atrophaeus*. Para la esterilización en autoclave, el BI es la forma endosporosa de *Geobacillus stearothermophilus*, y deben utilizarse cepas específicas con resistencia al calor cuantificada.

Para la farmacopea estadounidense, se requiere una prueba adicional de "exceso", en la que se duplica el tratamiento letal, para un tratamiento eficaz 1012 (12-log) nivel de garantía de esterilidad (SAL). Además, nivel de garantía de esterilidad (SAL), se requiere que el aire caliente circule constantemente "utilizando un ventilador o soplador" para eliminar los puntos fríos donde los microorganismos podrían sobrevivir al tratamiento.

Los incubadores de CO₂ de la serie CTS de Thermo Scientific son únicos en proporcionar esta prueba de esterilización (Tabla 1), así como extensos mapas de temperatura de las cámaras de incubación para mostrar que todas las áreas alcanzan la temperatura de esterilización especificada y que el tiempo a temperatura de esterilización es al menos el doble del requerido para eliminar las BIs [5,6]. Ningún otro fabricante de incubadoras de CO₂ cumple este nivel de evidencia.

Tabla 1. Se ha demostrado de forma independiente que los ciclos de esterilización de Thermo Scientific eliminan más de 6 registros de los indicadores biológicos de esterilización especificados. Para cada modelo, el ciclo de esterilización se probó utilizando la mitad del tiempo a la temperatura de esterilización especificada (180 °C a 45 minutos para los modelos Heracell Vios, o 140 °C durante una hora para las incubadoras de CO₂ Thermo Scientific™ Forma™ Steri- Cult™). Esto da como resultado un registro de 12 SAL para ciclos completos de producción de unidades. [5,6] El color naranja indica el BI para unidades secas esterilizadas por calor, el verde indica el BI para esterilización en autoclave.

Tabla 1. Ciclos de esterilización

Eficácia da esterilização a alta temperatura em incubadoras de CO ₂ - série CTS				
Modelo de Incubadora	Microorganismo	Controle positivo médio (CFU)	Número recuperado	Redução de troncos
Heracell Vios	<i>Bacillus atrophaeus</i> spores ATCC 51189	2.16x10 ⁷	NG	-7.3
Heracell Vios	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> spores ATCC 12980	4.81x10 ⁶	NG	-6.7
Heracell Vios	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	2.9 8 x10 ⁴	NG	-4.5
Heracell Vios	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ATCC 15531	1.25x10 ⁶	NG	-6.1
Forma Steri-Cult	<i>Bacillus atrophaeus</i> spores ATCC 6633	4. 3 x10 ⁶	NG	-6.6
Forma Steri-Cult	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	3.13x10 ⁶	NG	-6.4
Forma Steri-Cult	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	8.57x10 ⁶	NG	-6.9

1

Protección continua probada de las muestras



Figura 2A. El depósito externo de Steri-Cult puede llenarse asepticamente sin abrir la cámara del incubador.

Fuente de humedad protegida

La humedad relativa (HR) suele proporcionarse en un proceso de cultivo celular para limitar la evaporación de los medios de cultivo y mantener al mismo tiempo un equilibrio preciso de los componentes. Los procedimientos normalizados de trabajo (PNT) relativos a la humedad relativa varían ampliamente. Cuando se suministra agua para la humedad relativa en un entorno de producción, es extremadamente importante proteger el agua de la contaminación microbiana. Los incubadores de CO₂ de la serie CTS ofrecen diferentes enfoques para proteger el agua. Los modelos Steri-Cult disponen de un depósito de agua externo (Figura 2A) que puede rellenarse asepticamente sin abrir la cámara de la incubadora. El depósito alimenta un atomizador que suministra una HR controlada de 0% a 95% a la cámara de incubación.

Los modelos Heracell Vios CR y Thermo Scientific™ Forma™ Steri-Cycle™ CR ofrecen un sistema más sencillo. Un depósito de agua integrado y cubierto está protegido por un prefiltro para ayudar a evitar que las partículas más grandes y los microorganismos entren en el depósito de agua. Cuando el aire circulante entra en el espacio protegido, captura la humedad y los gases acondicionados, y luego pasa a través de un filtro HEPA en la cámara para limpiar el aire. Las pruebas internas demuestran que este diseño ayuda a mantener el agua mucho más limpia que una cubeta abierta estándar [7]. La tapa es fácilmente extraíble para dejar totalmente al descubierto el depósito de agua (figura 2B) y facilitar así su limpieza y desinfección como parte de un proceso estándar de GMP [8].

Figura 2B. Los depósitos de agua de Vios CR y Steri-Cycle CR son totalmente accesibles sin herramientas para su limpieza y desinfección programadas.



1

Protección continua probada de las muestras



Interior electropulido

El electropulido del acero inoxidable mejora pulido mecánico. El proceso de electropulido elimina la rugosidad y la estructura microscópica de las superficies de acero inoxidable. Las incubadoras de CO₂ de la serie CTS presentan interiores electropulidos (figura 3) que reducen la rugosidad de la superficie (Ra) a menos de 0,4 µm, en comparación con una Ra estándar de menos de 0,8 µm. Este tratamiento reduce significativamente las pequeñas áreas donde podrían residir los microorganismos, reduciendo la adhesión bacteriana hasta en un 95% [9]. El electropulido también mejora la resistencia a la corrosión de los desinfectantes químicos habituales, lo que facilita y agiliza los protocolos de limpieza GMP.

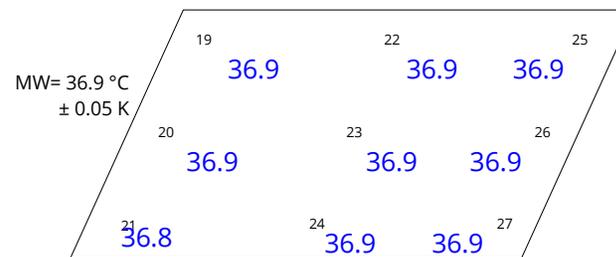
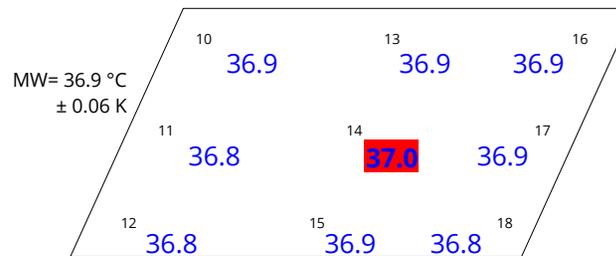
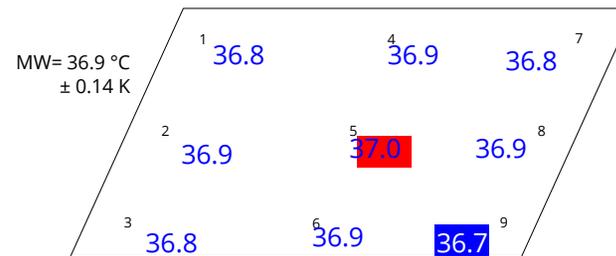
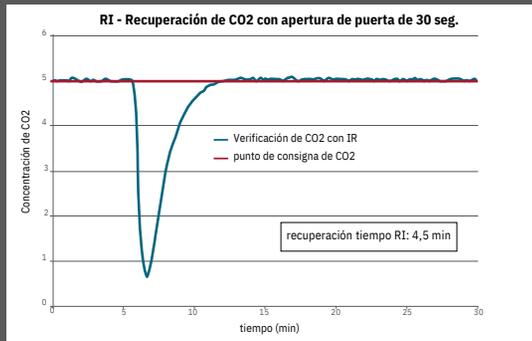
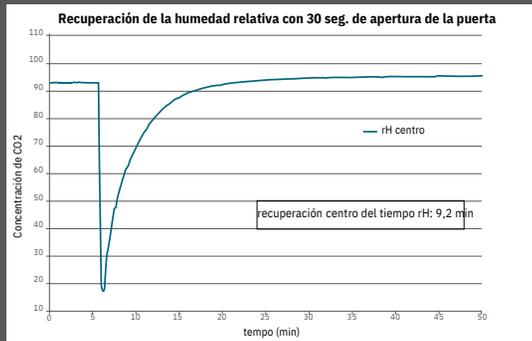
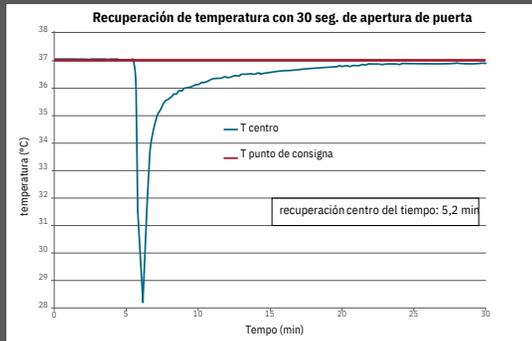
Figura 3. Cámara de incubación de acero inoxidable electropulido Heracell Vios CR.

2

Cultivo reproducible gracias al rendimiento



Figura 4A. Las incubadoras Heracell Vios y Forma Steri-Cycle 255 L CO2 muestran una recuperación de todos los parámetros en diez minutos o menos desde una apertura de puerta de 30 segundos.



Unidad de temperatura = ± 0.14 K

Flutuación da temperatura: ± 0.13 K bis ± 0.14 K (in 9h)

Especificado: Uniformidad de temperatura = ± 0,20 K máx.

Figura 4B. Un mapa de temperatura de 27 puntos de la cámara interior del Form Steri-Cult modelo 3311 muestra la uniformidad +/- 0,2 °C, medida según DIN 12880.

Las células derivadas de pacientes utilizadas para inmunoterapia autóloga o desarrolladas para tratamientos celulares alogénicos son extremadamente reactivas. Los CQA del producto celular final pueden variar enormemente en función de las condiciones de cultivo [1]. Debido a que estas células responden a cambios o señales diferentes, es crucial que las condiciones de arriba a abajo y de lado a lado en la cámara de cultivo sean uniformes para que todas las células experimenten las mismas condiciones. Es aún más importante que el incubador se recupere rápidamente a las condiciones deseadas después de la apertura de una compuerta (Figura 4A), para que las células pasen el máximo tiempo en sus parámetros óptimos, acelerando el tiempo de duplicación, así como ayudando a asegurar la calidad. Las condiciones óptimas para la salud y el crecimiento celular no sólo tienen que ver con la temperatura, sino que el CO2, el oxígeno y la HR también son importantes, ya que todos ellos desempeñan un papel en la salud celular [10]. Una incubadora que garantice la uniformidad y la recuperación rápida ayudará a aumentar la reproducibilidad de los lotes.

Pero la reproducibilidad no está garantizada aunque un incubador tenga las mismas especificaciones que otro sensor porque el rendimiento es más que una lista de especificaciones de piezas. Busque mapas de temperatura completos con un mínimo de 27 puntos (Figura 4B) para obtener datos de uniformidad. Exija un incubador con todos los sensores y sondas situados en la cámara de incubación para garantizar que miden y reaccionan a las mismas condiciones experimentadas por las células cultivadas. Esto puede parecer obvio, pero algunas incubadoras disponen de un "bucle de by-pass" de menor calidad [11] y esta información no siempre está clara por parte del fabricante. Un bucle de derivación también puede representar un reservorio de contaminación microbiana continua porque es difícil de esterilizar.

3 Documentación y recogida de datos

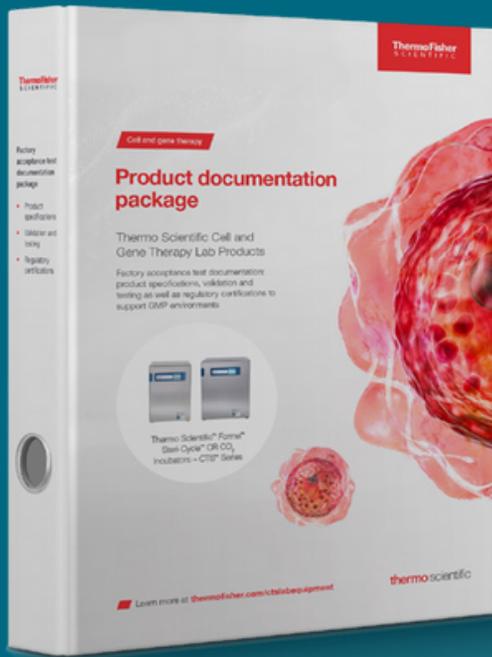


Figure 5A. CO2 incubators CTS series are delivered with a complete documentation binder, containing everything you need to help pass your audits for these instruments.

Las auditorías reglamentarias ayudan a garantizar la seguridad, eficacia, calidad y pureza de su producto celular. Recopilar y organizar todos los documentos para una auditoría requiere un sistema sólido de gestión de calidad y mantenimiento de registros. Pero este trabajo es fundamental para ayudarle a cumplir los requisitos legales y reglamentarios y superar las auditorías; un mantenimiento deficiente de los registros es una bandera común en los fracasos de las auditorías. Las buenas prácticas de documentación (GDP) para sus equipos de producción empiezan con documentos claros y completos, incluidos certificados, datos de pruebas de aceptación en fábrica (FAT), materiales de composición, manuales, dibujos técnicos y recomendaciones de mantenimiento y piezas de repuesto.

Documentación completa

Como parte fundamental de su proceso de producción, la elección y compra de equipos es importante. Además de cumplir con toda la documentación y las estipulaciones de calidad que acabamos de mencionar, el equipo de proceso debe cumplir con las GMP y satisfacer el rendimiento establecido durante el desarrollo del proceso. Los incubadores de CO2 de la serie CTS se suministran con toda la documentación necesaria para facilitar las auditorías reglamentarias, contenida en una única carpeta impresa (Figura 5A). Carpeta de copia impresa (Figura 5A). El paquete de documentación FAT incluye especificaciones técnicas y planos, mantenimiento preventivo recomendado, piezas reemplazables sustituibles, certificaciones completas, limpieza y desinfección limpieza y desinfección recomendadas y protocolos de validación.

Opción de captura de datos (OPC-UA)

Los incubadores de CO2 de la serie CTS pueden integrarse con firmware y protocolo OPC UA (Open Platform for Unified Communications Architecture), lo que permite la comunicación del equipo a través de sistemas de control distribuido (DCS). La introducción de este proceso automatizado en su laboratorio puede ayudar a simplificar la complejidad operativa, reducir el riesgo del proyecto, ahorrar costes operativos generales y le permite gestionar todo el flujo de trabajo de la terapia celular. todo el flujo de trabajo de la terapia celular.



Figura 5B. Accesorio opcional para integrar los incubadores de CO2 Heracell Vios CR y Forma Steri-Cycle CR en los incubadores de Distributed Control Systems.

4

Amplias recomendaciones de limpieza y desinfección



Lea la Nota de aplicación "Limpieza y desinfección de una incubadora de CO2 HeraCell Vios CR o Forma Steri- Cycle CR en un entorno GMP" para obtener más información.



Vea el vídeo de instrucciones: "Métodos de limpieza y desinfección para un entorno de sala blanca" para obtener más información.

Cuando se produce una biología celular, no se pueden subestimar los riesgos que entrañan para el producto celular las partículas microbianas y no viables. Esto significa que para los ingenieros de procesos, los científicos, el personal técnico y el personal de operaciones, la limpieza y la desinfección son una forma de vida. Pero los productos químicos que se utilizan para mantener un entorno limpio también suponen un riesgo. El uso excesivo de la sustancia química equivocada puede provocar el deterioro y la degradación de las superficies y los materiales de cualquier equipo de laboratorio. Además, algunos de estos productos químicos producen compuestos orgánicos volátiles (COV) que pueden desencadenar respuestas de estrés de las células cultivadas [12,13] que afectan a los AQC. Dado que hay tantos

Si tiene dudas sobre qué productos químicos son seguros, le ofrecemos nuestras propias recomendaciones (Tabla 2) sobre productos químicos comunes que han sido probados y han demostrado su compatibilidad y eficacia [8]. En todos los casos, siga las recomendaciones del fabricante para la dilución a una concentración de trabajo y para el tiempo de permanencia, y siga todos los productos químicos con etanol al 70% o isopropanol al 70% para eliminar los residuos que podrían acumularse con el tiempo, dañando las células de cultivo y el equipo.

Tabla 2. Recomendaciones para los productos químicos utilizados para la desinfección manual de las incubadoras de CO₂. Estos desinfectantes han demostrado su compatibilidad con el acero inoxidable, el vidrio y el cobre cuando se utilizan según las recomendaciones del fabricante. EtOH al 70% o IPA al 70% son excelentes opciones para usar después de cualquier otro producto químico para eliminar residuos que podrían causar corrosión con el tiempo. Los productos químicos desinfectantes no incluidos en la lista no se recomiendan debido a posibles daños a los materiales de incubación. Para interiores 100% de cobre, un desinfectante químico no es necesario debido a las propiedades naturales del cobre. Sin embargo, se puede utilizar EtOH al 70% o IPA al 70% sin riesgo para la superficie de cobre.

Tipo	Concentra	Ejemplo de marca
Ethanol	70%	Any (common)
Isopropanol	70%	Any (common)
Quaternary ammonium	10% or less (2% or less is best)	Conflikt™, Lysol™ No Rinse, Fermacidal D2™
Hydrogen peroxide	1–3%	Any (common)
Hydrogen peroxide/peracetic acid/acetic acid	1%/0.8%/<10%	Spor-Klenz™ Ready-to-Use (RTU) Sterilant (STERIS Life Sciences)

5

Flexibilidad y escalabilidad rentables del proceso



Figura 7A. Incubador de CO2 apilado Vios CR con CultiMaxx Shelf Systems, con hasta 20 biorreactores G-Rex® 500M-CS.

Con su terapia génica o celular terapéutica que le cambiará la vida, espera que la aprobación normativa y la eficacia continuada de los tratamientos impulsen una mayor demanda. Para facilitarle la ampliación, le ofrecemos opciones para aumentar la capacidad y accesibilidad de los recipientes. Estos accesorios pueden instalarse fácilmente en sus incubadoras de CO2 de la serie CTS, ayudándole a mejorar su producción no sólo en la misma zona, sino en las mismas unidades.

Los sistemas de estanterías Thermo Scientific™ CultiMaxx™ están optimizados para los recipientes de producción de terapia celular y génica más populares, incluidos los biorreactores Wilson Wolf G-Rex®, los sistemas celulares Thermo Scientific™ Nunc™ Factory™ y las bolsas de cultivo VueLife™ de Saint-Gobain.



Figura 7B. Sistema de estanterías CultiMaxx para hasta 9 sistemas Nunc Cell Factory con 10 o 13 capas en un incubador CO2 Form Steri-Cult.

Figura 7C. Sistema de estantes CultiMaxx en cascada en un incubador de CO2 Vios CR con fácil acceso a los sistemas Nunc Cell Factory.

Resumen y 5 razones

Las consideraciones clave para la producción GMP de las incubadoras de CO2 utilizadas en terapia celular y génica incluyen métodos probados de control de la contaminación como la filtración HEPA en la cámara, esterilización probada, fuente de humedad protegida y un interior electropulido. Los modelos de la serie CTS demuestran uniformidad en todo el proceso y una rápida recuperación a las condiciones deseadas para ayudar a proporcionar un producto biológico final que cumpla con sus AQC definidos. Un amplio paquete de documentación puede ayudarle a cumplir la normativa. Las recomendaciones detalladas del fabricante para la limpieza y la desinfección pueden ahorrarle tiempo y quebraderos de cabeza. Los accesorios compatibles ayudan a maximizar su inversión en el mismo espacio a medida que aumenta su producción. Los incubadores de CO2 Thermo Scientific serie CTS son los socios de producción con los que puede contar.

Referencias:

1. Garcia-Aponte OF, Herwig C, Kozma B. (2021) Lymphocyte expansion in bioreactors: update on adoptive cell therapy. *Journal of Biological Engineering* 15:13.
2. Lindley WG. (2016) Tamaño del poro del filtro y recogida de muestras de aerosoles. In *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)*, 5th ed. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Instituto Nacional para la Seguridad y la Salud en el Trabajo.
3. (2014) *The United States Pharmacopeia*, 37th Ed. Rockville MD, Estados Unidos.
4. Dirección Europea de Calidad del Medicamento y Asistencia Sanitaria, Consejo de Europa. *Farmacopea Europea*, 10ª ed. Estrasburgo, Francia, 2019.
5. Thermo Fisher Scientific. (2015) El ciclo de esterilización Thermo Scientific Steri-Run demuestra la esterilización total. ANCO2STERIRUN 0215.
6. Thermo Fisher Scientific (2022) Incubadores de CO2 de Thermo Scientific con ciclo de esterilización por calor seco a 140°C consiguen una esterilización probada. En prensa.
7. Thermo Fisher Scientific. (2017) Thermo Scientific Smart Note: How the design of the covered water reservoir integrated into a Thermo Scientific selected CO2 de Thermo Scientific protege las células cultivadas al limitando los contaminantes en el agua húmeda? TNCO2WATER 1017.
8. Nota de aplicación de Thermo Scientific (2021) Limpieza y desinfección de incubadores de CO2 Heracell Vios CR o Forma Steri-Cycle CR en un entorno GMP. 2 en un entorno GMP. Thermo Fisher Scientific COL34271 0821.
9. Arnold JW, Boothe DH, Suzuki O, Bailey GW. (2004) Multiple imaging techniques demonstrate manipulation of surfaces to reduce bacterial contamination and corrosion *J Microscopy* 216(3).
10. Thermo Fisher Scientific (2022) Thermo Scientific Smart Note: ¿Qué condiciones de incubación son más importantes para el crecimiento y la expresión adecuados de las células? EXT2369 0322.
11. Thermo Fisher Scientific (2022) Thermo Scientific Smart Note: ¿Por qué la ubicación de los sensores en mis incubadores de CO2 afecta a las respuestas de mis células cultivadas? EXT3066 0622.
12. Shen S, Yuan L, Zeng S (2009) An effort to test the embryotoxicity of benzene, toluene, xylene and formaldehyde to murine embryonic stem cells using the airborne exposure technique. *Inhalación Toxicology* 21(12):973.
13. McDermott C, Allshire A, van Pelt FNAM, Heffron JJA (2007) Sub-chronic toxicity of low concentrations of industrial volatile organic pollutants in vitro. *Toxicología y Farmacología Aplicada* 219: 85

Obtenga más información en thermofisher.com/ctslabequipment

Para uso en laboratorio. Es responsabilidad del cliente asegurarse de que el rendimiento del producto es adecuado para los usos o aplicaciones específicos del cliente. © 2023 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus filiales, a menos que se especifique lo contrario. G-Rex es una marca registrada de Wilson Wolf Corporation. VueLife es una marca registrada de Saint-Gobain Performance Plastics Corporation. EXT4745 0323

