



**HAL**  
open science

# Validation du procédé de fabrication des biomédicaments : quelles sont les exigences réglementaires et les recommandations ? Exemples d'approches et de stratégies employées dans le cadre de la production d'anticorps monoclonaux

Sonia Baccouchi

► **To cite this version:**

Sonia Baccouchi. Validation du procédé de fabrication des biomédicaments : quelles sont les exigences réglementaires et les recommandations ? Exemples d'approches et de stratégies employées dans le cadre de la production d'anticorps monoclonaux. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01639798

**HAL Id: dumas-01639798**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01639798>**

Submitted on 20 Nov 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2017

N°

**THESE**  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN**  
**PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le 19 Mai 2017

Par *Baccouchi Sonia*

Né(e) le 20/08/1990 à Retalhuleu (Guatemala)

*Validation du procédé de fabrication des biomédicaments: quelles sont les exigences réglementaires et les recommandations ? Exemples d'approches et de stratégies employées dans le cadre de la production d'anticorps monoclonaux.*

Président du jury :

*VERITE Philippe, Professeur de Chimie Analytique et responsable de la filière industrie*

Membres du jury :

*PIGNOT Charlotte, Responsable Assurance Qualité Projet/validation, Sanofi Vitry-sur-Seine*

*GUERBET Michel, Professeur de toxicologie et directeur du département Pharmacie*

*GUIDAT Elodie, Chargée Assurance Qualité Projet/validation, Sanofi Vitry-sur-Seine*

**L'Université de Rouen et l'UFR de  
Médecine et de Pharmacie de Rouen  
n'entendent donner aucune approbation  
ni improbation aux opinions émises dans  
cette thèse. Ces opinions sont propres à  
leurs auteurs.**

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2016 - 2017**  
**U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN**

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**  
ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**  
**Professeur Benoit WEBER**  
**Professeur Pascal JOLY**  
**Professeur Stéphane MARRET**

Liste des enseignants-chercheurs du département Pharmacie

**PROFESSEURS**

Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacologie
Mr Roland <b>CAPRON</b> (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b> (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Isabelle <b>LEROUX - NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

**MAITRES DE CONFERENCES**

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy <b>BELLIEN</b> (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Camille <b>CHARBONNIER</b>	Statistiques
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mr Eric <b>DITTMAR</b>	Biophysique
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mme Dominique <b>DUTERTE- BOUCHER</b>	Pharmacologie
Mr Abdelhakim <b>ELOMRI</b>	Pharmacognosie

Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla <b>GHARBI</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique
Mr Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia <b>LE GOFF</b>	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Marine <b>MALLETER</b>	Biologie Cellulaire
Mme Sabine <b>MENAGER</b>	Chimie organique
Mme Tiphaine <b>ROGEZ-FLORENT</b>	Chimie analytique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mr Jean-François <b>HOUIVET</b>	Pharmacie officinale

### **PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde <b>GUERIN</b>	Anglais
----------------------------	---------

### **ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE**

Mme Sandrine <b>DAHYOT</b>	Bactériologie
----------------------------	---------------

### **ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

Mme Hanane <b>GASMI</b>	Galénique
Mme Benedetta <b>CORNELIO</b>	Chimie organique

## **REMERCIEMENTS**

Je remercie Charlotte Pignot et toute l'équipe de l'Assurance Qualité projet/validation du centre de production de Sanofi Vitry-sur-Seine pour m'avoir accueillie et fait découvrir la validation de procédés appliquée aux biotechnologies lors de mon stage de fin d'études. J'ai beaucoup appris et apprécié travailler avec vous.

Je remercie Mr Vérité et Mr Guerbet pour avoir accepté de faire partie de mon jury, d'évaluer mon travail et d'avoir contribué à l'apprentissage des sciences pharmaceutiques tout au long de mes études.

Je remercie toute l'équipe de la Pharmacie Deceuninck pour m'avoir accueillie et supportée pendant 5 ans à raison d'un samedi sur deux et même parfois pendant les vacances scolaires !! J'ai beaucoup appris et grandi en votre compagnie.

Je remercie toute l'équipe du mastère spécialisé « génie des procédés biotechnologiques » pour avoir contribué à l'approfondissement de mes connaissances dans le domaine de la bioproduction et pour avoir renforcé mon envie de continuer dans ce secteur.

Je remercie toutes les personnes, amis, proches, famille qui m'ont soutenue, accompagnée, écoutée et encouragée pendant toutes ces années.

Je remercie mon Ami pour avoir toujours été à mes côtés.

Enfin, je dédie ce travail à mes parents sans qui rien n'aurait été possible.

## TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PARTIE I : BIOTECHNOLOGIE ET MEDICAMENTS</b> .....	2
1. Les Biotechnologies .....	3
2. Les Biomédicaments .....	4
3. Production des biomédicaments .....	5
3.1 Les lignées cellulaires .....	6
3.2 Constitution des banques cellulaires .....	8
3.3 Upstream Processing.....	9
3.4 Downstream Processing .....	11
3.5 Mise en forme pharmaceutique .....	12
4. Particularités des biomédicaments .....	13
<b>PARTIE II : VALIDATION DES PROCÉDES ET QUALITÉ DES BIOMÉDICAMENTS : RÉGLEMENTATION, RECOMMANDATIONS ET APPROCHES</b> .....	15
5. Management de la qualité.....	16
6. Réglementation.....	17
6.1 International Council for Harmonization of Technical requirements for pharmaceuticals for Human Use (ICH) .....	17
6.2 Les Bonnes Pratiques de Fabrication européennes.....	21
6.3 Les Bonnes Pratiques de Fabrication américaines .....	26
7. Activités de Qualification/Validation.....	29
7.1 Qualification des équipements, des installations, des systèmes et des utilités .....	29
7.2 Autres validations .....	32
7.3 Les types de validation .....	33
8. La maîtrise des changements, la revue qualité et la revalidation .....	34
8.1 La maîtrise des changements .....	34
8.2 La revue qualité produit .....	34
8.3 La revalidation .....	35
9. Développement pharmaceutique .....	36
9.1 L'approche traditionnelle .....	37
9.2 L'approche « qualité par la conception » ou Quality by Design .....	37
9.3 Stratégie de contrôle globale .....	39
9.4 Process Analytical Tool (PAT) .....	40

10.	La gestion du risque .....	41
10.1	Principe .....	41
10.2	Outils utilisés dans l'évaluation des risques .....	44

**PARTIE III : EXEMPLES D'APPROCHES ET DE STRATEGIES EMPLOYEES  
DANS LE CADRE DE LA VALIDATION D'ANTICORPS MONOCLONAUX..... 45**

11.	Définition de la stratégie de validation.....	46
11.1	Site Validation Master Plan .....	46
11.2	Validation Master Plan .....	46
12.	L'approche « Life Cycle » .....	47
12.1	Procédé de fabrication d'un anticorps monoclonal.....	48
12.2	Phase 1 : Caractérisation du procédé .....	49
12.3	Phase 2 : Validation du Procédé .....	60
12.4	Phase 3 : Vérification continue du procédé .....	74
<b>CONCLUSION.....</b>		<b>76</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>		<b>77</b>

## FIGURES

Figure 1: Etapes de la production des biomédicaments .....	6
Figure 2: Méthode de constitution des banques cellulaires .....	8
Figure 3: Comparaison des tailles entre les entités chimiques et les entités biologiques .....	14
Figure 4: Cycle en V pour la qualification .....	29
Figure 5: Processus de management du risque.....	41
Figure 6: Exemple d'un procédé de fabrication d'un anticorps monoclonal .....	48
Figure 7: Diagramme d'Ishikawa .....	53
Figure 8: PAR et NOR .....	56
Figure 9: Exemple d'un espace de conception .....	57
Figure 10: Suivi du pH en fonction du temps de culture .....	64

## TABLEAUX

Tableau 1: Lignées cellulaires les plus utilisées .....	7
Tableau 2: Exemples de PAT Tools .....	40
Tableau 3: Exemple de QTTP .....	49
Tableau 4: Exemples de CQA .....	50
Tableau 5: Exemple de CQA pour la substance active .....	52
Tableau 6: Exemples de CPP identifiés par une analyse de risque .....	54
Tableau 7: Exemples d'attributs qualité et paramètres procédé .....	63
Tableau 8: Exemples d'attributs qualité (Holding times).....	66
Tableau 9: Exemples d'attributs qualité/paramètres (validation milieux/tampons) ..	67
Tableau 10: Exemples de critères étudiés (durée de vie résine/cassettes TFF).....	68
Tableau 11: Exemples de paramètres/attributs qualité (Sanitisation/stockage HIC). 70	
Tableau 12: Exemple d'impuretés liées au procédé et au produit .....	71
Tableau 13: Exemples de paramètres suivis (Filtration virale) .....	72
Tableau 14: Exemples tests (transport) .....	73

## INTRODUCTION

Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPFs) ou Good Manufacturing Practices constituent un référentiel réglementaire opposable lors des inspections des établissements pharmaceutiques, par leurs autorités de tutelles, afin de s'assurer que la fabrication du médicament est réalisée dans les normes de qualité requise. Dans un secteur où rigueur et précision sont demandées, il convient selon les BPFs de mettre en place un système qualité pharmaceutique adéquat pour répondre aux exigences des autorités de santé et aux besoins des patients. C'est à ce moment que la validation des procédés intervient. En effet, c'est un élément clé pour qu'un médicament soit commercialisé puisqu'elle reflète la capacité d'un fabricant à maîtriser et contrôler toutes ses opérations de fabrication critiques ainsi que leurs sources de variabilité. Elle repose sur de solides connaissances scientifiques mais aussi sur la gestion des risques. Une validation réussie démontre donc que le médicament qui sera produit, sera de la qualité requise.

Mais qu'en est-il des Biomédicaments ? A l'heure où le marché des biotechnologies est en plein essor, il n'est cependant pas si aisé de valider un procédé de fabrication. En effet, l'utilisation du vivant constitue à elle seule, l'une des plus grandes sources de variabilité difficile à maîtriser et à contrôler. En ce qui concerne les protéines thérapeutiques, celles-ci sont très sensibles à leur environnement. La moindre variation dans le procédé de fabrication peut avoir un impact sur leur efficacité et innocuité, ce qui rend la tâche encore plus ardue.

Cette thèse traitera dans un premier temps des spécificités des médicaments biotechnologiques, dans un deuxième temps de la réglementation et des recommandations associées à la validation de leurs procédés de fabrication, pour finir sur des exemples d'applications dans le cadre de la production d'anticorps monoclonaux.

# **PARTIE I : BIOTECHNOLOGIE ET MEDICAMENTS**

## 1. LES BIOTECHNOLOGIES [1, 2]

C'est l'ingénieur hongrois Károly EREKY qui inventa le mot « biotechnologie » en 1913. Il est composé de « bio » du grec *bios*, vie, et de « technologie » qui désigne les études des outils et des techniques (du grec *techné*, art manuel). Les biotechnologies correspondent donc aux techniques qui utilisent le vivant.

Les premières domestications d'animaux et acclimatation de plantes marquent les prémices de l'utilisation du vivant mais c'est réellement avec les débuts de l'agriculture et les premiers produits fermentés comme le pain et le fromage que vont naître les biotechnologies dites « traditionnelles » et dont les procédés mis en jeu n'étaient pas totalement compris.

Ainsi l'évolution et la modernisation des techniques utilisées dans l'agriculture, l'élevage et l'agroalimentaire permettent de produire d'avantage mais c'est au cours du XIX<sup>e</sup> siècle que la biologie a été réellement étudiée. On peut notamment citer Pasteur et ses travaux sur la fermentation dans les années 1850 qui permirent de démontrer l'existence de microorganismes. Ses successeurs ainsi que lui-même sont considérés comme de véritables pionniers dans le domaine de la microbiologie industrielle. C'est à partir de la seconde guerre mondiale que l'utilisation de ce qu'on appelle aujourd'hui les biotechnologies modernes se répand avec notamment la production à grande échelle du premier antibiotique, la pénicilline, grâce à la fermentation d'un champignon. La découverte de la structure en double hélice de l'ADN par Watson et Crick en 1953 a permis à de nombreuses disciplines telles que la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, et la biochimie de prendre leur essor. Cette découverte signe également le point de départ du génie génétique.

Les secteurs qui utilisent les biotechnologies ont également donné naissance à une classification qui permet de les distinguer : les biotechnologies vertes trouvent leurs

applications dans l'agriculture et l'alimentation, les biotechnologies blanches ont pour objet la production de molécules à partir de biomasse et sont la base d'une chimie durable, la bleue désigne la biotechnologie marine, et enfin les biotechnologies rouges concernent le secteur médical.

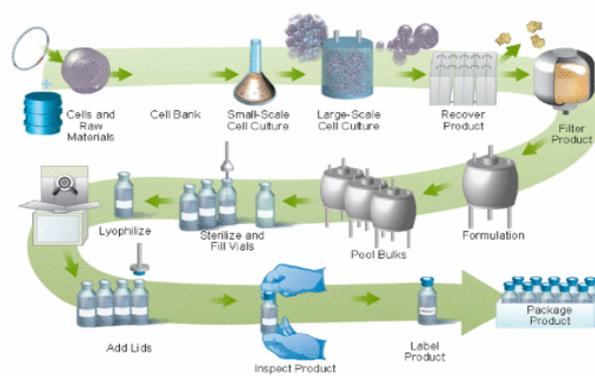
## **2. LES BIOMEDICAMENTS [2, 3]**

Comme il a été vu précédemment, les biotechnologies ont commencé à prendre leur essor au XX<sup>ème</sup> siècle. Cependant, celles-ci ont pris un tournant considérable avec l'apparition du génie génétique notamment liée au déchiffrement du code génétique en 1964 et qui a permis d'établir les relations entre un triplet de base de l'ADN et un acide aminé. Grâce à ces études c'est l'origine des protéines qui a pu être établie. En effet, Les ARN copient l'information contenue dans l'ADN et l'apportent à la machinerie cellulaire qui grâce aux données transmises se charge de synthétiser des protéines. Le génie génétique est un ensemble de techniques qui consiste à utiliser, reproduire ou modifier le génome des êtres vivants. Le premier transfert de gène d'un organisme à un autre a été réalisé en 1971 par Paul Berg où il introduisit le gène d'un virus de singe dans une Bactérie. C'est grâce à ce type de technique que le premier gène synthétique, l'insuline (Humulin ®, 1982), fût commercialisé et approuvé par l'autorité de santé américaine, la FDA (Food and Drug Administration). Il devient alors possible de faire fabriquer par tout type de cellules vivantes (mammifère, levure, bactérie, végétale, insectes) en culture une protéine humaine ayant un intérêt thérapeutique qui après purification sera injectée au malade. La protéine thérapeutique ainsi fabriquée est dite recombinante. De 1982 à 2013, c'est au total 91 protéines thérapeutiques recombinantes qui ont été approuvées par la FDA. Ces approbations concernent notamment différentes classes pharmacologiques qui incluent les anticorps monoclonaux, les modulateurs enzymatiques et les modulateurs de récepteurs.

Les Biomédicaments ou médicaments biologiques sont des produits issus des biotechnologies. En plus des protéines thérapeutiques dont les anticorps monoclonaux représentent une grande part, cette classe de médicaments comprend également les vaccins, les produits pour thérapie génique et cellulaire, et les dérivés du sang ou du plasma humain. Les ventes des biomédicaments ont enregistré un chiffre d'affaires de 78 milliards de dollars en 2006 contre 179 milliards en 2014. Elles devraient atteindre les 250 à 300 milliards en 2020, pour représenter près d'un tiers du marché pharmaceutique mondial. En 2014, sur les dix médicaments qui ont généré le plus de chiffres d'affaires, 5 sont des biomédicaments. Dans le secteur pharmaceutique, 80% des nouvelles molécules mises sur le marché sont issues des biotechnologies. En 2005, Elles ne représentaient que 20 à 30% du marché.[46, 47]

### 3. PRODUCTION DES BIOMEDICAMENTS

Les médicaments dérivés du génie génétique sont fabriqués selon les étapes présentes dans la **Figure 1**: La séquence codante pour la protéine désirée est insérée dans un vecteur d'expression qui sera transféré dans une cellule hôte, issue d'une lignée cellulaire définie, afin de synthétiser la dite protéine. Cette cellule hôte servira de base pour la production de banques cellulaires. Les cellules seront ensuite mises en culture dans des bioréacteurs de tailles croissantes pour accroître leur quantité avant d'être cultivée dans le bioréacteur final (jusqu'à 20m<sup>3</sup>) qui se finalisera par la récolte de la protéine désirée. Cette première phase qui correspond à la culture cellulaire est également appelé phase « Upstream ». Elle est suivie de la phase « Downstream » qui consiste à purifier la protéine. Celle-ci est ensuite formulée et conditionnée. [5]



**Figure 1: Etapes de la production des biomédicaments [4]**

### 3.1 Les lignées cellulaires [5, 6, 7]

Les médicaments biotechnologiques sont principalement fabriqués à partir de cellules animales en raison de leurs propriétés qui sont proches des cellules humaines et de leur machinerie qui permet la fabrication de protéines recombinantes dont la structure et la composition sont les plus proches de celles retrouvées chez les êtres humains. Cependant, d'autres systèmes hôtes tels que les cellules d'insectes, les cellules végétales, les bactéries ou encore les levures sont utilisés en fonction des besoins requis.

Les lignées cellulaires qui sont actuellement utilisées sont des lignées continues, c'est-à-dire que les cellules ont une capacité illimitée de division. On parle alors d'immortalisation.

Cette caractéristique peut s'obtenir de différentes façons :

- Spontanément à partir de cellules normales ayant échappées à la sénescence
- A partir de tissus tumoraux
- A partir de cellules normales par agents chimiques, physiques et expression d'oncogènes.

L'avantage de ces cellules est qu'elles sont plus productives, s'adaptent plus facilement à leur environnement et sont moins fragiles en bioréacteur ce qui facilite leur utilisation lors des étapes de transfert industriel.

Les lignées cellulaires qui sont les plus utilisées sont répertoriées dans le tableau suivant :

<i>Cellule</i>	<i>origine</i>	<i>Application courante</i>
<i>Vero</i>	Cellules épithéliales du rein de singe vert	Vaccins viraux humains et vétérinaires
<i>ST</i> <i>MDCK</i>	Cellules épithéliales de testicules de porc et de rein de chien	Vaccins viraux vétérinaires
<i>CHO</i>	Cellules d'ovaire d'hamster chinois	Protéines recombinantes
<i>BHK</i>	Cellules de rein de bébé Hamster	Facteur VIII, vaccins viraux et vétérinaires
<i>Sf9</i> <i>High-5</i>	Cellules d'insectes	Protéines recombinantes
<i>HEK293</i>	Cellules épithéliales de rein humain transformées	Adénovirus
<i>PER.C6</i>	Cellules de rétine humaine	Protéines recombinantes
<i>NS0</i> <i>Sp 2/0</i>	Cellules de myélome de souris	Protéines recombinantes
<i>Hybridomes</i>	Cellules murines hybridées	Anticorps monoclonaux utilisés pour le diagnostic

**Tableau 1: Lignées cellulaires les plus utilisées**

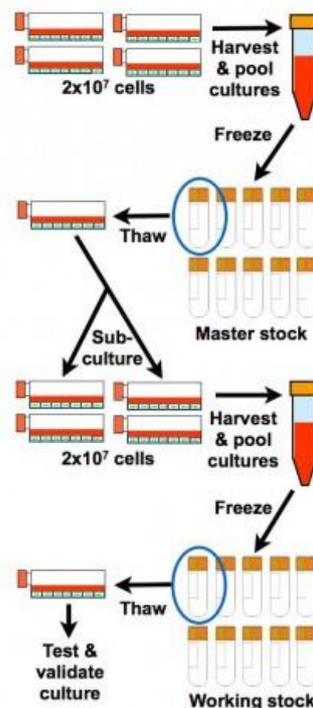
Dans le cadre de la production de protéines recombinantes, ce sont les cellules CHO qui sont les plus utilisées. En effet, celles-ci sont robustes, n'ont pas besoin de support pour proliférer, sont facile à transfecter, ont une plus grande résistance aux infections virales, génèrent des protéines de qualité avec des profils glycosylés quasi-humains et possèdent des rendements de production pouvant aller jusqu'à 10 g/L.

Une fois la lignée cellulaire choisie, celle-ci sera modifiée génétiquement afin d'obtenir la protéine désirée. C'est la technique de l'ADN recombinant qui sera utilisée. Dans un premier temps, un gène humain qui code pour la protéine désirée est inséré dans un plasmide ou encore appelé vecteur d'expression. Il est ensuite transféré dans une cellule hôte qui aura la capacité d'exprimer la dite protéine. Une opération de sélection est ensuite

menée. En effet, le plasmide utilisé contient à l'origine un gène de résistance à un antibiotique (si utilisation d'une bactérie comme cellule hôte). En conséquence, seules les cellules qui auront intégré le plasmide pourront survivre lorsqu'elles seront mises en contact avec l'antibiotique concerné. Le transfert d'un plasmide dans une cellule n'est pas toujours réalisé à 100%.

Les cellules ainsi que la protéine qui est synthétisée seront alors testées pour vérifier si celles-ci répondent aux critères de qualité requise pour une production à l'échelle industrielle. En fonction des résultats, un seul clone de ces cellules sera sélectionné afin de constituer des banques cellulaires qui permettront d'assurer la production du médicament biotechnologique durant toute sa durée de vie.

### 3.2 Constitution des banques cellulaires [5]



**Figure 2: Méthode de constitution des banques cellulaires [8]**

Il existe deux types de banques cellulaires : la banque cellulaire primaire ou Master Cell Bank (MCB) et la banque cellulaire de travail ou Working Cell Bank (WCB).

La création des banques cellulaires commencent d'abord avec celle de la Master cell bank. Le clone recombinant sélectionné est tout d'abord mis en culture afin d'accroître la quantité de cellules. Généralement, les nouvelles cellules produites sont ensuite mises en culture dans des contenants différents puis l'ensemble est alors réuni dans un même et unique pool de cellules pour assurer l'uniformité du contenu de chaque contenant. Le pool est alors réparti en plusieurs aliquots afin d'être cryo-conservés et constitueront la Master Cell Bank.

Un contenant de la MCB est ensuite décongelé et permettra de préparer une WCB selon le même principe qu'expliqué précédemment. Un tube de la WCB donnera alors lieu à un lot de production. Lorsque tous les tubes seront utilisés, une nouvelle WCB sera générée à partir de la MCB.

Le but de ces banques cellulaires est de fabriquer des protéines recombinantes qui seront le plus homogène entre elles puisque qu'elles découleront toutes du même clone sélectionné. Il est donc nécessaire pour le fabricant de mettre en place des dispositions qui vise à protéger sa MCB car si celle-ci est rendue inutilisable alors cela signifierait l'arrêt total de la production et de la commercialisation du médicament.

### **3.3 Upstream Processing**

#### **3.3.1 Expansion cellulaire [5]**

L'objectif de cette étape est de générer la quantité de cellules nécessaire à l'ensemencement du bioréacteur qui assurera la production industrielle. Dans un premier temps, un tube de la WCB est décongelé et mis en culture dans un premier bioréacteur. Après un temps déterminé, la culture est ensuite transférée dans un bioréacteur de taille supérieure. La même opération est réalisée successivement dans des bioréacteurs de taille

croissante jusqu'à atteindre la quantité cellulaire voulue. Puis, le bioréacteur final est ensemencé.

Comme les cellules vivantes et notamment les cellules animales sont sensibles à leur environnement, leur milieu de culture doit être composé d'éléments nutritifs essentiels tels que les sels organiques, les acides aminés, les oligo-éléments, les vitamines, les sources de carbone, l'oxygène, les agents tampons et les lipides. Cependant, la formation d'éléments issus du métabolisme cellulaire tels que le lactate, les ions ammoniums ou le butyrate de sodium doivent tous autant être surveillés en raison de leur toxicité cellulaire et de leurs effets négatifs sur la quantité et la qualité des protéines glycosylées. Plusieurs paramètres comme la température, le pH, la pression et l'agitation doivent également être contrôlés et pilotés pour assurer la production d'une protéine de qualité. En effet, des variations mêmes mineures du procédé peuvent avoir un impact sur l'expression des cellules ce qui peut entraîner la formation d'un produit non souhaité.

### **3.3.2 La Récolte [5]**

Une fois que le temps de culture dans le bioréacteur final est atteint, il s'ensuit l'étape de récolte ou « clarification primaire » où le produit d'intérêt est principalement séparé des cellules et de diverses impuretés. Cependant, deux cas peuvent se présenter : soit la protéine d'intérêt reste dans le milieu intracellulaire soit elle est sécrétée dans le milieu extracellulaire. Dans le premier cas, il faut d'abord récupérer toute la biomasse contenue dans le bioréacteur et éliminer le milieu de culture. Les cellules sont ensuite lysées et la protéine se retrouve alors dans un mélange constitué de débris cellulaires et du reste du contenu intracellulaire. Dans le deuxième cas, on doit séparer le milieu de culture, qui contient la biomolécule et différentes impuretés, des cellules.

A l'issue de ces deux cas, la protéine devra être isolée à l'aide d'opérations de centrifugation et de filtration en profondeur. Une filtration tangentielle est souvent ajoutée pour concentrer le filtrat avant de passer à la phase de purification.

### **3.4 Downstream Processing [5, 9]**

La phase « Downstream » est conçue de manière à éliminer le reste des impuretés et donc à obtenir une protéine d'une pureté maximale. Elle est essentiellement constituée d'étapes de chromatographie et de procédés de séparation membranaire. La première étape consiste généralement à capturer la protéine d'intérêt et à éliminer les impuretés en ayant recours à une chromatographie d'affinité. Dans le cas de la production d'un anticorps monoclonal, c'est la protéine A qui est utilisée comme ligand sur la phase stationnaire. Le taux de purification atteint est généralement de l'ordre de 90 %.

Les deux chromatographies qui sont ensuite le plus souvent utilisées sont les chromatographies échangeuses d'ions et d'interaction hydrophobe

La chromatographie par échange d'ions élimine les protéines indésirables, les sels, les résidus et permet d'obtenir un taux de purification pouvant aller jusqu'à 99%. Celle d'interaction hydrophobe sert à éliminer des impuretés à l'état de traces, dont des substances apparentées à la protéine d'intérêt (polymères, fragments et autres formes mal repliées).

En parallèle de ces étapes, la solution contenant le produit doit être soumise à des opérations de clairance virale (ex : inactivation virale, filtration virale). De par leur nature et leurs origines, les produits biotechnologiques sont plus facilement sujets à des contaminations virales. Il faut donc s'assurer que le procédé de fabrication élimine ce risque.

Des étapes de filtration tangentielle peuvent également être mises en place au cours du procédé. Celles-ci sont utilisées soit pour séparer des composés en fonction de leur taille ou de leur poids moléculaire, soit pour diminuer le volume d'élution (c'est ce qu'on appelle l'ultrafiltration) lorsqu'elles sont placées en amont des étapes de chromatographie soit pour changer la composition d'un solvant en ajoutant des excipients permettant la formulation du produit purifié (c'est ce qu'on appelle la diafiltration).

La phase downstream se finalise par une filtration virale et une filtration de polissage (0,2 µm de diamètre pour les pores du filtre) qui permettent d'atteindre un taux de pureté de l'ordre de 100 %.

### **3.5 Mise en forme pharmaceutique [5, 10]**

La formulation est une étape complexe qui est réalisée par le fabricant de la substance active. A l'instar des molécules chimiquement synthétisées, les protéines possèdent un poids moléculaire très élevé. Une entité chimique pèse en moyenne 250 Da contre 4500 voire 260000 Da pour une protéine, ce qui est incompatible avec une absorption digestive. Aussi, leurs caractéristiques physico-chimiques, biologiques et immunologiques doivent également être conservées puisqu'elles ont un impact sur l'efficacité thérapeutique mais aussi sur la santé du patient.

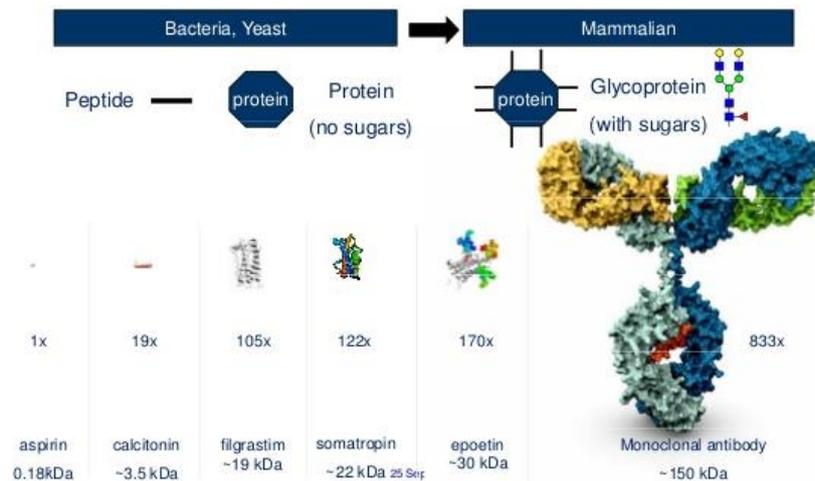
De plus, les protéines présentent une instabilité physique (fragmentation, agrégation, etc.) et chimique (risque de déamination, d'oxydation, etc.). Elles ne peuvent donc pas être absorbées par voie orale puisqu'elles ne résistent pas aux attaques enzymatiques des protéases présentes dans le tractus gastro-intestinal.

Les procédés de mise en forme pharmaceutique actuels font surtout intervenir la lyophilisation car elle permet de mieux conserver le médicament et de maintenir sa stabilité. La protéine peut être directement formulée sous forme injectable (flacon, ampoule ou seringue) par ajout de sels pour ajuster le pH, d'adjuvants pour assurer sa conservation, sachant qu'il reste difficile de maintenir en solution de fortes concentrations de protéines sans risque d'agrégat. Une fois formulées, les protéines thérapeutiques nécessitent des précautions d'emploi particulières tout au long de la chaîne de distribution : La chaîne du froid doit être respectée, elles doivent être protégées de la lumière et ne pas être brutalement agitées.

Le remplissage final est ensuite réalisé de manière aseptique afin de ne pas contaminer le produit.

#### **4. PARTICULARITES DES BIOMEDICAMENTS [11, 12]**

Contrairement aux médicaments classiques qui sont pour la plupart des petites molécules, synthétisées chimiquement avec une structure bien définie et caractérisée, la plupart des produits biopharmaceutiques présentent un poids moléculaire élevé avec des formes complexes qui ne sont pas facilement caractérisées. Les protéines, par exemple, sont constituées d'une séquence primaire (séquence d'acides aminés), secondaire (par exemple des motifs structuraux sous la forme d'une hélice alpha et d'un feuillet bêta) et d'une structure tertiaire (la forme globale d'une protéine). Elles présentent parfois une structure qu'on appelle quaternaire, c'est-à-dire que plusieurs chaînes polypeptidiques (sous-unités) forment un complexe protéique (par exemple, l'hémoglobine).



**Figure 3: Comparaison des tailles entre les entités chimiques et les entités biologiques [13]**

Les produits biologiques peuvent être modifiés de manière imprévisible par le processus de fabrication, ce qui peut entraîner une modification dans l'activité biologique ou l'induction d'une immunogénicité du fait de leur présence. Ils ont tendance à être sensibles à des facteurs environnementaux tels que les changements de température, le cisaillement et l'oxydation. Par conséquent, ils sont moins stables et se dégradent plus facilement que les médicaments chimiques. Ils sont également sensibles à tout type de contamination comme les virus, les bactéries, les endotoxines bactériennes, les champignons, les levures et les mycoplasmes dont la présence dépend de la lignée cellulaire et des matières premières utilisées au cours du procédé de fabrication. Par conséquent, il est nécessaire de mettre en place des contrôles et d'utiliser des procédés qui maîtrisent ces contaminations lors des étapes de fabrication. Un autre point important est que dans un procédé de fabrication biotechnologique il doit être prouvé que les cellules utilisées permettent de synthétiser un produit qui est sûr pour le patient. Ceci doit être assuré en générant une banque cellulaire de fin de production (EOP ou End of Production) dans le but de tester la stabilité génétique et la sécurité virale et microbienne.

**PARTIE II : VALIDATION DES PROCÉDES ET  
QUALITÉ DES BIOMÉDICAMENTS :  
RÉGLEMENTATION, RECOMMANDATIONS ET  
APPROCHES**

## 5. MANAGEMENT DE LA QUALITE

Selon l'ISO 9000, la qualité est définie comme étant « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les exigences spécifiées ». En ce qui concerne l'industrie pharmaceutique, la qualité d'un médicament repose sur son identité, sa sécurité, sa pureté, son dosage, et son efficacité.

L'objectif qualité qui doit être atteint ne peut être réalisé que si un système de gestion de la qualité pharmaceutique est bien établi et correctement mis en œuvre. Dans l'industrie pharmaceutique, celui-ci est axé en priorité sur le patient. Il doit notamment intégrer les exigences des Bonnes Pratiques de Fabrication et la gestion du risque qualité.

Un Système de gestion de la qualité pharmaceutique efficace est « destiné à améliorer la qualité et la disponibilité des médicaments à travers le monde et dans l'intérêt de la santé publique. Sa mise en place – tout au long du cycle de vie du produit – doit faciliter l'innovation, l'amélioration continue et renforcer le lien entre les activités de développement pharmaceutique et de fabrication. » [14]

Ces trois objectifs principaux sont :

- La mise à disposition de médicaments de qualité à l'ensemble des acteurs concernés.
- Mettre en place des systèmes qui permettent de garantir la maîtrise de l'ensemble des activités liées à la production d'un médicament. La validation du procédé fait donc partie intégrante de cet objectif puisqu'elle participe à la surveillance des performances du procédé et de la qualité du produit
- Mettre en place des systèmes d'amélioration continue dans un souci constant de satisfaire aux exigences notamment par la mise en place d'un système d'actions

correctives et préventives qui doit permettre l'amélioration du produit et du procédé, ainsi que de leur compréhension.

## **6. REGLEMENTATION**

Dans l'industrie pharmaceutique, la validation des procédés est un élément essentiel des BPF. Elles constituent un aspect clé du système qualité et de l'évaluation des dossiers pour l'autorisation de mise sur le marché. En effet, lors de toute soumission de dossier, ce sont les données issues de la validation qui vont être les plus déterminantes pour l'approbation d'un médicament. Celles-ci reflètent la capacité d'une entreprise à maîtriser la production de ses médicaments en atteignant la qualité requise mais aussi en démontrant qu'ils sont efficaces et sûrs pour les patients. C'est pour cela que des tests et des contrôles sont mis en place. Les fabricants prouvent ainsi qu'ils contrôlent les aspects critiques de leurs opérations de fabrication. La validation de procédé fournit la preuve que le procédé est capable de manière reproductible d'assurer la production d'un médicament de la qualité voulue. C'est un moyen de gestion stratégique de la qualité mais aussi d'amélioration des performances.

### **6.1 International Council for Harmonization of Technical requirements for pharmaceuticals for Human Use (ICH) [15]**

L'ICH, qui a été créée en 1990, est une organisation composée d'industriels et d'autorités réglementaires se réunissant en vue de discuter des aspects scientifiques et techniques de l'enregistrement des médicaments. Son objectif principal est d'harmoniser les pratiques à l'échelle mondiale afin de s'assurer que des médicaments sûrs, efficaces et d'une qualité élevée sont développés et enregistrés de la manière la plus adéquate.

Cette harmonisation se réalise par l'établissement de directives ICH en ayant recourt à un processus de consensus scientifique qui réunit à la fois des experts réglementaires et des industriels. Elle permettra notamment de faciliter l'enregistrement des médicaments entre l'Europe, les Etats-Unis et le Japon.

Les lignes directrices concernent 4 domaines :

- « Q » pour Qualité
- « S » pour Sécurité
- « E » pour Efficacité
- « M » pour Multidisciplinaires

### **6.1.1 ICH Q7 à Q11**

L'ensemble de ces guides décrivent une nouvelle approche de la qualité fondée sur le cycle de vie du produit et la gestion des risques.

L'ICH Q7 [16] correspond aux Bonnes Pratiques de Fabrication dans la production des principes actifs chimiques et biologiques. En effet, les exigences concernant la fabrication des principes actifs et des produits finis ne sont pas les mêmes. Ces deux types de fabrication font chacune l'objet d'une section dans le dossier réglementaire du médicament.

L'ICH Q8 et Q11 [29, 30] encadrent respectivement les activités de développement du produit fini et de développement du principe actif. L'ICH Q11 étant la dernière directive publiée, celle-ci intègre les aspects développés dans les ICH Q7 à Q11.

L'ICH Q9 [25] définit les principes de la gestion des risques et l'ICH Q10 [14] décrit un modèle de système qualité pharmaceutique qui peut être appliqué à l'ensemble du cycle de vie d'un produit. Il va donc au-delà des exigences actuelles des BPF qui ne s'appliquent pas développement d'un produit. Les spécifications qui vont au-delà des exigences BPF restent optionnelles.

### **6.1.2 Réglementation des produits issus de la biotechnologie**

Les protéines thérapeutiques sont des molécules très complexes qui sont sensibles à leur environnement et peuvent être rapidement dégradées ou modifiées. En conséquence, celles-ci n'auront plus le même effet thérapeutique et pourront même être dangereuses pour le patient. Il est donc impératif que leur procédé de production soit rigoureusement contrôlé afin d'assurer leur qualité. Des lignes directrices ont été publiées par l'ICH dans ce sens.

La ligne directrice liée à la sécurité virale (Q5A) fournit des recommandations en ce qui concerne l'utilisation de méthodes pour la détection et l'élimination des virus, ainsi que pour l'évaluation du risque de contamination virale. Elles s'appliquent à l'ensemble du procédé de fabrication dont la production des banques cellulaires [32].

La ligne directrice sur l'analyse des vecteurs d'expression dans les cellules utilisées pour la production de produit protéiques dérivés de l'ADN recombinant (Q5B) fournit des recommandations concernant la caractérisation des vecteurs d'expression. En effet, la séquence codante pour le produit d'intérêt peut être altérée au cours du temps ce qui modifiera la protéine synthétisée et impactera potentiellement le patient. Il est donc nécessaire de vérifier qu'elle n'a subi aucune mutation et qu'elle demeure dans la cellule pendant la durée de la culture et ce, jusqu'à la fin du processus de production. [33]

La ligne directrice « Evaluation de la stabilité des produits biologiques » (Q5C) fournit des recommandations sur les études de stabilité à réaliser pour démontrer le maintien de la qualité du produit durant toute sa durée de stockage. En effet, les produits issus de la biotechnologie sont particulièrement sensibles aux facteurs de l'environnement tels que les

changements de température, l'oxydation, la lumière, la teneur en ions et le cisaillement. Ces études permettent notamment de vérifier que les caractéristiques physico-chimiques, biologiques et immunologiques sont maintenues. Les conditions de stockage et les articles de conditionnement utilisés devraient également être évalués [34]

La ligne directrice « Préparation et caractérisation des substrats cellulaires utilisés pour la production de produits biologiques ou issus de la biotechnologie » (Q5D) fournit des recommandations et des normes pour la préparation et la caractérisation de banques de cellules. En effet la qualité des produits obtenus au moyen d'ADN recombinant (ADNr) suscite certaines incertitudes en raison de l'introduction de vecteurs d'expression dans le substrat cellulaire utilisé pour leur fabrication mais aussi en raison de la cellule qui peut être contaminée par des agents indésirables (virus, microbes) ou qui peut présenter des propriétés ayant un impact sur la qualité du produit d'intérêt. La caractérisation repose sur 4 principes qui sont :

- L'étude de l'identité qui va déterminer si les cellules de la banque sont ce qu'elles sont censées être (ex : étude de la morphologie, caractérisation phénotypique, génotypique, etc.)
- L'étude de la pureté va permettre de vérifier si les banques sont exemptes d'agents microbiens et de contaminants cellulaires.
- La vérification de la stabilité du substrat cellulaire.

Dans le cas des lignées cellulaires transfectées avec des vecteurs d'expression d'ADN recombinant, celle-ci est réalisée en vérifiant la stabilité de la séquence codante du vecteur d'expression dans des cultures de cellules ayant atteint ou dépassé l'âge cellulaire limite de production *in vitro*.

La stabilité du substrat cellulaire doit également être garantie au cours de son stockage. Elle est généralement démontrée au cours des essais cliniques.

- L'étude du caryotype et de la tumorigénécité de la lignée cellulaire lorsque cela est nécessaire. [12]

La ligne directrice « Méthodes analytiques et critères d'approbation pour les produits biologiques et issus de la biotechnologie » (Q6B) fournit les principes généraux nécessaires à l'établissement de spécifications pour les produits d'origine biologiques, en vue de nouvelles demandes de mise sur le marché.

Une spécification est définie comme étant une liste de tests, de références à des méthodes analytiques et de critères d'acceptation appropriés qui sont des limites numériques, intervalles et autres critères pour les tests décrits. Elle établit un ensemble de critères auxquels une substance médicamenteuse, un produit médicamenteux ou matières à différents stades de leur fabrication doivent se conformer afin d'être jugés acceptables pour l'usage auquel ils sont destinés

L'établissement de spécifications repose, entre autres, sur la caractérisation complète du produit qui a été réalisée au cours du développement. Elle correspond à la définition de toutes les propriétés physico-chimiques, biologiques et immunologiques du produit ainsi qu'à l'évaluation de sa pureté. [35]

## **6.2 Les Bonnes Pratiques de Fabrication européennes**

Selon les BPF Européennes, la validation du procédé est définie comme étant « la preuve documentée que le procédé mis en œuvre à l'intérieur des paramètres établis peut fonctionner de manière efficace et reproductible pour fabriquer un produit conforme à ses spécifications et à ses caractéristiques de qualité préétablies. » [18]

Les GMP européennes sont définies par l'Union Européenne en vue de garantir une production et un contrôle cohérent des médicaments conformément aux normes de qualité applicables à l'usage auquel ils sont destinés. Ces exigences sont décrites dans les directives 2003/94/EC et 91/412/EEC. Pour y répondre l'Agence Européenne du Médicament (EMA) a publié un guide, l'Eudralex Volume 4 : « Good Manufacturing Practice Guidelines ». En France, ce guide a été transcrit et publié par l'ANSM au Bulletin Officiel. La version actuellement en vigueur correspond au N° 2015/12 bis. Il est constitué de trois parties, dont deux sont consacrés à la fabrication du produit fini et à la fabrication de la substance active, et de 19 Lignes Directrices particulières chacune. Les concepts de la validation d'un procédé de fabrication sont décrits dans le chapitre 5 « Production » et dans l'annexe 15 « Qualification et Validation ».

Des recommandations ont également été récemment approuvées (2016). Elles permettent notamment de revenir sur les différentes approches utilisées pour la validation des procédés de fabrication des produits finis et des substances actives issues des biotechnologies. Les données à fournir lors de la soumission du dossier en vue de l'obtention de l'AMM sont également évoquées.

### **6.2.1 Chapitre 5 « Production » [17,18]**

Dans ce chapitre, 4 recommandations font référence à la validation :

- « Les études de validation doivent conforter les bonnes pratiques de fabrication ; elles doivent être menées conformément à des procédures définies. Les résultats et les conclusions doivent être consignés ».
- « Lors de l'adoption d'une nouvelle formule de fabrication ou d'une nouvelle méthode de préparation, il convient de démontrer qu'elle satisfait à la production de routine et que le processus choisi, avec les produits et le matériel prévus, donne systématiquement un produit de la qualité requise ».

- « Il convient de valider toute modification importante du processus de fabrication, y compris au niveau du matériel ou des produits, lorsque cette modification peut affecter la qualité du produit ou la reproductibilité du processus ».
- « Les procédés et les procédures doivent être périodiquement soumis à une nouvelle validation critique en vue de confirmer leur aptitude à conduire aux résultats escomptés ».

Ces recommandations encadrent donc la manière dont doit être réalisée la validation d'un procédé de fabrication. Les approches à suivre sont plus détaillées dans l'annexe 15 « qualification et validation ».

### **6.2.2 Annexe 15 « Qualification et Validation » [19]**

La présente annexe mise à jour en Janvier 2017 par l'ANSM, décrit les principes de la qualification et de la validation applicables à la fabrication des médicaments : «Les BPF stipulent que le fabricant doit contrôler les aspects critiques des opérations qu'il met en œuvre au moyen de qualification et de validation tout au long du cycle de vie du produit et du procédé. Tout changement planifié relatif aux installations, aux équipements, aux utilités et aux procédés, susceptible d'avoir un impact sur la qualité du produit, doit être formellement documenté, et l'impact sur le statut de validation ou la stratégie de contrôle évalué». Elle met en avant l'importance de réaliser un suivi en continu du procédé et du produit tout au long de leur cycle de vie puisque ceux-ci sont intimement liés.

Cette annexe décrit les documents relatifs à l'activité de validation et donne des définitions sur les différentes approches de la validation (prospective, concomitante, traditionnelle, vérification en continue du procédé, hybride). Elle revient également sur certains prérequis qui sont nécessaires pour réaliser l'exercice de validation, à savoir : la qualification des équipements, la validation des méthodes analytiques et la qualification du personnel.

Des recommandations concernant la vérification du transport, la validation du conditionnement et la qualification des utilités sont, par ailleurs, énoncées.

### **6.2.3 Guideline sur « la validation du procédé de fabrication des substances actives issues des biotechnologies » [20, 21]**

Dans cette guideline, l'EMA intègre les concepts des ICH Q7 à Q11 et ceux des ICH Q5A et Q6B. Ici, la validation du procédé de fabrication comprend deux activités : la caractérisation du procédé et la vérification du procédé. Elle décrit également les points à considérer pour la validation du procédé de fabrication (phase Upstream et Downstream) et la validation de processus annexes (transport, stockage, etc.)

**La caractérisation du procédé** vise à concevoir un procédé capable de fournir de manière reproductible un produit conforme à ses caractéristiques de qualité. Elle est également subdivisée en deux parties :

- Le développement du procédé inclut les études qui vont permettre de concevoir le futur procédé de fabrication. C'est au cours de cette étape que seront identifiées les variables d'entrée (ex. paramètres opératoires, matières entrantes) et de sortie (ex. attribut qualité, attribut de performance) du procédé à évaluer lors des étapes « évaluation et vérification du procédé ».
- L'évaluation du procédé inclut les études menées à petite échelle et/ou à l'échelle finale (commerciale) qui vont permettre de fournir la preuve que l'ensemble du procédé mais aussi que chaque étape prise individuellement ont été conçus de manière à fournir un produit de la qualité requise. Le but sera d'établir la plage de fonctionnement des variables d'entrée permettant d'obtenir des variables de sorties conformes à leur critères d'acceptation (ex. limite, fourchette à respecter). Leur pertinence sera vérifiée lors de la vérification du procédé.

**La vérification du procédé** doit confirmer que le procédé final qui sera utilisé pour la production de routine sera capable de fournir un produit de la qualité désirée selon les conditions normales de production qui ont été définies lors de l'évaluation du procédé. Les données générées au cours de ces études permettent donc de statuer sur l'état validé du procédé.

Une fois que le procédé est validé, les activités de vérification se poursuivent lors de la production de routine. Elles impliquent la surveillance de la qualité du produit et de la performance du procédé afin de s'assurer que celui-ci reste sous contrôle durant tout le cycle de vie du produit.

Un attribut qualité est une caractéristique ou propriété physique, chimique, biologique, ou microbiologique qui est sélectionnée pour sa capacité à renseigner sur la qualité d'un produit [31].

Un Attribut de performance du procédé est une caractéristique qui est en lien avec la productivité du procédé, c'est généralement une quantité mesurée correspondant à un produit de qualité définie (ex : rendement, concentration, densité de cellules viables, etc.)

#### **6.2.4 Guideline sur « la validation du procédé des produits finis » [21, 29]**

L'EMA revient sur les différentes approches utilisées pour valider le procédé de fabrication de produits finis. Elle peut également s'appliquer aux substances actives.

Elle décrit l'approche de vérification continue du procédé qui est définie dans l'ICH Q8 comme étant « une approche alternative à la validation du procédé traditionnelle dans laquelle la performance du procédé est continuellement surveillée et évaluée ». A l'instar

de la validation traditionnelle qui vise à démontrer que le procédé fournit un produit de la qualité requise sur 3 lots successifs à l'échelle commerciale et une fois que la phase de développement est achevée, la vérification continue est initiée pendant le développement (en général avant la fabrication des lots cliniques de phase III) et se poursuit pendant tout le cycle de développement et de vie du produit. Dès lors, la validation n'est plus basée sur 3 lots mais sur tous les lots qui ont été produits depuis l'initiation de la vérification continue, étape à laquelle le fabricant considère que son procédé est sous contrôle. Cette vérification continue du procédé peut-être réalisée à l'aide de technologies innovantes telles que les Technologies d'Analyse du Procédé (PAT) et d'outils statistiques permettant de suivre dans le temps la capacité du procédé à respecter des spécifications (Statistical process control).

De ce fait, toutes les données générées pendant la vérification continue sont intégrées au dossier de soumission. Elles sont donc issues à minima des études réalisées à l'échelle du laboratoire ou de l'échelle pilote.

Cette approche ne peut, cependant, être envisagée que si le médicament a été développé selon l'approche Quality By Design ou si les connaissances acquises pendant le développement permettent de justifier son utilisation. Elle peut être utilisée pour valider soit l'ensemble du procédé soit les étapes de production que le fabricant considère comme critiques, ce dernier cas correspond à l'approche hybride puisque les étapes considérées comme non critiques seront validées selon une approche traditionnelle.

### **6.3 Les Bonnes Pratiques de Fabrication américaines [22, 23,24]**

Aux États Unis, les BPF sont régies par le « code of Federal Regulations, title 21, part 211 » (FDA, 2016).

Les principes de la validation des procédés ont été initialement établis par la FDA en 1987 lors de la rédaction de la directive «Guideline on General Principles of Process Validation». Elle définissait la validation du procédé comme étant «l'établissement de la preuve documentée qu'un procédé fournira de manière reproductible un produit répondant à ses spécifications préétablies et à ses attributs qualité, et ceci, avec un degré d'assurance élevé ».

Lorsque cette directive fut publiée, la validation pendant les premières étapes du développement du produit (avant la phase I des essais cliniques) était minimale. En effet, la plupart des activités de validation étaient réalisées aux dernières étapes du développement du produit et principalement au cours de la phase 3 des essais cliniques dans le but de préparer le dossier de demande de mise sur le marché.

Depuis 1987, les notions de validation et de validation de procédé ont évolué. Les autorités de santé considèrent maintenant que la validation des procédés doit fournir une démonstration complète de la cohérence et de la compréhension du procédé. Elles s'attendent également à ce que les entreprises conçoivent leur stratégie de validation sur une approche de gestion des risques, définie en 2004 par la FDA dans «Pharmaceutical cGMPs for the 21st Century : A Risk-Based Approach». L'utilisation de cette approche a également été confortée en 2005 avec l'approbation de l'ICH Q9 et l'approbation de la directive de 2011 «Process Validation : General Principles et Practices» publiée par la FDA.

Dans cette dernière directive, la validation d'un procédé de fabrication est définie comme étant « la collecte et l'évaluation des données, de la phase de conception du procédé jusqu'à la phase de production et qui établit la preuve scientifique que le procédé est

capable de fabriquer des produits de qualité ». Elle s'applique aux procédés de fabrication du produit fini et de la substance active, et intègre les concepts des ICH Q8 à Q10.

Dans cette directive, les activités de validation sont décrites en 3 étapes :

- Phase 1 – Caractérisation du procédé (Process Design) : Le procédé de fabrication est conçu au cours de cette étape à partir des connaissances acquises pendant les activités de développement et de transfert industriel. L'objectif de cette phase est le même que pour les étapes « développement » et « évaluation du procédé » décrites dans la guideline de l'EMA.

- Phase 2 – Validation de procédé (Process validation – Process Performance qualification): durant cette étape, le procédé (caractérisé à l'étape 1) est évalué pour déterminer si ce dernier est capable de produire de manière reproductible à l'échelle commerciale dans les conditions normales de production.

- Phase 3 – Vérification continue du procédé (Continued process verification): Cette étape permet de s'assurer que durant la production de routine (fabrication des lots commerciaux) le procédé est maintenu à l'état validé.

La Phase 2 et 3 correspondent à l'étape « vérification du procédé » de la guideline de l'EMA.

Que ce soit l'EMA ou la FDA, celles-ci recommandent donc d'utiliser une approche de validation basée sur le cycle de vie du produit.

## 7. ACTIVITES DE QUALIFICATION/VALIDATION

Ces activités permettent d'établir la preuve, en conformité avec les principes des Bonnes Pratiques de Fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système, permet d'atteindre les résultats attendus.

Ces activités s'inspirent du modèle du cycle en V suivant dont la validation/qualification est l'aboutissement final :

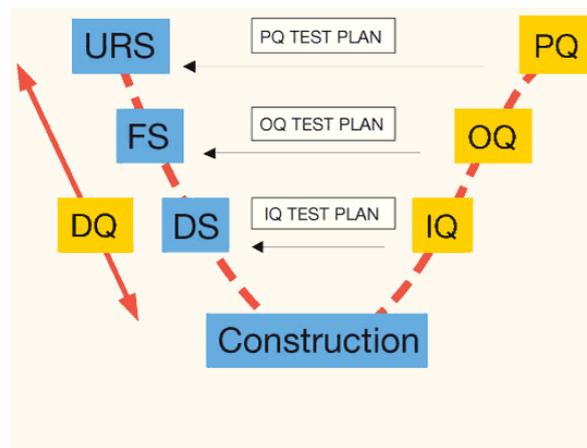


Figure 4: Cycle en V pour la qualification [28]

### 7.1 Qualification des équipements, des installations, des systèmes et des utilités [17]

Avant de débiter l'exercice de validation, une qualification appropriée des équipements critiques, des installations, des utilités et des systèmes auxiliaires doit être réalisée.

Selon les BPF, la qualification est « l'action de prouver et de documenter qu'un équipement ou ses systèmes auxiliaires sont installés convenablement, travaillent correctement et conduisent réellement aux résultats attendus. La qualification est partie intégrante de la validation mais les étapes de qualification seules ne constituent pas la

validation de procédé. ». Concernant les équipements, la qualification permet de s'assurer que les résultats obtenus lors de validation du procédé sont fiables et dignes de confiance.

La qualification est réalisée suivant le cycle en V décrit ci-dessus :

#### Expression du besoin ou User Requirement Specification (URS)

L'URS est un ensemble d'exigences (techniques, fonctionnelles, sécurité, environnementales, etc.) auxquelles le futur élément devra répondre. Les éléments essentiels relatifs à la qualité sont intégrés à ce stade. L'URS est l'outil sur lequel s'appuie la rédaction de la stratégie de qualification.

#### Qualification de Conception ou DQ

La qualification de conception est une vérification documentée permettant de s'assurer que la documentation et les spécifications techniques et fonctionnelles du fournisseur sont en accord avec l'URS préalablement établi et les exigences BPF:

- Les spécifications fonctionnelles décrivent les fonctions à assurer par le système pour répondre aux besoins de l'utilisateur. (Ex : réaliser de la culture cellulaire en 14 jours et obtenir une densité cellulaire de x cellules/ml)
- Les spécifications techniques décrivent les contraintes et les environnements dans lesquels doit évoluer le système. (ex : disposer d'un bioréacteur en inox de X m<sup>3</sup> avec une hélice de X m de diamètre et possédant x pales, etc.)

La DQ s'applique aux systèmes dits « à façon », création spécifique par un fabricant selon les besoins définis. Elle n'est pas obligatoire pour les systèmes dits « standards » (exemple : réfrigérateurs, incubateurs, etc.).

#### Factory Acceptance Test / Site Acceptance Test

Des tests d'acceptation en usine (FAT) peuvent être réalisés chez le fournisseur avant l'envoi de l'équipement lorsque celui-ci intègre en général une nouvelle technologie. Le client (utilisateur, Assurance Qualité et souvent maintenance) exige d'être présent aux

essais et émet un procès-verbal de réception autorisant le fournisseur à procéder à l'expédition. Tous les critères vérifiés lors des FAT ne seront pas systématiquement refaits au niveau des SAT voire des QI/QO.

Les « Site Acceptance Test » (SAT) sont des tests d'équipements qui peuvent être réalisés sur le site. Ils regroupent toutes les activités d'inspection et d'essai qui montrent que les équipements sont montés correctement et s'interfacent de façon satisfaisante avec les autres systèmes ou périphériques.

Ils permettent de prédire si les composants majeurs de l'équipement pourront supporter la qualification conduite sur le site du client. C'est lors des SAT que les opérateurs seront formés avec la mise à disposition d'un manuel utilisateur. Les critères évalués lors des SAT ne seront pas systématiquement revérifiés au niveau de l'IQ/OQ.

#### Qualification d'installation ou IQ

La qualification d'installation permet d'apporter la preuve documentée que le système est correctement installé et conforme aux spécifications du fabricant, et que les recommandations du fournisseur sont respectées. La documentation fournisseur doit également être disponible et consultable.

#### Qualification opérationnelle ou OQ

La QO permet d'apporter la preuve documentée que le système fonctionne tel qu'attendu sur toute la gamme d'exploitation, dans les conditions établies, conformément aux critères d'acceptation prédéfinis. Elle se réalise à blanc (ex : eau ou placebo).

Durant les tests de QO, les opérations sont testées dans les conditions représentatives de l'utilisation normale du système et/ou dans des conditions extrêmes d'utilisation. Ce sont ici les spécifications fonctionnelles (FS) qui seront vérifiées.

#### Qualification de performance ou PQ

La QP permet d'apporter la preuve documentée que le système est capable de délivrer de façon conforme et reproductible, un ou des résultats prédéterminés, dans les conditions normales de production telles que définies dans la définition des besoins de l'URS. La QP doit être réalisée avec des produits de fabrication ou des produits simulés avec un comportement équivalent ou plus critique.

## **7.2 Autres validations**

### **7.2.1 Validation des méthodes analytiques**

L'analyse du produit et des caractéristiques du procédé fait partie intégrante de l'exercice de validation. Des analyses et contrôles appropriés sont alors requis pour démontrer l'efficacité et la répétabilité du procédé. Il est donc nécessaire d'avoir pleinement confiance dans les résultats fournis, ce qui est assuré par la validation des méthodes analytiques.

Cette validation a pour objectif d'avoir une méthode juste (sans biais) et de connaître sa fidélité (répétabilité). Elle repose sur la vérification de plusieurs critères qui sont la spécificité, la linéarité, l'exactitude, la Fidélité, l'intervalle de validité, la limite de détection, la limite de quantification et la robustesse.

### **7.2.2 Validation des procédés de nettoyage [19, 27]**

Les produits pharmaceutiques et les substances actives peuvent être contaminés par d'autres produits, des agents nettoyants, des microorganismes ou d'autres matériaux (par exemple des particules en suspension dans l'air, des poussières, des lubrifiants, des matières premières, des intermédiaires). Dans de nombreux cas, le même équipement peut être utilisé pour traiter différents produits. Pour éviter toute contamination croisée sur le lot suivant, des procédures de nettoyage appropriées sont donc essentielles. Il est fortement

recommandé d'avoir validé les procédures de nettoyage avant l'exercice de validation du procédé puisque celles-ci ont un impact sur la qualité du produit fabriqué. De plus, si ces procédures ont été mal conçues, les résultats analytiques risquent d'être biaisés à cause d'une contamination possible des échantillons qui ont été prélevés sur l'équipement.

Comme toute validation, les procédures de nettoyage doivent être réalisées un nombre de fois suffisant en fonction d'une évaluation du risque et doivent répondre aux critères d'acceptation afin de prouver que la méthode de nettoyage est validée.

### **7.3 Les types de validation [19]**

Selon le moment où elle se situe par rapport à la production de routine, la validation peut être prospective ou concomitante.

#### **7.3.1 Validation prospective**

C'est une validation réalisée avant la production de routine de produits destinés à la vente. Elle concerne soit un nouveau produit ou un produit fabriqué selon un procédé de fabrication modifié, où les modifications sont importantes et peuvent se répercuter sur la qualité du produit.

#### **7.3.2 Validation concomitante**

La validation a lieu pendant la fabrication de routine de produits destinés à la vente. Elle doit rester exceptionnelle et s'applique dans le cas de productions peu fréquentes notamment pour les produits à forte valeur ajoutée tels que les médicaments orphelins ou dans le cas de modifications de procédé mineures. Cette décision doit être justifiée, documentée et approuvée.

### **7.3.3 Validation rétrospective**

Il s'agit d'une validation réalisée pour un produit déjà commercialisé et basée sur les données historiques de production. Actuellement, cette approche n'est plus autorisée.

## **8. LA MAITRISE DES CHANGEMENTS, LA REVUE QUALITE ET LA REVALIDATION**

### **8.1 La maîtrise des changements [14]**

Du fait de l'innovation, de l'amélioration continue, des résultats obtenus par la surveillance de la performance du procédé et de la qualité du produit, et des plans d'action et de prévention mis en place, des changements peuvent être requis. Un bon système de maîtrise des changements doit fournir la preuve qu'il n'existe pas d'impact délétère sur la qualité du produit. Pour cela des procédures écrites doivent être établies et détailler le processus à suivre pour tout changement. L'approche à suivre devra prendre en compte la gestion du risque qualité pour évaluer les changements proposés et le niveau d'effort à fournir qui est fonction du niveau du risque associé. Une équipe d'experts représentant tous les secteurs pertinents devront également participer à cette évaluation afin de s'assurer que les changements proposés sont techniquement justifiés. L'impact sur l'état validé du procédé sera également pris en compte.

### **8.2 La revue qualité produit [18, 37]**

Des bilans réguliers (a minima chaque année) pour les médicaments disposant d'une AMM doivent être menés dans le but vérifier la répétabilité des procédés existants, la pertinence des spécifications en cours pour les matières premières et produits finis, afin de mettre en évidence toute dérive et d'identifier les améliorations à apporter au produit aux procédés.

Elle permettra de mieux appréhender les données générées d'une année sur l'autre puisque celles-ci dépendent des décisions qui ont été prises l'année précédente. La revue qualité des produits permet, entre autre:

- de vérifier la cohérence des procédés de fabrication existants en revoyant les résultats des contrôles en cours de procédé dont les paramètres procédé jugés comme critique et les résultats des analyses réalisées par le contrôle qualité.
- d'identifier les défauts du procédé et leurs impacts sur la qualité du produit.
- de déterminer les défauts et les améliorations possibles en ce qui concerne les méthodes et les processus.
- d'examiner la qualité des matières premières et des conditionnements utilisés pour le produit.
- de revoir le rendement de chaque lot.
- De déterminer la cause des rejets de lot si cela a été le cas
- De revoir les données de stabilité du produit
- De déterminer si une revalidation du procédé est nécessaire
- D'étudier les impacts de tous les changements qui ont été opérés.
- De déterminer les actions correctives et préventives à mettre en place et d'évaluer leur impact sur la qualité du produit.
- Revoir tous les indicateurs de qualité que sont les réclamations, les retours, les rappels et les investigations qui ont été menées.

### **8.3 La revalidation [27]**

La revalidation fournit l'évidence que les changements dans un procédé et / ou son environnement, introduits intentionnellement ou involontairement, n'affectent pas négativement le procédé et la qualité du produit.

. Il existe deux catégories principales de revalidation :

- La revalidation lorsqu'il y a eu un changement au niveau du procédé (ex : dans le cas d'un transfert de procédé d'un laboratoire pharmaceutique à un autre ou d'un site à un autre site).
- La revalidation périodique à intervalles réguliers. En effet, même des changements mineurs qui individuellement ne requièrent pas de revalidation peuvent, par effet cumulatif sur une période déterminée, affectés l'état validé du procédé.

Des procédures devraient donc être mises en place afin de traiter ces deux cas.

Les changements qui peuvent nécessiter d'entreprendre de nouvelles activités de validation sont les suivants :

- Changement qualitatif ou quantitatif de la formule
- Changement des matières premières et des articles de conditionnement
- Changement au niveau des spécifications du produit
- Changement des équipements de production, des locaux, des systèmes et des utilités
- Changement des paramètres opératoire du procédé

## **9. DEVELOPPEMENT PHARMACEUTIQUE**

Pour le développement des médicaments, deux approches peuvent être envisagées : la «méthode traditionnelle» et l'approche «qualité par conception» ou Quality By Design (QbD). L'approche traditionnelle est une approche plus empirique et à variable unique, tandis que l'approche QbD est plus scientifique et fondée sur les risques d'un point de vue réglementaire. L'approche QbD est reflétée dans différentes directives ICH Q8, Q9, Q10 et Q11. Le principe des deux approches est décrit ci-après.

## **9.1 L'approche traditionnelle [16, 29]**

Dans l'approche traditionnelle, le développement pharmaceutique est essentiellement empirique et les études menées lors du développement sont souvent réalisées avec une seule variable à la fois. Les relations multi-variables du procédé de fabrication ne sont pas systématiquement prises en considération ce qui ne favorise pas une compréhension en profondeur du procédé. Ici, la validation du procédé est habituellement basée sur la production de trois lots successifs à l'échelle commerciale. Elle doit notamment permettre de s'assurer de l'uniformité et de l'intégrité du lot et faire appel aux deux types de validations décrites précédemment : La validation prospective et la validation concourante. Ces essais doivent démontrer que le procédé mis en œuvre à l'intérieur des paramètres préétablis doit fournir de manière reproductible un produit de la qualité requise.

Dans l'approche traditionnelle, les contrôles comme, par exemple, les contrôles en cours de fabrication sont fixes et ne sont pas censés être modifiés au cours du temps. De plus, la stratégie de contrôle repose sur un échantillonnage très important et principalement sur l'analyse des produits intermédiaires et finis. En outre, dans la démarche traditionnelle, la gestion du cycle de vie du produit est plus catégorisée comme étant réactive, c'est-à-dire que les problèmes sont résolus et que des mesures correctives sont prises si nécessaire. Cela limite l'utilisation de cette approche car les éléments qui peuvent avoir un impact sur le procédé de fabrication peuvent ne pas être considérés assez tôt.

## **9.2 L'approche « qualité par la conception » ou Quality by Design [24, 29, 30]**

Selon la ligne directrice ICH Q8, le Quality By Design (QbD) est défini comme « une approche du développement qui commence par des objectifs prédéfinis et met l'accent sur la compréhension des produits et des procédés, et leurs contrôles, fondés sur des preuves scientifiques et la gestion du risque qualité ». C'est de cette approche qu'a été développé

les recommandations préconisées par la FDA dans sa guideline « Process validation : General principles and practices » et que l'EMA a développé son approche de validation nommée « continuous process validation ».

Cela implique de prendre et d'utiliser les connaissances acquises lors du développement des procédés, de comprendre les sources de variation multiples (par exemple, les matières premières comme les milieux de culture cellulaire ou les résines pour la purification) et leur impact sur le procédé et par conséquent, sur la qualité du produit (par exemple, la glycosylation, les formations d'agrégats ou la présence d'impuretés, etc.). La stratégie de contrôle qui en découlera sera fondée sur des connaissances scientifiques solides et permettra de garantir que le procédé fournit de façon reproductible un produit de qualité. Avec cette approche, le fabricant montre que les différentes variables qui peuvent influencer le procédé et la qualité du produit sont sous contrôle. L'ICH Q8 est également applicable, en plus des produits finis, au développement et à la fabrication de substance active.

Toutes les données produites au cours des études réalisées à l'échelle laboratoire, l'échelle pilote et/ou l'échelle commerciale, seront utilisées pour assurer la production d'une substance active et d'un médicament de qualité requise. Ce sont ces données qui démontreront donc si l'échelle commerciale est capable de fournir un produit d'une qualité acceptable

L'objectif principal du QbD est donc de développer un procédé robuste et bien compris. Ceci peut être réalisé grâce à l'utilisation de nouvelles technologies telles que les outils de Design of Experiments, les technologies d'analyse du procédé (Process Analytical Technologies ou PAT), les outils statistiques qui permettent de contrôler le procédé et à la définition d'un espace de conception (design space).

### 9.3 Stratégie de contrôle globale [30, 36]

La notion de stratégie de contrôle est définie par l'ICH Q11 comme « un ensemble prévu de contrôles, déduits de la compréhension du produit et du procédé, qui démontrent la maîtrise du procédé et la qualité du produit, pour garantir le respect de ses Attributs Qualité Critiques (CQA) ». En effet, ce sont les attributs qualité critiques du produit qui, ensemble, garantissent l'innocuité et l'efficacité du produit au regard du risque patient.

Celle-ci se base sur l'identification de toutes les sources de variabilité et sur une compréhension approfondie des liens entre les attributs des matières entrantes, les paramètres procédés et les attributs des matières sortantes.

Le contrôle du produit et de tout ce qui a un impact direct ou indirect sur sa qualité inclut de façon non exhaustive :

- Les contrôles sur produit fini ou la substance médicamenteuse via l'établissement de spécifications adéquates
- les contrôles sur matières entrantes (matières premières, conditionnement, milieux, tampons, etc.)
- les contrôles de la conception du procédé (ex : ordre des étapes pour l'opération de purification)
- les contrôles en cours de fabrication (IPC ou In-Process control, IPM ou In-Process Monitoring)
- les opérations de calibration pour la fiabilité des données enregistrées.

La stratégie de contrôle doit être justifiée et présentée dans le dossier de demande d'AMM. Elle inclut également les méthodes, la fréquence et les critères d'acceptation de chaque moyen de contrôle.

La stratégie de contrôle initiale est élaborée pendant le développement et améliorée lors des activités de transfert technologique, de transfert d'échelle et de production commerciale. Elle permet la vérification continue de la qualité du produit et la performance du procédé.

#### 9.4 Process Analytical Tool (PAT) [31]

Les Process Analytical Tools ou Technologies d'analyse de procédé sont des systèmes servant à concevoir, à analyser et à contrôler la fabrication, au moyen de mesures opportunes (par ex. pendant la fabrication) des attributs qualité critiques et de la performance des matières premières et des produits en cours de fabrication ainsi que des procédés, afin d'assurer la qualité du produit final.

Ils permettent notamment d'améliorer la compréhension du procédé et du produit. Ils peuvent être intégrés dans la stratégie de contrôle globale et être utilisés en remplacement des tests traditionnels. Leur objectif principal est de permettre un réajustement des paramètres procédé afin de maintenir les attributs qualité dans leur limite d'acceptation.

Voici quelques exemples :

<i>PAT Tool</i>	<i>Etape du procédé</i>	<i>Application</i>
Infra-rouge	Matières premières	Identification
Turbidité	Mélange	Détermination de la fin du mélange
pH, conductivité	Culture cellulaire	Suivi de l'opération

**Tableau 2: Exemples de PAT Tools**

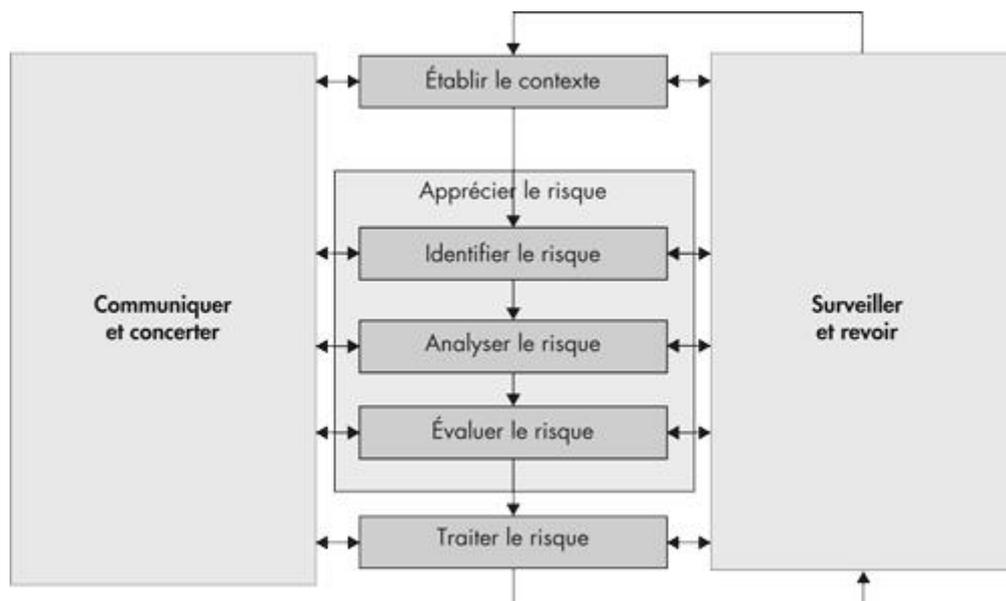
## 10. LA GESTION DU RISQUE [22, 25]

### 10.1 Principe

Le risque est défini comme étant la combinaison de la probabilité d'apparition d'un dommage et de sa gravité

Pour répondre à l'exigence réglementaire selon laquelle les procédés de fabrication doivent être « validés avec un degré d'assurance élevé », les autorités réglementaires considèrent maintenant qu'un programme d'analyse et de gestion du risque est un élément essentiel de la validation.

Le processus de management du risque est détaillé ci-après:



**Figure 5: Processus de management du risque**

L'appréciation du risque consiste en l'identification des dangers et l'analyse et l'évaluation des risques associés. A chaque étape du processus d'appréciation du risque correspond une question :

- « Quel est le danger ? » permettra d'identifier le risque.

- « Quelle est la probabilité du danger et quelles en sont les conséquences ? » permettra d'analyser le risque.
- « Quel est le risque ? » permettra d'évaluer le risque.

L'identification du risque repose en grande partie sur l'usage systématique des informations qui peuvent inclure des données historiques et des analyses théoriques.

L'analyse de risque correspond au processus qualitatif ou quantitatif qui permet de relier la probabilité d'apparition du danger à sa sévérité mais aussi à la capacité de détecter les dommages. Elle dépend en grande partie de la fiabilité des données et prend en compte les sources d'incertitude, la probabilité de détection des problèmes, la connaissance du processus, la connaissance des modes de défaillances des processus et la variabilité des processus. En général un critère qualitatif tel que « mineur, moyen, élevé ou critique » ou un score (critère quantitatif) permet d'indiquer le niveau du risque.

Enfin, l'évaluation du risque est réalisée. Le risque identifié et analysé est comparé à des critères de risque prédéfinis afin de déterminer si celui-ci doit être maîtrisé ou non et si oui, quelle est sa priorité dans le processus de gestion.

En ce qui concerne la maîtrise du risque, celle-ci peut se focaliser sur les questions suivantes :

- Le risque dépasse-t-il un niveau jugé acceptable ?
- Que peut-on faire pour diminuer ou éliminer les risques ?
- Quel est le juste équilibre entre les avantages, les risques et les ressources
- La maîtrise des risques identifiés génère-t-elle de nouveaux risques ?

En ce qui concerne la validation de procédé, l'évaluation des risques est réalisée à l'aide de données scientifiques solides qui comprennent les données recueillies sur les études menées à petite échelle et/ou à l'échelle pilote. Elles doivent renseigner sur toutes les variables possibles du procédé et leur impact sur la qualité, l'efficacité et la sécurité du produit final. L'évaluation des risques devrait être effectuée tout au long du cycle de vie du produit, de son développement à sa commercialisation. Elle est réalisée à des intervalles définis et appropriés, et lorsque des changements sont apportés au procédé de fabrication.

La glycosylation de protéines recombinantes, par exemple, peut être modifiée par différents facteurs tels que le métabolisme cellulaire et le procédé de culture cellulaire. Étant donné qu'une modification de la glycosylation peut avoir un effet significatif sur la pharmacocinétique, l'efficacité et l'immunogénicité du biomédicament, il est important d'évaluer les risques que peuvent engendrer une variation des paramètres opératoires du bioréacteur et leurs effets possibles sur la glycosylation du produit.

Les risques potentiels associés aux matières premières, aux équipements et aux procédés de fabrication font également partie de l'évaluation. Il est important de déterminer leur criticité et de mettre en place des méthodes visant à les éliminer, les atténuer ou les contrôler. Un programme de gestion du risque qualité permettra également de définir et d'hierarchiser les paramètres qui doivent être contrôlés au cours d'un procédé de fabrication.

## 10.2 Outils utilisés dans l'évaluation des risques

Plusieurs outils sont recommandés par la directive ICH Q9 pour réaliser les analyses de risques. On peut citer de façon non exhaustive :

- la FMEA (Failure Modes Effects Analysis) et la FMECA (Failure Modes Effects Criticality Analysis) qui comme leurs noms l'indiquent permettent d'identifier les défaillances potentielles d'un produit ou d'un procédé et d'évaluer les risques associés notamment en termes de niveau de criticité qui prend en compte la probabilité d'apparition de la défaillance, son niveau de gravité et les moyens mis en place pour la détecter. Un seuil de criticité est pré-défini par un groupe d'experts. Si celui-ci est atteint alors un plan d'actions correctives devra être mis en place afin de maîtriser les risques associés. Cette méthode permet, entre autres, d'identifier les paramètres critiques du procédé ou CPP.
- La HACCP ou Hazard Analysis Critical Control Point est une approche dont l'objectif est la prévention, l'élimination ou la réduction à un niveau acceptable du danger considéré. Cette méthode est généralement utilisée dans l'industrie agroalimentaire mais peut-être aussi appliquée dans l'industrie biopharmaceutique
- La classification du risque ou Risk Ranking est utilisée pour évaluer les attributs qualité du produit et déterminer ceux qui doivent être contrôlés en tant que CQA. Cette classification repose sur la potentialité qu'un attribut qualité puisse affecter le patient de façon négative, et sur le niveau de confiance dans les connaissances utilisées pour déterminer cet effet.

**PARTIE III : EXEMPLES D'APPROCHES ET DE  
STRATEGIES EMPLOYEES DANS LE CADRE DE  
LA VALIDATION D'ANTICORPS MONOCLONAUX**

## 11. DEFINITION DE LA STRATEGIE DE VALIDATION

### 11.1 Site Validation Master Plan

Le **Site Validation Master Plan** ou **Plan directeur de validation du site** est le document qui permet de décrire, dans un premier temps, la stratégie de qualification-validation suivie sur le site.

Celui-ci comprend au minimum :

- La politique de qualification et de validation
- La stratégie de qualification/validation du site
- La structure organisationnelle du personnel impliqué dans les activités de qualification/validation de l'entreprise (fonctions et responsabilités)
- Le récapitulatif des installations, des équipements, des systèmes et des procédés du site et leur statut de qualification/validation.
- La maîtrise des changements et la gestion des déviations
- Les recommandations pour la détermination des critères d'acceptation
- Les références aux documents existants

### 11.2 Validation Master Plan

Le **Validation Master Plan** ou **Plan directeur de validation** est le document qui permet de décrire la stratégie et l'approche de validation qui sera suivie pour un projet donné. Il reprend en général les différents points suivants :

- Le plan pour la phase 1 : caractérisation du procédé
- Description du procédé de fabrication et de la stratégie de contrôle
- Les fonctions et les responsabilités
- Le plan de la phase 2 : validation du procédé

- Stratégie de la validation y compris celle des études annexes (ex : préparation des milieux et des tampons)
  - Liste des équipements et installations qui seront utilisés
  - Liste des méthodes analytiques et de leur statut de validation
  - Le plan d'échantillonnage
  - Liste des protocoles de validation qui seront exécutés
- Le planning proposé pour l'ensemble du projet
  - Les procédures concernant la maîtrise des changements et les déviations
  - Le plan directeur pour la phase 3 : vérification en continue du procédé

## **12. L'APPROCHE « LIFE CYCLE » [24, 31]**

Comme il a été précédemment vu dans la partie II de cette thèse, les autorités de santé s'alignent sur le fait que la validation de procédé ne doit pas être considérée comme un évènement unique mais plutôt comme une activité qui est initiée dès la conception du produit et qui se poursuit tout au long de son cycle de vie. Cette partie traitera des différentes approches et stratégies qui peuvent être utilisées pour implémenter cette méthode de validation dans le cadre de la production d'une substance active. Elles s'appuient sur les concepts décrits dans les ICH Q7 à Q11.

## 12.1 Procédé de fabrication d'un anticorps monoclonal

Le schéma classique d'un procédé de fabrication d'un anticorps monoclonal en tant que substance active contient les différentes étapes suivantes :

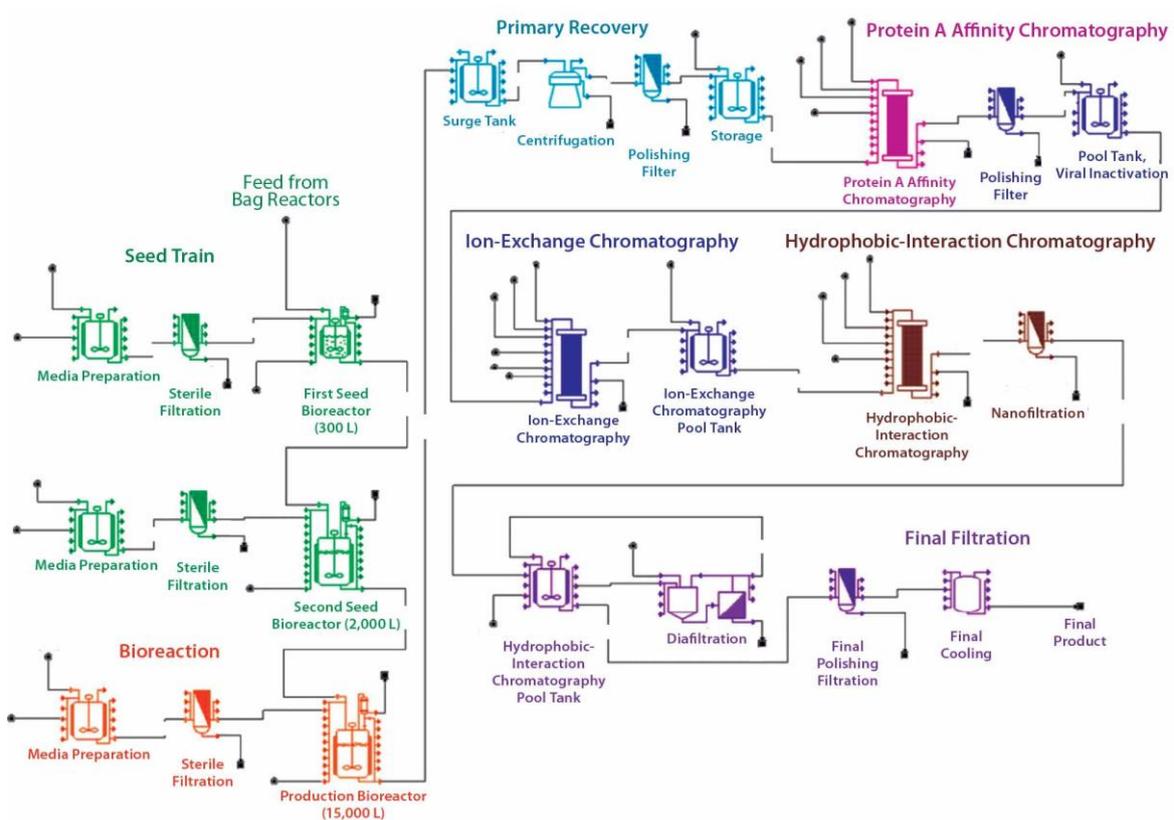


Figure 6: Exemple d'un procédé de fabrication d'un anticorps monoclonal [37]

Pour valider ce procédé à l'échelle finale, il a donc fallu passer par plusieurs phases qui sont décrites ci-après.

## 12.2 Phase 1 : Caractérisation du procédé

L'étape 1 s'applique aux nouveaux produits ou aux produits qui ont subi des changements significatifs (changement dans la technologie du procédé, addition ou suppression d'étapes dans le procédé, reformulation, etc.).

C'est une étape clé de la connaissance du procédé. Elle permet de développer la connaissance du procédé en mettant en évidence les impacts des variables d'entrée (ex : paramètres opératoires du procédé, matières) sur les données obtenues en sortie (ex : attributs qualité et performance du procédé).

Le résultat final des études de caractérisation serviront notamment à définir les gammes opératoires des paramètres du procédé qui seront utilisées pour les études de validation du procédé ainsi que les critères d'acceptation.

### 12.2.1 Quality target product profile

Le Profil cible de qualité du produit ou Quality target product profile (QTPP) est le premier élément à définir avant toute étude de développement. C'est « un résumé de caractéristiques auxquelles un médicament devra s'y conformer dans le but d'obtenir la qualité souhaitée » [29]. Le QTPP est donc le cahier des charges du médicament qu'on souhaite commercialiser. Voici un exemple de caractéristiques non exhaustives :

<i>Caractéristique</i>	<i>Cible</i>
Indication	Dermatite atopique
Forme posologique	Lyophilisation pour une solution injectable
Dosage par flacon	20 mg
Voie d'administration	Intraveineuse
Temps de reconstitution	≤1minute
Stabilité	Conservation pendant 4 ans à -20°C

**Tableau 3: Exemple de QTPP**

### 12.2.2 Attributs qualité critiques

Après l'établissement du QTTP, il est nécessaire de définir les attributs qualité critiques (CQA). Cette identification est réalisée à l'aide d'une évaluation des risques.

Les CQA sont définis comme « des propriétés ou caractéristiques physiques, chimiques, biologiques ou microbiologiques qui doivent être maintenues dans un intervalle ou une distribution approprié(e) pour assurer la qualité attendue du produit » [29]. Ils sont nommés « critiques » en raison de leur impact sur la sécurité du patient, l'efficacité, l'identité et la pureté du produit s'ils ne respectent pas les limites définies. Les CQA peuvent être rattachés à la substance active, au produit fini, au conditionnement, aux excipients et intermédiaires de production.

C'est sur l'identification des CQA que sera basée la conception du procédé et la stratégie de contrôle du produit. Le tableau ci-après montre des exemples d'attributs qualités critiques pour un produit fini

<i>Caractéristiques du QTTP</i>	<i>Attribut Qualité critiques</i>
Voie d'administration : intraveineuse	pH, endotoxine, bioburden (quantité de microorganismes), virus,...
Lyophilisation pour une solution injectable	dissolution
Stabilité	Identité, impuretés, concentration en anticorps monoclonal, efficacité

**Tableau 4: Exemples de CQA**

Les attributs qualités critiques de la substance active doivent également être identifiés. La qualité voulue de celle-ci doit tenir compte de son utilisation dans le produit fini ainsi que de ses différentes caractéristiques (physico-chimique, microbiologique, etc.) qui peuvent influencer la mise au point du produit pharmaceutique (ICH Q11). Par exemple, si une

substance active est stérilisée sur le site de fabrication du produit fini alors la stérilité de celui-ci dépendra du nombre de microorganismes présents dans la substance active. Par conséquent, le bioburden sera considéré comme attributs qualité critique pour la substance active.

### **12.2.3 Paramètre procédé critique et Attributs matière critiques**

Une fois que les CQA sont identifiés, les paramètres critiques du procédé (CPP) et les attributs matière critiques doivent être définis.

Un CPP est un « paramètre du procédé dont la variation dans le domaine analysé à un impact significatif sur au moins un attribut qualité critique. De ce fait le paramètre nécessite d'être contrôlé pour s'assurer que le procédé conduit bien au niveau de qualité attendu pour le produit » [29].

Un attribut matière critique est un CQA qui a été identifié pour une matière entrante, par exemple, un tampon utilisé dans la formulation de la substance active. Le CQA « endotoxines » peut être dans ce cas défini comme un attribut matière critique. En effet, la teneur finale en endotoxines dans la substance active doit être contrôlée pour supprimer le risque de pyrogénicité lié à l'administration du produit fini.

Les paramètres qui ont impact critique sur la performance du procédé sont également identifiés.

L'identification des paramètres et des attributs matières critiques est également réalisée à l'aide d'une évaluation des risques. A la fin de cette évaluation, tous les paramètres et attributs matière seront hiérarchisés en fonction de leur niveau de criticité.

### 12.2.4 Analyse de risque du procédé

Au cours de la phase 1, elle peut être réalisée en trois temps :

1) La première étape sera d'identifier les CQA potentiels pour la substance active :

<i>Attributs qualité</i>	<i>Niveau de risque</i>	<i>justification</i>
Endotoxines	Critique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La teneur en endotoxines dans le produit fini dépend de la substance active</li> <li>• Pyrogénicité si non contrôlées</li> <li>• Impact la sureté du patient</li> </ul>
Variants de glycosylation	Critique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le taux présent dans le produit fini dépend de la substance active</li> <li>• Modification de la demi-vie</li> <li>• Immunogénicité si non contrôlés</li> <li>• Impact la sureté du patient et l'efficacité du produit</li> </ul>
Agrégats	Critique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le taux présent dans le produit fini dépend de la substance active</li> <li>• Immunogénicité si non contrôlés</li> <li>• Impact la sureté du patient</li> </ul>
concentration	Critique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La concentration doit être suffisante pour obtenir celle requise dans le produit fini</li> <li>• Impact l'efficacité du produit</li> </ul>

**Tableau 5: Exemple de CQA pour la substance active [41]**

2) La deuxième étape sera d'identifier les éléments du procédé et de les classer selon leur impact sur l'identité, la sécurité, la concentration, la pureté et la qualité du produit. Le but sera de déterminer les paramètres procédés critiques qui seront étudiés à l'échelle du laboratoire et à l'échelle de la production.

On peut dresser dans un premier temps une liste des éléments du procédé qui ont un impact potentiel sur les attributs qualités critiques et les attributs de performance du procédé. Pour cela, on peut utiliser le diagramme d'Ishikawa.

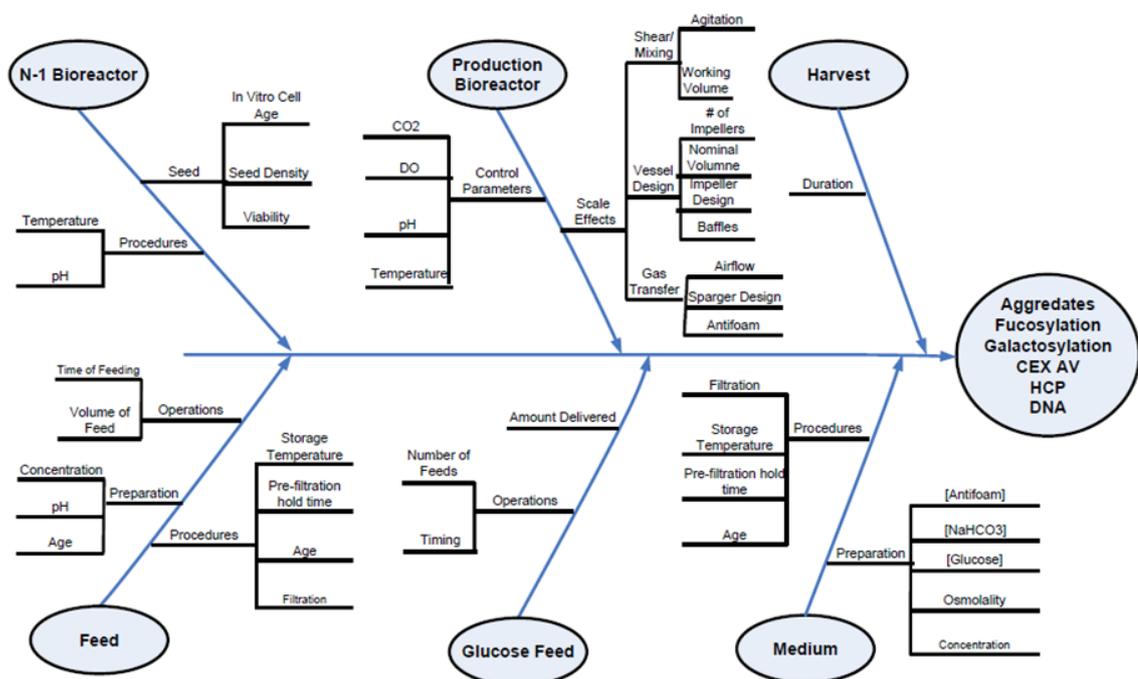


Figure 7: diagramme d'Ishikawa [26]

Le diagramme est ici utilisé pour identifier les éléments du procédé qui pourraient avoir un impact sur les CQA (agrégats, glycosylation, désamidation, ADN et protéines de la cellule hôte) et les attributs de performance du procédé (viabilité cellulaire, concentration en anticorps), lors des étapes « N-1 Bioréacteur » (ex. bioréacteur 20 L), « Production Bioreactor » (ex. Bioréacteur 100L) et « harvest » (récolte).

Ensuite on reprend, par exemple, la liste des paramètres identifiés pour l'étape « Production Bioreactor » et on effectue une analyse de risque :

<i>Paramètre procédé</i>	<i>Niveau de risque</i>	<i>Justification</i>
Température / pH	Critique	Avec l'expérience acquise sur des produits similaires, il a été montré que la température et le pH avaient un impact sur la viabilité cellulaire, la densité cellulaire, la définition du temps de culture cellulaire, la concentration en produit final, la consommation en glucose et la production d'ions lactate. Ils ont également des effets reconnus sur la majorité des CQA (la glycosylation, la teneur en protéines issues de la cellule hôte et la formation d'agrégats).
Oxygène dissous (DO)	moyen	Avec l'expérience acquise sur des produits similaires, il a été montré que lorsque la teneur en oxygène dissous est maintenue à une valeur minimale, celle-ci n'affecte pas la qualité du produit. De plus, il est possible d'utiliser de larges gammes opératoires sans affecter la qualité du produit.

**Tableau 6: Exemples de CPP identifiés par une analyse de risque [26]**

Dans cet exemple, ce seront donc la température et le pH qui seront étudiés.

- 3) La dernière étape a lieu à la fin de la phase : caractérisation du procédé. L'analyse de risque effectuée pour le classement des paramètres du procédé est revue au vu des résultats issus des différentes études menées. En effet, les connaissances acquises au cours de cette phase vont notamment permettre d'identifier les actions à mener pour diminuer le niveau de risque de certains paramètres qui ne seront plus - si les actions implémentées ont été efficaces- considérés comme critiques.

### **12.2.5 Etudes de caractérisation**

Les études de caractérisation permettent d'étudier les relations qui existent entre les variables d'entrées et les variables de sortie. Elles peuvent être réalisées en utilisant divers outils comme les plans d'expérience ou Design of Experiment (DOE) qui sont des outils statistiques.

Les données qui vont être générées vont permettre d'établir les plages de fonctionnement, pour chaque paramètre, qui seront utilisées pour la phase 2 : validation du procédé. Elles vont aussi confirmer ou non le niveau critique des paramètres procédés qui a été défini lors de l'évaluation des risques initiale et ainsi donner le classement de ces paramètres. Celui-ci sera réévalué tout au long du cycle de vie du produit en fonction des connaissances acquises et de la compréhension du procédé qui en résulte

#### *Qualification des modèles utilisés à petite échelle*

Les études de caractérisation sont réalisées à petite échelle, les modèles qui sont utilisés à cette échelle doivent alors être qualifiés. C'est-à-dire que les preuves qui démontrent qu'un modèle convient pour prédire l'impact des variables d'entrée sur les variables de sortie du procédé qui sera utilisé à l'échelle finale, sont documentées.

Une comparaison entre les résultats obtenus lors de la caractérisation du procédé et ceux générés à l'échelle finale est menée pour confirmer que les modèles utilisés à petite échelle ont bien été conçus. [42]

### *Détermination des Plages de fonctionnement admissibles*

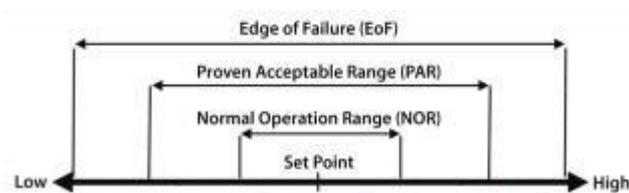
Une Plage de fonctionnement admissible ou Proven Acceptable Range (PAR) est définie comme étant une « Plage caractérisée d'un paramètre de procédé dans laquelle l'opération donnera lieu, tous autres paramètres constants, à la production d'une matière qui répond à des critères de qualité pertinents » [29].

Elles sont déterminées en étudiant l'impact que peuvent avoir certaines variations délibérées des paramètres opératoires (c'est-à-dire en dehors des limites de fonctionnement de routine) sur les attributs qualités et les performances du procédé.

Les paramètres qui seront soumis à ces variations sont ceux qui ont été identifiés, lors de l'analyse de risque, comme ayant un impact critique sur les attributs qualité et les performances du procédé.

Une fois les PAR définies, elles permettront d'établir les NOR ou Normal Operating range qui sont les limites opératoires de routine dans lesquelles les paramètres du procédé doivent être maintenus afin de fournir les attributs qualités et performances du procédé voulus.

Les PAR sont des plages de fonctionnement qui sont plus larges que les NOR :



**Figure 8: PAR et NOR [38]**

### *Espace de conception ou Design Space*

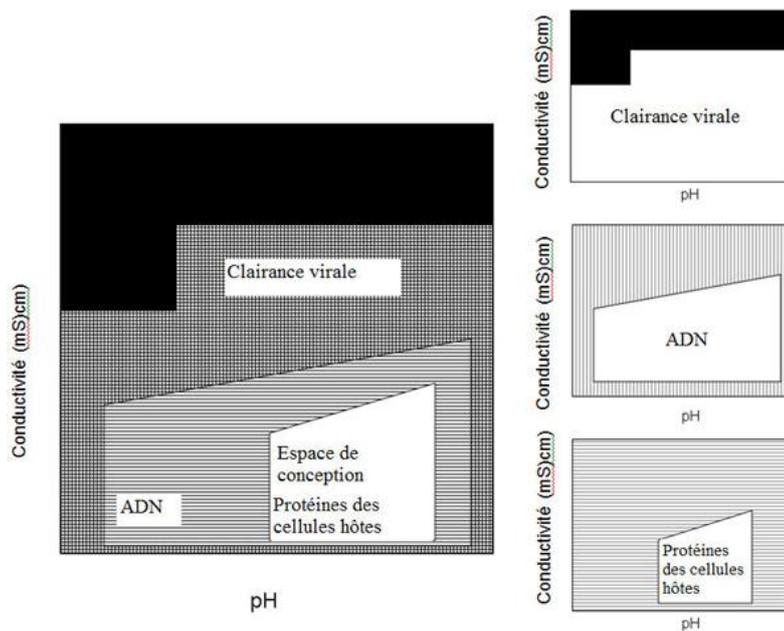
Une fois que les études de PAR ont été réalisées, un espace de conception peut être déterminé.

L'espace de conception est défini comme étant « la Combinaison et l'interaction multidimensionnelles de variables d'entrée (ex. : matières entrantes) et de paramètres de procédé qui permettent d'obtenir la qualité attendue ».

Voici un exemple pour mieux illustrer ce concept [30]:

Ici, l'espace de conception de l'opération unitaire de purification par chromatographie échangeuse d'anion dans le cadre de la fabrication d'un anticorps monoclonal est représenté.

C'est l'influence du pH et de la conductivité sur l'élimination des impuretés (ADN, virus, protéines de la cellule hôte) qui est d'abord étudié.



**Figure 9: Exemple d'un espace de conception**

L'espace de conception est ensuite obtenu à partir de la superposition des plages de fonctionnement du pH et de la conductivité (espace en blanc) qui ont permis l'élimination de ces impuretés. Les zones situées en dehors de ces plages de fonctionnement ne signifient pas forcément qu'une substance pharmaceutique de qualité inacceptable sera produite mais que des études n'ont tout simplement pas été menées dans ces zones. On

remarque que c'est la plage de fonctionnement pour les protéines issues de la cellule hôte qui est la plus restrictive, c'est donc celle-ci qui va conditionner l'établissement de l'espace de conception.

Cet espace pourrait être encore plus réduit si d'autres variables d'entrée ou attributs qualité critiques étaient pris en compte. C'est donc au fabricant de décider du nombre de variables d'entrées et d'attributs qualité critiques qu'il veut étudier. Ce choix repose en partie sur une évaluation des risques.

### **12.2.6 Stratégie de contrôle du procédé**

C'est l'aboutissement de cette étape de caractérisation du procédé.

Elle comprend le contrôle de toutes les opérations unitaires du procédé et se base sur les connaissances acquises lors du développement, les analyses de risques, les études de caractérisation et la production des lots cliniques.

Son objectif est d'atteindre le QTPP qui a été défini. Elle prend également en considération les éléments suivants :

- Le contrôle des matières premières
- Les spécifications libératoires de la substance active
- Les paramètres de procédé, les contrôles en cours de fabrication
- L'objectif de chaque opération unitaire (ex : élimination des impuretés)

### **12.2.7 Livrables**

La liste non exhaustive des livrables générés pour cette étape sont :

- La définition des CQA des intermédiaires de fabrication et du produit final, et des limites et spécifications associées
- La Définition des paramètres procédés, de leur cible et leurs limites associées,

- La classification des paramètres et définition de leur impact sur les CQA et les performances du procédé
- Définition des tests et spécifications sur les matières premières et évaluation de l'impact de leur variabilité sur le procédé.
- Analyse de risque et contrôle stratégie

Ces livrables sont ensuite compilés dans des rapports de développement qui constituent le point d'entrée pour la phase 2 de validation du procédé. Le but étant de compiler l'ensemble des données sur le procédé depuis les premières études laboratoires jusqu'aux études menées pour pouvoir fabriquer à l'échelle industrielle.

## **12.3 Phase 2 : Validation du Procédé**

L'objectif de la validation du procédé est d'évaluer le procédé, qui a été conçu lors de la phase 1.

C'est l'ensemble de toutes les études de validation (études annexes et procédé de fabrication) qui permet de valider la production de l'anticorps monoclonal. Un protocole de validation et un rapport de validation doivent être rédigés pour chaque étude.

### **12.3.1 Prérequis [17]**

Pour débiter la phase 2, les prérequis suivants (liste non exhaustive) doivent être remplis :

- Les fournisseurs de matières premières et de consommables critiques doivent être qualifiés avant la fabrication des lots de validation.
- Les matières premières utilisées lors du procédé de fabrication doivent être testées et être conformes à leurs spécifications.
- La validation des méthodes analytiques
- La validation des procédures de nettoyage ou à défaut, conformité des procédures de nettoyage avant le début de la production
- Les procédures de stérilisation et de sanitisation en place doivent être validées.
- Tous les équipements, les utilités, les systèmes ainsi que les installations qui interviennent lors de la production doivent être qualifiés.
- Tous les opérateurs impliqués dans la validation doivent être formés et qualifiés
- Toute la documentation impliquée dans la validation de procédé (dossier de lots, instruction, protocoles, etc.) est approuvée.

La liste exhaustive des prérequis à remplir est documentée.

### 12.3.2 Protocole et rapport [19, 31]

**Le protocole de validation** décrit l'approche à suivre pour chaque exercice de validation.

Il comprend de manière non exhaustive :

- L'objectif de l'exercice de validation ainsi que la stratégie appliquée
- Les responsabilités
- La description du procédé
- Les références de la documentation utilisée pour la validation (ex : feuilles de données brutes, réf au Validation Master Plan, description de procédé, etc.)
- La liste des attributs qualité et/ou paramètres procédés qui sont évalués, leur classification ainsi que leurs limites
- Les critères d'acceptation pour valider l'exercice de validation incluant :
  - Les prérequis à remplir : validation des méthodes analytiques, qualification des équipements, etc.
  - Les attributs/paramètres dont la conformité à leurs limites préétablies est obligatoire
  - Toute autre condition nécessaire à la validation de l'exercice
- Le plan d'échantillonnage et les méthodes analytiques
- Les études de stabilité s'il y'a lieu
- La gestion de la maîtrise des changements et des déviations
- Conclusion : un résumé sur ce que contiendra le rapport de validation

**Le rapport de validation** comprend de manière non exhaustive :

- Introduction/résumé sur le déroulement de l'exercice
- Les résultats obtenus (paramètres évalués, leur classification ainsi que leurs limites)

- Les critères d'acceptation : vérification de leur conformité selon ce qui a été défini dans le protocole
- Les déviations et les changements qui ont eu lieu pendant l'exercice
- La conformité des études de stabilité réalisées si cela a été le cas
- Conclusion sur le statut de la validation

### **12.3.3 Les études de qualification de la performance du procédé**

Au cours des études de qualification de la performance du procédé ou études PPQ, la consistance de la performance du procédé est évaluée. En effet, les données obtenues doivent démontrer que le procédé est répétable d'un lot à un autre tout en respectant les limites établies pour chaque attribut qualité et paramètre du procédé. Elles visent également à prouver que le procédé permet d'éliminer les impuretés, qu'il permet de garantir la sécurité virale, ceci en respectant les limites d'acceptation définies. Concernant la production d'une substance active, celle-ci devra être conforme à sa spécification. Ces études sont réalisées sur au moins 3 lots successifs qui doivent être conformes aux critères d'acceptation énoncés dans le protocole de validation.

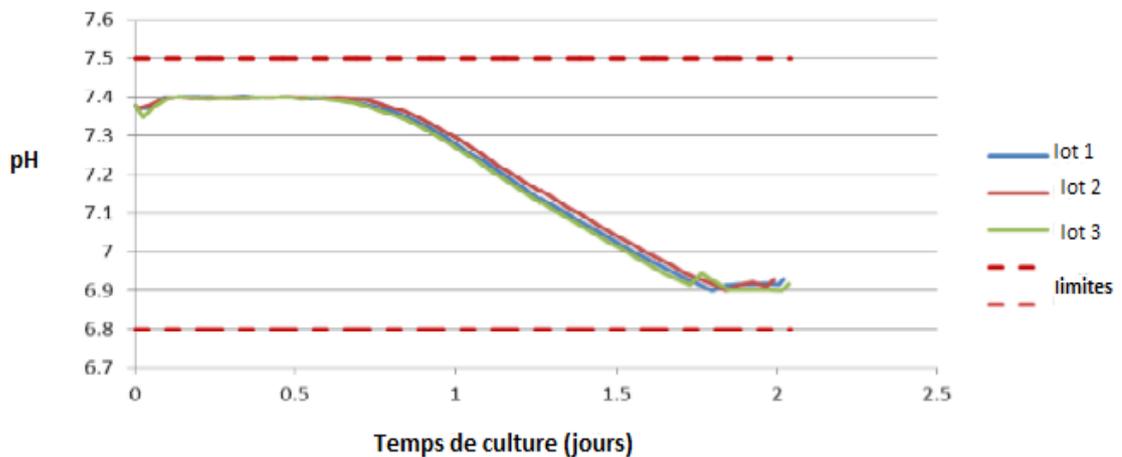
La pertinence de la stratégie de contrôle qui a été définie au cours de la phase 1 est également validée.

Le tableau suivant répertorie quelques exemples de paramètres et d'attributs qualité qui peuvent être évalués au cours des études PPQ.

<i>Etape du procédé</i>	<i>Paramètres Procédé/ Attributs qualité</i>
Bioréacteur 2000L	Temps d'expansion (h) Densité cellulaire 1 jour après l'ensemencement ( $10^5$ cellules/ml) Viabilité cellulaire 1 jour après l'ensemencement (%) Densité cellulaire finale ( $10^5$ cellules/ml) Viabilité cellulaire finale (%)
Chromatographie par échange d'ions	Chargement de la résine (g/l) Quantité de protéine dans le pool de chromatographie (g) Rendement de l'étape (%) Teneur en ADN de la cellule hôte (pg/mg)

**Tableau 7: Exemples d'attributs qualité et paramètres procédé**

La figure ci-dessous représente le suivi du pH en fonction du temps de culture à l'étape du bioréacteur 2000 L pour les 3 lots fabriqués au cours des études PPQ. Les courbes de chaque lot sont superposables, si cette étape n'était basée que sur l'évaluation du pH alors le procédé aurait été défini comme répétable car les données obtenues sont similaires d'un produit à un autre. De plus elles respectent leurs limites d'acceptation. C'est en effet l'ensemble des courbes pour des paramètres et des attributs qualités donnés qui vont permettre de juger de la répétabilité du procédé.



**Figure 10: Suivi du pH en fonction du temps de culture**

### **12.3.4 Stabilité des lignées cellulaires**

Des études vont être menées à l'échelle du laboratoire afin de fixer une cible à atteindre pour le temps total de culture cellulaire (de la décongélation de la Working Cell Bank jusqu'au début de la récolte) qui sera utilisé en production de routine.

La détermination de ce temps sera basée sur l'évaluation de la stabilité génétique, de la sécurité virale et microbienne du substrat cellulaire selon les directives de l'ICH Q5D.

La séquence codante pour la protéine doit être intègre et l'ADN entier du plasmide, séquencé. En ce qui concerne les virus, ceux qui sont recherchés sont ceux qui sont le plus susceptible de contaminer le substrat cellulaire, cela peut être des virus endogènes ou des virus adventices.

Par exemple, les cellules CHO sont des cellules murines. Elles peuvent donc être contaminées par des virus murins comme le Minute Mouse Virus ou le Lymphocyte Choriomeningitis Virus qui seront, parmi d'autres virus, recherchés.

Concernant la détection d'autres agents adventices on pourra rechercher la présence de mycoplasmes et réaliser des tests de bioburden (dénombrement des micro-organismes).

Une fois que le temps est défini celui-ci sera validé lors de la production d'un lot à l'échelle finale. Les mêmes tests de stabilité génétique et de sécurité virale et microbienne seront réalisés sur des cellules prélevées en fin de production qui constitueront les banques cellulaires de fin de production (EOP). Les résultats obtenus devront être conformes à leurs critères d'acceptation.

### 12.3.5 Validation des temps de production Holding time [20, 43]

Les intermédiaires de production de la phase downstream (pool de récolte et pools de chromatographie) nécessitent parfois d'être maintenus dans leur cuve avant de pouvoir passer à l'étape de production suivante (ex changement du personnel, problèmes d'équipement,). Ce temps de maintien doit être validé et garantir la stabilité de l'intermédiaire concerné.

Les études menées à l'échelle du laboratoire vont permettre d'évaluer la stabilité de chaque intermédiaire et de fixer le temps qui sera validé à l'échelle finale.

Pour cela les attributs qualité sont évalués à T0 (temps défini par le fabricant) et à la fin de la période de maintien (ex. après 1h), sur au moins 3 lots successifs. Si les résultats obtenus sont conformes aux critères d'acceptation définis dans le protocole de validation alors le temps étudié (dans notre cas 1h) sera validé.

<i>Etape</i>	<i>Attribut qualité</i>
Pool de chromatographie d'interaction hydrophobe	Endotoxines
	Bioburden
	pH
	Agrégats

**Tableau 8:Exemples d'attributs qualité (Holding times)**

### 12.3.6 Validation de la préparation et du stockage des milieux et des tampons

L'objectif de cette validation est de démontrer que la préparation délivre constamment des tampons et des milieux qui sont conformes à leurs attributs qualités microbiologiques et physico-chimiques définis dans le protocole de validation.

<i>Procédé</i>	<i>Attributs qualité /paramètres</i>
Validation de la préparation d'un tampon	Conductivité pH Vitesse d'agitation Durée d'agitation Bioburden, endotoxines
Validation du stockage d'un tampon	pH Conductivité Bioburden, Endotoxines Apparence de la solution

**Tableau 9: Exemples d'attributs qualité/paramètres (validation milieux/tampons)**

Le temps de stockage qui doit être validé à l'échelle commerciale est déterminé lors d'études réalisées à l'échelle du laboratoire. C'est le temps au cours duquel il a été démontré sur 3 lots successifs que la stabilité physico-chimique et microbiologique des solutions préparées est maintenue.

### 12.3.7 Validation de la durée de vie des résines de chromatographie et des cassettes de filtration tangentielle

Au cours de leur utilisation, la performance des résines de chromatographie et des membranes de filtration va diminuer, il est donc nécessaire d'établir le nombre maximal de cycles d'utilisation pour lequel il n'y aura pas d'impact sur la qualité de l'anticorps produit. Ceci est réalisé à l'échelle du laboratoire. Ces études prennent également en compte l'aspect nettoyage/sanitisation/stockage car ils ont une influence sur la durée de vie des résines et des membranes en raison des solutions qui sont utilisées. Le tableau suivant montre des exemples de critères de performance qui peuvent être étudiés pour définir le nombre de cycles.

<i>Elément</i>	<i>Critères Etudiés</i>
Résine de chromatographie d'affinité (ligand : protéine A) Nombres de cycles déterminés : 110 cycles	Capacité de liaison de l'anticorps à la résine (Dynamic Capacity Binding) Quantité d'impuretés dans l'éluat (protéines et ADN de la cellule hôte,...) Rendement de l'anticorps monoclonal Quantité de protéine A dans l'éluat Hauteur des plateaux théoriques (HEPT) Qualité de l'anticorps (agrégats, glycosylation, etc.)
Membranes des cassettes de filtration tangentielle	Teneur en endotoxines, bioburden dans le rétentat Pourcentage de perméabilité à l'eau Rendement de l'anticorps monoclonal Intégrité de la membrane Qualité de l'anticorps

**Tableau 10: Exemples de critères étudiés (durée de vie résine/cassettes TFF) [44]**

Ce nombre maximal d'utilisation est validé à l'échelle finale.

Exemple :

Si un lot d'anticorps nécessite 10 cycles pour être purifié à l'étape de la chromatographie d'affinité alors les critères étudiés à l'échelle du laboratoire seront évalués tous les 10 cycles jusqu'à atteindre les 110 cycles. Si les variables étudiées sont conformes à leurs critères d'acceptation, et ce, pour chaque évaluation alors les 110 cycles seront validés.

### **12.3.8 Validation du nettoyage/sanitisation et du stockage des résines de chromatographie et des cassettes de filtration tangentielle**

Une fois que les résines et les membranes des cassettes de filtration tangentielle sont utilisées celles-ci sont nettoyées et stockées. Cette validation est réalisée à l'échelle commerciale.

Le but de la sanitisation/ nettoyage est de démontrer que les procédures utilisées permettent de maîtriser le risque de contamination croisée sur le prochain lot qui sera fabriqué.

La validation du stockage des résines et des cassettes de filtration tangentielle doit apporter la preuve que le stockage est efficace et permet de maintenir l'état sanitisé/nettoyé des résines et des cassettes durant un temps de stockage défini.

Les paramètres/ attributs évalués doivent être conformes à leurs limites d'acceptation définies dans le protocole de validation.

Des exemples de paramètres/attributs évalués figurent dans le tableau suivant :

<i>Etape</i>	<i>Paramètre/ attribut qualité</i>
Sanitisation/Nettoyage : Chromatographie d'interaction hydrophobe	Bioburden
	Endotoxines
	Teneur en Carbone organique (TOC)
	Exécution de la procédure de Sanitisation/nettoyage

**Tableau 11: Exemples de paramètres/attributs qualité (Sanitisation/stockage HIC)**

Pour valider le temps de stockage, on évaluera les mêmes paramètres après un temps déterminé, par exemple 200h, sur 3 lots successifs. Si ceux-ci sont conformes à leurs critères d'acceptation alors c'est le temps de stockage de 200h qui sera utilisé en production de routine.

### **12.3.9 Elimination des impuretés liées au procédé et au produit**

Les impuretés peuvent provenir de différentes sources qui sont :

- les matières premières
- Le procédé
- Les produits de dégradation de l'anticorps fabriqué

Elles sont identifiées lors des études réalisées à petite échelle.

Les études réalisées à l'échelle finale doivent confirmer leur élimination. En effet, Ces impuretés doivent être conformes à leurs critères d'acceptation.

Exemples d'impuretés liées au procédé et au produit :

<i>Impuretés</i>	<i>origine</i>
ADN de la cellule hôte	Etape de la culture cellulaire
Protéine de la cellule hôte	Etape de la culture cellulaire
Protéine A	Etape de la chromatographie d'affinité (procédé)
DMSO	Cryo-protecteur utilisé pour le stockage des banques cellulaires
Agrégats	Anticorps monoclonal
Formes tronquées	Anticorps monoclonal

**Tableau 12: Exemple d'impuretés liées au procédé et au produit**

#### 12.3.10 Etudes de clairance virale

Si le procédé comporte des étapes spécifiques destinées à éliminer ou inactiver les virus, cette capacité du procédé à éliminer ou inactiver les virus doit être démontrée.

Pour ce faire des études de validation sont réalisées.

Dans la mesure où le travail consiste à surcharger des virus modèles dans le produit (spiking) et d'en vérifier l'élimination au cours d'étapes du procédé spécifiques (exemple : filtration virale), ces validations ne sont pas effectuées dans les équipements ni les locaux de production car elles risquent de les contaminer. Elles sont donc réalisées à échelle réduite. La représentativité du procédé industriel doit alors être démontrée et documentée.

Exemple de la filtration virale :

Afin de démontrer la capacité d'élimination du virus pour un filtre donné (il existe de nombreux fournisseurs), on va introduire délibérément une quantité de virus connue dans la source d'alimentation. Après passage du fluide à travers la membrane de filtration, la

quantité de virus recueillie dans le filtrat est mesurée. On va alors pouvoir calculer la quantité de virus éliminée, qui est aussi appelée LRV ou Log Reduction Values (exprimée en  $\text{Log}_{10}$ ).

La clairance virale dépend aussi des conditions opératoires de l'opération de filtration. Le fabricant va donc définir les conditions qui lui permettent d'obtenir la LRV et la qualité du produit souhaité et les valider. Elles devront alors être respectées lors de la production des lots de validation à l'échelle finale.

<i>Etape</i>	<i>Paramètres suivis</i>
Filtration virale	Pression Transmembranaire minimale
	Pression Transmembranaire maximale
	Chargement du filtre
	Intégrité du filtre après utilisation

**Tableau 13: Exemples de paramètres suivis (Filtration virale)**

Ces études sont réalisées à minima sur des Parvovirus (18-24 nm de diamètre), et des rétrovirus (80-10 nm). [45]

### **12.3.11 Les extractibles et les relargables [40]**

Un extractible est une entité chimique, à la fois organique et inorganique, qui est extraite à partir d'un composant d'un système dans des conditions généralement extrêmes telles qu'une température élevée, une pression, voire des cycles de stérilisation multiples.

Les relargables, sont des entités chimiques à la fois organiques et inorganiques qui migrent naturellement des composants d'un système, au cours de son cycle de vie, vers le principe actif contenu dans le dit système. Ils peuvent parfois être retrouvés dans le produit final, généralement à l'état de traces par rapport à la substance active.

Les extractibles et les relargables liés aux systèmes qui entrent en contact avec le produit sont évalués et documentés selon les bonnes pratiques de fabrication. On peut citer comme exemples de systèmes : les cuves, les bioréacteurs, les connecteurs, les filtres, les résines de chromatographie, les poches, etc.

Une analyse de risque doit être menée afin d'évaluer le niveau de risque lié à la possibilité de retrouver des extractibles et des relargables dans les produits. Si nécessaire, des études seront réalisées afin d'étudier l'impact sur la qualité du produit.

### 12.3.12 Validation du transport

Le transport doit préserver la qualité du produit fabriqué. Le but est de vérifier et valider les exigences nécessaires au transport. Lorsque la substance active est transportée de son site de fabrication vers celui du produit fini les tests et contrôles qui sont réalisés pour valider son transport incluent notamment la configuration de l'emballage, le maintien de la température de stockage, des tests physiques, des contrôles de l'emballage et comprennent également les tests libératoires de la substance active.

<b>Etape</b>	<b>Test</b>
Transport	Intégrité physique du conditionnement primaire
	Distance parcourue
	Température du camion
	pH de la substance active
	Concentration totale de l'anticorps monoclonal

**Tableau 14: Exemples tests (transport)**

## **12.4 Phase 3 : Vérification continue du procédé**

Cette phase permet de s'assurer que le procédé reste sous contrôle lors de la production commerciale. Elle est constituée de deux sous-catégories :

- Phase 3A : Vérification initiale du procédé
- Phase 3B : Vérification en cours du procédé

### **12.4.1 Phase 3A : Vérification initiale du procédé**

La phase 3A est destinée aux nouveaux produits ou aux produits dont la connaissance du procédé est limitée.

Il s'agit de collecter et d'analyser les données sur le produit et le procédé jusqu'à ce qu'un nombre suffisant de données soit disponible (ex. 10 points de données). En général, ce sont les paramètres et attributs qualité qui permettent de garantir que le procédé est contrôlé qui sont utilisés (ex : CQA, CPP).

Les données collectées permettent de détecter les tendances pertinentes du procédé et d'évaluer la qualité des matières et composants entrants, des matières en cours de fabrication, et des produits finis.

### **12.4.2 Etape 3B : Vérification en cours du procédé**

La vérification continue des procédés s'inscrit dans le cadre de la nouvelle approche de validation définie par la FDA dans le guidance for Industry « Process validation » d'une part et dans l'Annexe 15 des Bonnes Pratiques de Fabrication d'autre part. Elle vise à :

- Mesurer et évaluer la performance du procédé (maintien en état validé), à l'aide d'outils statistiques appropriés (Suivi des tendances et Capabilité essentiellement)
- Permettre la détection et la remédiation de dérives du procédé de façon proactive
- Favoriser le développement et le partage de la connaissance des produits et procédés

- Identifier les axes d'amélioration du procédé.

Ce suivi est effectué via la mise en place d'un processus de suivi des paramètres et attributs préalablement identifiés comme impactant la qualité ou la performance du procédé, et ceci à l'aide d'outils tels que le suivi des tendances, les calculs de capabilité.

Le suivi des tendances est un outil statistique qui permet de déterminer si un procédé est stable et maîtrisé. Il permet aussi de détecter les variations au sein du procédé.

La capabilité d'un processus permet de déterminer la robustesse d'un procédé, elle reflète sa capacité à respecter des spécifications, à atteindre en permanence le niveau de qualité souhaité.

## CONCLUSION

L'approche QbD est aujourd'hui de plus en plus utilisée par de nombreux fabricants car elle permet plus de flexibilité si des changements post-approbation dans le dossier d'AMM sont nécessaires. La définition d'un espace de conception permet d'effectuer des changements au niveau de la plage de fonctionnement des paramètres de procédé et ceci sans apporter de modification au dossier de soumission initial tant qu'ils restent à l'intérieur de cet espace. Au cours de la vie du produit et du procédé, des changements (par exemple, changement de matières premières ou de fournisseurs) peuvent s'opérer engendrant ainsi certaines variations au niveau du procédé pouvant potentiellement impacter la qualité du produit. Grâce à l'espace de conception qui a été établi, le fabricant dispose d'une plus large main d'œuvre et pourra alors réadapter le pilotage de son procédé sans avoir le sentiment de le subir. Par cette approche, le produit et le procédé sont développés de manière plus approfondie et sont mieux compris, ce qui génère plus de confiance de la part des autorités de santé envers les industriels.

Dans le cadre de la fabrication de biomédicaments, une validation de procédé qui est basée sur cette approche permettra donc de mieux contrôler les différentes sources de variabilité qui sont beaucoup plus importantes que pour la production d'un médicament issu de synthèse chimique. Ainsi les opérations de production s'en retrouvent mieux maîtrisées et la qualité du produit assurée.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Génopole. « Les Biotechnologies - Le développement des biotechnologies : quelques repères historiques ». Consulté le 3 mai 2017. <http://www.genopole.fr/IMG/pdf/reperes-dev-biotechnologie.pdf>.
- [2] LEEM. « Les Biotechnologies au cœur de l'innovation ». Consulté le 3 Mai 2017. <http://www.leem.org/les-biotechnologies-au-coeur-de-linnovation>.
- [3] KINCH, MICHAEL S. « An Overview of FDA-Approved Biologics Medicines ». *Drug Discovery Today* 20, n° 4 (Avril 2015): 393-98.
- [4] Genzyme. *Biopharmaceutical manufacturing is inherently complex*. Consulté le 3 mars 2017. [https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/732485/000110465910030452/a10-9595\\_14defa14a.htm](https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/732485/000110465910030452/a10-9595_14defa14a.htm).
- [5] LATIEULE, Sylvie. « Culture cellulaire : Trois étapes clés pour produire des protéines thérapeutiques », 4 Janvier 2011. <http://www.industrie.com/pharma/culture-cellulaire-trois-etapes-cles-pour-produire-des-proteines-therapeutiques,39248>.
- [6] MARC, Annie, et OLMOS Éric. « Procédés de culture en masse de cellules animales », *Techniques de l'ingénieur*, 11 Octobre 2010.
- [7] WURM, Florian M. « Production of recombinant protein therapeutics in cultivated mammalian cells ». *Nature Biotechnology* 22, n° 11 (Novembre 2004): 1393-98.
- [8] Bionique Testing Laboratories. *Creating a certified working cell bank for important cell lines in your research program*. Consulté le 26 mars 2017. <http://www.bionique.com/mycoplasma-resources/technical-articles/certified-working-cell-bank.html>.
- [9] GRUGIER, Jérôme, et Bertrand GATEFIN. « La filtration tangentielle en Bioproduction ». *La Vague*, avril 2014.

- [10] Chimie Pharma Hebdo. « De la difficulté de formuler les bioproduits », 1 décembre 2009.  
<http://www.industrie.com/chimie/de-la-difficulte-de-formuler-les-bioproduits,25114>.
- [11] SINCLAIR, ANGUS M., et STEVE Elliott. « Glycoengineering: The Effect of Glycosylation on the Properties of Therapeutic Proteins ». *Journal of Pharmaceutical Sciences* 94, n° 8 (Août 2005): 1626-35.
- [12] ICH, International Conference of Harmonisation. « Harmonised Tripartite Guideline Q5D : Derivation and Characterisation of Cell Substrates used for Production of Biotechnological/Biological Products. », 16 Juillet 1997.
- [13] WONG, Kum Cheun. « Points to consider - Biotherapeutics vs Small Molecule Medicines ». Septembre 2013. <https://www.slideshare.net/IFPMA/ifpma-points-to-consider-biotherapeutics-vs-small-molecule-medicines-wong-kc>.
- [14] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q10: Pharmaceutical Quality system », 6 Avril 2008.
- [15] ICH, International Conference of Harmonisation. Consulté le 3 Mars 2017.  
<http://www.ich.org/home.html>.
- [16] ICH, International Conference of Harmonisation. « Harmonised Tripartite Guideline Q7 : Good Manufacturing Practice guide for Active Pharmaceutical Ingredients », Novembre 2000.
- [17] ANSM, *Les Bonnes Pratiques de Fabrication*. N° 2015/12 bis, 2016.
- [18] EMA, European Medicines Agency, Qualification and Validation, Eudralex volume 4 : EU guidelines to Good Manufacturing Practices § Annex 15 (2015).
- [19] ANSM, Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. « Bonnes Pratiques de Fabrication - Annexe 15 : Qualification et validation », janvier 2017.

- [20] EMA, European Medicines Agency. « Guideline on Process validation for the manufacture of biotechnology-derived active substances and data to be provided in the regulatory submission », 11 janvier 2016.
- [21] EMA, European Medicines Agency, « Guideline on process validation for finished products », 11 Octobre 2016.
- [22] CASTILLO, Frank, Brendan COONEY, et Howard LEVINE. « Biopharmaceutical Manufacturing Process Validation and Quality Risk Management ». *Pharmaceutical Engineering*, juin 2016.
- [23] FDA, Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, 21CFR211.180 : Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals § (2010).
- [24] FDA, « Guidance For Industry - Process Validation : General Principles and Practices », janvier 2011.
- [25] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q9 : Quality Risk Management », 11 Septembre 2005.
- [26] CMC Biotech Working Group. « A-Mab : a case study in bioprocess development », Octobre 2009. <https://www.ispe.org/pqli/a-mab-case-study-version-2.1>.
- [27] PIC/S, Pharmaceutical Inspection Convention/ Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme. « Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, Non-Sterile process validation, Cleaning Validation », Septembre 2007.
- [28] Guide de l'ultra propreté. *Méthodologies de développement de projet en industrie pharmaceutique dans une optique de cycle de vie*. Consulté le 20 mars 2017. <http://www.ultraproprete.com/dossiers-techniques/organisation-et-methodes/methodologie-de-developpement-de-projet-en-industrie-pharmaceutique-dans-une-optique-de-cycle-de-vie.html>.

- [29] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q8(R2): Pharmaceutical Development », Août 2009.
- [30] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q11 : Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities) », Mai 2012.
- [31] PDA, Parenteral Drug Association. *Process Validation, a life cycle approach*. Technical Report 60, 2013.
- [32] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline: Q5A: Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products derived from Cell Lines of Human or Animal Origin », 23 Septembre 1999.
- [33] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q5B - Quality of biotechnological products: analysis of the expression construct in cells used for production of r-DNA derived protein products », 30 Novembre 2015.
- [34] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q5C - Quality of biotechnological products: stability testing of biotechnological/biological products », 30 Novembre 1995.
- [35] ICH, International Conference of Harmonisation « Harmonised Tripartite Guideline Q6B - Specifications: test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products », 3 Octobre 1999.
- [36] Société AKTEHOM. « La “control strategy”, version ICH, pour une flexibilité réglementaire ». Industrie Pharma, décembre 2011. <http://www.industrie.com/pharma/la-control-strategy-version-ich-pour-une-flexibilite-reglementaire,41471>.
- [37] VAJDA, Judith, Matthias FRANZREB, et Egbert MULLER. « Cost Estimation for Protein A Chromatography: An In Silico Approach to MAb Purification Strategy ». *BioProcess International*, Octobre 2014.

- [38] SHIMONI, Yuval, Chetan GOUDAR, Marc JENNE, et Venkatesh SRINIVASAN. « Qualification of Scale-Down Bioreactors: Validation of Process Changes in Commercial Production of Animal-Cell-Derived Products, Part 1 — Concept ». *BioProcess International*, Mai 2014.
- [39] VORA, Khushboo, et Jignesh SHAH. « Annual Product Quality Review : Regulatory aspect ». *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 2015.
- [40] Holland applied technologies. « Leachable vs. Extractable- What are they, what's the difference, and why are they a hot-button topic in single use processes today », juin 2014. <https://hollandaptblog.com/2014/06/30/leachable-vs-extractable-what-are-they-whats-the-difference-and-why-are-they-a-hot-button-topic-in-single-use-processes-today/>.
- [41] PONCIN, Alain. « Quality by Design : statistics and Modelisation in Pharmaceutical Development ». Consulté le 5 Mai 2017. (<https://www.slideshare.net/AlainPoncin/statistics-and-modelisation-for-qbd>).
- [42] EMA Expert Workshop on Validation of Manufacturing for Biological Medicinal Products. « Scale down models for Cell Culture ». Consulté le 6 mai 2017. ([http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Presentation/2013/04/WC500142339.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2013/04/WC500142339.pdf)).
- [43] IVT Network. « Assessing Process Hold Times for Microbial Risks: Bioburden and Endotoxin », septembre 2015. [www.ivtnetwork.com](http://www.ivtnetwork.com). Consulté le 6 mai 2017.
- [44] RATHORE, Anurag, Mili PATHAK, Guijun MA, et Daniel BRACEWELL. « Re-use of Protein A Resin: Fouling and Economics ». Biopharm International. Consulté le 7 mai 2017. <http://www.biopharminternational.com/re-use-protein-resin-fouling-and-economics>.
- [45] KERN, Gerd, et Mani KRISHNAN. « Virus Removal by Filtration: Points to Consider ». Biopharm International. Consulté le 7 mai 2017. <http://www.biopharminternational.com/virus-removal-filtration-points-consider?pageID=1>.

[46] Les Echos. « Le marché des biothérapies en plein boom ». Consulté le 1 mai 2017.

<https://investir.lesechos.fr/dossiers/en-plein-boom-le-marche-des-biotherapies-dessine-l-avenir-de-la-pharmacie/en-plein-boom-le-marche-des-biotherapies-dessine-l-avenir-de-la-pharmacie-1523981.php>.

[47] SOFRIGAM. « Le Boom des médicaments biologiques ». Consulté le 1 mai 2017.

<http://www.sofrigam.fr/boom-medicaments-biologiques>.

## **SERMENT DE GALIEN**

Je jure d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma Profession.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois méprisé de mes Confrères si je manque à mes engagements.



## **BACCOUCHI Sonia**

***Validation du procédé de fabrication des biomédicaments : quelles sont les exigences réglementaires et les recommandations ? Exemples d'approches et de stratégies employées dans le cadre de la production d'anticorps monoclonaux.***

Th. D. Pharm., Rouen, 2017, 82p

---

### **RESUME**

Les Bonnes Pratiques de Fabrication ou Good Manufacturing Practices constituent un référentiel réglementaire opposable lors des inspections des établissements pharmaceutiques par les autorités de santé afin de s'assurer que la fabrication du médicament est maîtrisée et réalisée dans les normes de qualité requise. C'est notamment grâce à une bonne gestion qualité, dans laquelle est incluse la validation des procédés de fabrication, que ces objectifs sont réalisés.

Mais qu'est-ce que la validation de procédé ?

La validation d'un procédé correspond à la collecte et à l'évaluation des données, de l'étape de la conception du procédé à celle de la production de routine. Elle permet donc d'établir sur la base de preuves scientifiques qu'un procédé est capable de fabriquer un produit de qualité de manière reproductible pendant tout son cycle de vie

Les autorités s'accordent aujourd'hui sur le fait qu'une bonne maîtrise des opérations de production passe avant tout par une compréhension approfondie des procédés qui ont été élaborés ; couplée à un système qualité pharmaceutique et à une gestion des risques bien établis et ce, durant tout le cycle de vie du produit. L'approche « life cycle » pour la validation des procédés, qui est fondée sur l'approche « Quality by Design » utilisée pour le développement pharmaceutique, est aujourd'hui la plus recommandée puisqu'elle prend en compte la majorité des attentes des autorités de santé.

Ces concepts sont d'autant plus applicables aux médicaments biotechnologiques puisque la complexité de leurs modes de fabrication qui fait appel au vivant est source de nombreuses variabilités difficile à maîtriser.

---

**MOTS CLES :** Biotechnologie- validation de procédés- biomédicaments- bioproduction-Protéines thérapeutiques

---

### **JURY**

**Président :** Mr Vérité Philippe, Professeur

**Membres :** Mme Pignot Charlotte, responsable Assurance Qualité Projet/validation (Sanofi)  
Mr Guerbet Michel, Professeur

Mme Guidat Elodie, Chargée Assurance Qualité Projet/validation (Sanofi)

---

**DATE DE SOUTENANCE :** 19 Mai 2017