



**HAL**  
open science

# Méthodes d'identification des substances actives : le cas du transfert de méthode, application à l'insuline chez Novo Nordisk

Clément Thiery

► **To cite this version:**

Clément Thiery. Méthodes d'identification des substances actives : le cas du transfert de méthode, application à l'insuline chez Novo Nordisk. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04526215

**HAL Id: dumas-04526215**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04526215v1>**

Submitted on 29 Mar 2024

**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.

**UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE**  
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN PHARMACIE

---

ANNEE : 2023

N°

**THESE**

pour le

**DIPLÔME D'ETAT**

**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

par

**THIERY Clément**

**Né le 01/05/1998 à Vitry-le-François (51)**

présentée et soutenue publiquement le 31 Octobre 2023

**METHODES D'IDENTIFICATION DES SUBSTANCES ACTIVES : LE  
CAS DU TRANSFERT DE METHODE, APPLICATION A L'INSULINE  
CHEZ NOVO NORDISK**

**JURY**

Présidente / Directrice : Mme EDWARDS-LEVY Florence  
Assesseur(s) : M. BELJEBBAR Abdelilah  
Mme HENAULT Laure  
Mme HAMSİ Fatima

## 2023-2024

M. R. LE NAOUR .....	DOYEN
MME F. REFFUVEILLE .....	VICE-DOYEN
M. S. DUKIC .....	VICE-DOYEN
M. B. FULBERT .....	VICE-DOYEN ÉTUDIANT

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. A. BELJEBBAR .....	CHIMIE ANALYTIQUE
M. O. DEBARGE .....	DROIT PHARMACEUTIQUE
M. J. DEPAQUIT .....	PARASITOLOGIE
M. S. DUKIC.....	PHARMACOLOGIE - TOXICOLOGIE
MME F. EDWARDS .....	PHARMACOTECHNIE
MME S. GANGLOFF .....	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE
M. S. GERARD.....	CHIMIE THERAPEUTIQUE
M. D. GUILLAUME .....	CHIMIE THERAPEUTIQUE
M. M. KALTENBACH.....	PHARMACOLOGIE
M. D. JOUET .....	BIOCHIMIE
MME C. LAVAUD .....	PHARMACOGNOSIE
M. R. LE NAOUR .....	IMMUNOLOGIE - BIOTECHNOLOGIE
M. J-M. MILLOT .....	CHIMIE ANALYTIQUE
M. H. MORJANI .....	BIOCHIMIE
M. I. NABIEV .....	BIOPHYSIQUE-MATHEMATIQUES
M. O. PIOT .....	BIOPHYSIQUE-MATHEMATIQUES
M. J-H. RENAULT .....	PHARMACOGNOSIE
M. D. SOCKALINGUM .....	BIOPHYSIQUE-MATHEMATIQUES
MME L. VOUTQUENNE-NAZABADIKO	BOTANIQUE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES ÉMÉRITES

MME M-C. ANDRY.....	PHARMACIE GALENIQUE
---------------------	---------------------

### MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITES

M. A. ALABDULMAGID.....	BOTANIQUE
MME H. BERBER.....	CHIMIE ORGANIQUE
MME E. BOURGUET .....	CHIMIE ORGANIQUE
MME E. BUACHE.....	BIOLOGIE MOLECULAIRE
MME M. CALLEWAERT.....	PHARMACIE GALENIQUE
MME M. COCHARD .....	CHIMIE THERAPEUTIQUE
M. M. COLIN .....	MICROBIOLOGIE
M. G. COLLIN .....	BIOLOGIE MOLECULAIRE
M. C. DENHEZ.....	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MME A. FOULEY .....	TOXICOLOGIE
M. C. GOBINET .....	BIOPHYSIQUE-MATHEMATIQUES
M. P. LAMEIRAS.....	CHIMIE ANALYTIQUE
M. B. LAMKHIUED .....	IMMUNOLOGIE - BIOTECHNOLOGIE
M. J-P. MARTINET .....	PARASITOLOGIE
MME H. MARTY.....	PHARMACOLOGIE
MME C. MILLOT .....	PHYSIOLOGIE HUMAINE
MME F. REFFUVEILLE.....	MICROBIOLOGIE
M. S. REMY .....	PHARMACOGNOSIE
M. C. SABY .....	BIOCHIMIE

### **MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITES (suite)**

MME E. SERRUROT-MILLEROT..... TOXICOLOGIE  
MME A. TRUSSARDI-RENIER ..... BIOLOGIE CELLULAIRE

### **MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITES ÉMÉRITES**

M. H. FERTE ..... PARASITOLOGIE

### **MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITES – PRATICIEN HOSPITALIER**

M. F. SLIMANO..... PHARMACOLOGIE  
MME C. TOURNOIS-HIRZEL ..... HEMATOLOGIE

### **MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS**

M. N. MATHOT..... PHARMACIE OFFICINALE

### **ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE**

MME J. CLARENNE..... PHARMACIE CLINIQUE  
MME C. KONECKI..... PHARMACOLOGIE

### **ENSEIGNANTS DU SECOND DEGRÉ**

MME S. UMARJIKAR. .... ANGLAIS  
M. F. RANDRIANAMBININTSOA..... PARASITOLOGIE

### **ATTACHÉ TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

MME A. AL ASSAAD..... CHIMIE ANALYTIQUE  
MME L. AUGENDRE..... PHYSIOLOGIE  
M. J. CORDONNIER..... PHARMACOGNOSIE  
MME. N. SERHAL ..... PHARMACIE GALENIQUE  
MME L. THORAVAL ..... IMMUNOLOGIE

### **ADMINISTRATION**

MME V. BRULE PINTAUX..... CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS  
MME O. DUFOSSE..... CHEF DU SERVICE SCOLARITE  
MME A. DE OLIVEIRA..... ACCUEIL SCOLARITE  
MME V. GRZESKOWIAK ..... SECRETARIAT DOYEN PHARMACIE  
MME E. KREMER..... CONSERVATEUR DE BIBLIOTHEQUE  
M. E. DELARBRE--MATHE..... GESTIONNAIRE DE SCOLARITE  
M. A. FRIHA ..... GESTIONNAIRE DE SCOLARITE  
MME K. HACHIN ..... GESTIONNAIRE DE SCOLARITE  
MME S. LINDOR ..... GESTIONNAIRE DE SCOLARITE  
MME S. VAYEUR..... GESTIONNAIRE DE SCOLARITE

A Mme Florence EDWARDS-LEVY, Docteur en Pharmacie et Professeur de pharmacie galénique, merci pour votre pédagogie et votre précieuse aide au cours de ces mois de rédaction, et de me faire l'honneur de présider cette thèse.

A Mr Abdelilah BELJEBBAR, Professeur de chimie analytique, merci de votre confiance et de votre soutien.

A Mme Laure HENAULT, Docteur en Pharmacie et Pharmacien Assurance Qualité Validation, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury, pour ton aide et ton suivi si précieux. Ta sympathie et ton soutien, à toi et à Mr Arthur PERDRIAT, furent essentiels dans l'écriture de cette thèse.

A Mme Fatima HAMSİ, Ingénieure Qualité, merci de m'avoir fait le privilège d'être ton stagiaire puis alternant, à toi et à Mme Mathilde TERTRE. Je n'ai jamais autant appris humainement comme professionnellement qu'à vos côtés pendant cette période et je ne vous en remercierai jamais assez.

A mes parents, merci de m'avoir donné l'opportunité de faire des études dont cette thèse est l'accomplissement, et de m'avoir toujours soutenu. A mes frères, merci d'être mes meilleurs amis depuis toujours. Je vous dois tout et vous aime.

A Antoine, Julien, Pierre, Simon, Siméon, Xavier, mes Zamals, merci pour toutes ces années. Vous êtes une source d'inspiration et de fierté sans faille.

A Jean-Baptiste, Pierre, Robin, Thomas, Yanis, la Team Etoile : « Merci à vous d'être vous ».

A mes amis de fac et à ceux qui ont pu partager l'aventure associative avec moi, Adrien, Guillaume, Hadrien, Pierre-Edouard, Clara, Laurine, Matthieu, Simon, Paul, Pierre, Thibaut, Orlane, Gautier, Alexie, Célia, Arthur, Marie-Julie, Zoé, mes amis de VLF, Céline, Violaine, Maxime, Clément, Etienne, Salomé, Fanny, Jules, Camille et tous les autres. Merci pour ces moments inoubliables.

A mes collègues et amis de chez Novo Nordisk®, merci de votre aide dans la rédaction de cette thèse et de votre accueil si chaleureux.

A ma famille et à mes amis que je n'ai pas cité mais qui se reconnaîtront.

A Inès évidemment, merci de ta présence à mes côtés et de ton soutien sans faille, dans la rédaction de cette thèse comme dans chaque instant de notre vie. Je t'aime.

Les opinions exprimées dans cette thèse n'engagent que son auteur et en aucun cas

l'UFR de Pharmacie de Reims.

## Introduction

La recherche et le développement de médicaments dans le domaine de la santé ont connu des avancées spectaculaires au cours des dernières décennies, révolutionnant ainsi la manière dont les maladies sont traitées et gérées. Les médicaments constituent l'un des piliers fondamentaux du système de santé mondial, permettant de traiter, prévenir et soulager un large éventail de pathologies. L'efficacité et la sécurité de ces médicaments dépendent largement de la présence et de la concentration adéquates des substances actives, qui sont les ingrédients responsables de l'effet thérapeutique recherché. Afin de garantir la qualité, la pureté et la stabilité des médicaments, il est impératif de mettre en place des méthodes d'identification précises et fiables.

Le processus de production d'un médicament est complexe et implique souvent plusieurs étapes, de la conception initiale à la production à grande échelle. À chaque étape, les méthodes d'identification des substances actives doivent être validées pour garantir leur fiabilité. Cependant, il arrive fréquemment que ces méthodes doivent être transférées d'un laboratoire à un autre, ce qui peut présenter des défis significatifs. Les raisons de ce transfert peuvent être diverses, allant de la nécessité de produire à plus grande échelle à la sous-traitance de l'analyse à des laboratoires spécialisés.

La présente thèse se propose d'explorer l'importance cruciale de la maîtrise de la production et du cycle de vie des substances actives, ainsi que l'aspect fondamental des méthodes d'identification.

Par la suite, ce travail se focalisera sur le développement de ces méthodes analytiques, et se penchera plus précisément sur deux d'entre elles. Par la suite, il sera évoqué le transfert de méthode et ses enjeux.

Enfin, cet ouvrage s'appuiera sur un cas concret de transfert de méthode analytique, opéré en 2022 sur le site de Novo Nordisk® à Chartres. Ce dernier illustre comment ces concepts sont mis en œuvre dans l'industrie pharmaceutique, mettant en lumière leur rôle fondamental dans la garantie de la sécurité et de l'efficacité des traitements médicaux.

*Une liste des abréviations est présente en fin de volume.*

## PARTIE I : Cycle de vie et réglementation de la production des substances actives et de leur importation

Les Bonnes Pratiques de Fabrication<sup>(1)</sup> (BPF) sont des normes de qualité et de sécurité établies pour l'industrie pharmaceutique par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Elles fournissent des lignes directrices pour la fabrication, le contrôle et la distribution des produits pharmaceutiques afin d'assurer leur qualité, leur efficacité et leur sécurité, et constituent le texte de référence en matière de production en industrie pharmaceutique.

Les BPF couvrent tous les aspects de la fabrication pharmaceutique, y compris les matières premières, les équipements, les installations, les processus de production, le contrôle qualité, le stockage, l'emballage et l'étiquetage, ainsi que la distribution des produits finis. Elles sont conçues pour garantir la qualité tout au long du cycle de vie d'un médicament, depuis la recherche et le développement jusqu'à la mise sur le marché et l'utilisation par les patients. Elles sont divisées en plusieurs parties, lignes directrices et annexes comme suivant :

- PARTIE I : Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments à usage humain
- PARTIE II : Bonnes Pratiques de Fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments
- PARTIE III : Documents relatifs aux Bonnes Pratiques de Fabrication
  - Gestion du risque qualité (ICH Q9)
  - Système qualité pharmaceutique (ICH Q10)
  - Exigences internationales harmonisées pour la certification d'un lot
  - Lignes directrices du 19 Mars 2015 relatives à l'évaluation formalisée du risque visant à déterminer les Bonnes Pratiques de Fabrication appropriées pour les excipients utilisés dans les médicaments à usage humain
- PARTIE IV : Guide des bonnes pratiques de fabrication spécifiques aux médicaments de thérapie innovante
- ANNEXES :
  - L.D.1. : Fabrication de médicaments stériles



- ANNEXE 2 : Fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain
- LD.3. : Fabrication des médicaments radiopharmaceutiques
- ANNEXE 6 : Fabrication des gaz médicaux
- ANNEXE 7 : Fabrication des médicaments à base de plantes
- LD.8. : Echantillonnage des matières premières et des articles de conditionnement
- LD.9. : Liquides, crèmes et pommades
- LD.10. : Fabrication de préparations pressurisées en aérosol à inhaler présentées en récipients munis d'une valve doseuse
- ANNEXE 11 : Systèmes informatisés
- LD.12. : Utilisation des rayonnements ionisants dans la fabrication des médicaments
- ANNEXE 13 : Lignes directrices relatives aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments expérimentaux
- ANNEXE 14 : Fabrication des médicaments dérivés du sang ou du plasma humains
- ANNEXE 15 : Qualification et validation
- ANNEXE 16 : Certification par une personne qualifiée et libération des lots
- ANNEXE 17 : Essai de libération en temps réel et libération paramétrique
- LD.19. : Echantillon de référence et échantillon modèle

En ce qui concerne les substances actives, auxquelles la partie II est dédiée, les BPF les décrivent comme telles : « Toute substance ou mélange de substances destinés à être utilisés pour la fabrication d'un médicament et qui, lorsqu'ils sont utilisés dans la production d'un médicament, devient un principe actif du médicament. De telles substances sont destinées à fournir une activité pharmacologique ou un autre effet direct pour le diagnostic, la guérison, le traitement, l'atténuation ou la prévention des maladies, ou à produire un effet sur la structure et la fonction du corps. »

Dans le cycle de vie des substances actives, il est possible de distinguer plusieurs étapes, comme suivant (figure 1):



*Figure 1 : Flux des substances actives*

D'après les BPF partie II(1), « la "fabrication" inclut toutes les opérations de réception des matières, de production, de conditionnement, de reconditionnement, d'étiquetage, de réétiquetage, de contrôle de la qualité, de libération, de stockage et de distribution des substances actives ainsi que les contrôles associés. ». Dans cette première partie, nous allons donc décrire chacune des étapes de cette fabrication de substance active, en étudiant ce qui est requis pour chacune d'entre elles, et comment procéder pour être certains de respecter les standards.

## 1. Production de la substance active

### 1.1. Définition

Dans cette partie, le focus sera mis sur la production de la substance active, c'est-à-dire sa synthèse. Cette dernière est la première étape du cycle de vie de la matière première, et doit être effectuée sur un site de production industriel dédié.

Ainsi, elle est naturellement très encadrée par des textes réglementaires opposables.

### 1.2. Requis réglementaires

#### 1.2.1. Code de la Santé Publique

Le Code de la Santé Publique (CSP) définit un ensemble de textes législatifs qui régissent les problématiques de santé publique en France, ce qui inclut les devoirs des établissements impliqués dans la production de produits de santé.

Le CSP définit dans son article L5138-1 que « les activités de fabrication, d'importation et de distribution de substances actives [...] ne peuvent être exercées que dans des établissements autorisés par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé »(2). De cette manière, toute activité de

fabrication de matière première à usage pharmaceutique sur le territoire français doit faire l'objet d'un enregistrement auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Cela participe à la lutte contre la falsification de médicaments (prévue par la Directive européenne 2011/62/UE(3)), et enraye l'introduction dans la chaîne d'approvisionnement légale de médicaments contrefaits.

De plus, les articles L.5121-5(4) et L.5138-3(5) du CSP précisent que la fabrication des substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments doit être réalisée en conformité avec des bonnes pratiques dont les principes sont définis par décision de l'ANSM.

De cette manière, ce sont donc les Bonnes Pratiques de Fabrication qui définissent légalement la marche à suivre.

#### *1.2.2. Bonnes Pratiques de Fabrication*

Les Bonnes Pratiques de Fabrication définissent des règles générales à respecter dans le cadre de la fabrication du médicament, mais elles s'appliquent plus spécifiquement de différentes manières à la fabrication de la substance active, qui est la base de la constitution de ce dernier..

Les BPF fournissent, dans leur partie II, un guide pour la fabrication des substances actives sous un système approprié de management de la qualité. Ce guide est issu du guide européen(6) des Bonnes Pratiques de Fabrication (aussi appelées Good Manufacturing Practices) des médicaments à usage humain et vétérinaire de l'European Medicines Agency (EMA), lui-même issu du guide ICH Q7a(7) défini par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH).

Cette partie II, intitulée « Bonnes Pratiques de Fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments », comporte différents chapitres répartissant les exigences selon différents processus. Ces chapitres sont les suivants :

- 1. Introduction
- 2. Management de la qualité
- 3. Personnel
- 4. Bâtiments et installations

- 5. Equipements de fabrication
- 6. Documentation et enregistrements
- 7. Gestion des matières
- 8. Production et contrôles en cours de procédé
- 9. Conditionnement et étiquetage d'identification des substances actives et des intermédiaires
- 10. Stockage et distribution
- 11. Contrôles en laboratoire
- 12. Validation
- 13. Maîtrise des modifications
- 14. Refus et réutilisation des matières
- 15. Réclamations et rappels
- 16. Fabricants sous contrat (incluant les laboratoires)
- 17. Agents, courtiers, négociants, distributeurs, reconditionneurs et réétiqueteurs
- 18. Dispositions spécifiques pour les substances actives fabriquées par culture cellulaire / fermentation
- 19. Substances actives utilisées en essais cliniques
- 20. Glossaire

Dans ces différents chapitres, il est possible de retrouver ce qui est requis en fonction de l'étape de vie de la substance active. De manière générale, il y est décrit dans le chapitre 2.11(1) que chaque fabricant doit établir, documenter et implémenter un système efficace de management de la qualité, et les responsabilités concernant les activités de production doivent être définies et inclure l'ensemble des étapes inhérentes à la fabrication de la substance active.

Afin de cartographier ce processus et d'identifier les points de vigilance, on peut utiliser un diagramme d'Ishikawa, comme visible en figure 2. Cet outil, aussi appelé diagramme en arêtes de poisson, ou 5M, est un outil développé en 1962 par Kaoru Ishikawa afin de représenter de manière graphique et visuelle une relation de cause à effet. Ainsi, il est possible d'identifier à partir des branches des causes de défaillances qui auraient pu conduire à la survenue d'un effet. C'est un outil très utilisé en résolution de problème ou en gestion de risques, car il balaye les aspects

principaux à surveiller lorsque l'on souhaite être complet dans une recherche de causes et de points de surveillance.



Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa(8)

Dans le cas étudié, il est possible de se servir de chacun des « 5M » se rapportant à la substance active pour identifier les principaux points de vigilance et les exigences à respecter tout au long du processus. Les « 5M », décrits ci-après, sont les suivants :

- Matière
- Main d'œuvre
- Milieu
- Matériel
- Méthode

Ainsi, en étudiant chacun de ces aspects lors de la fabrication de la matière première, on couvre la majorité des requis et on balaye l'ensemble des paramètres à surveiller lors de la production.

#### 1.2.2.1. Matière

Tout d'abord, la production d'une substance active inclut nécessairement une maîtrise des matières utilisées. De cette manière, on retrouve des exigences dans le chapitre 7 de la partie II des BPF(1), intitulé « Gestion des matières ». Celui-ci dit notamment qu'« il doit exister des procédures écrites décrivant la réception,

l'identification, la mise en quarantaine, le stockage, la manutention, l'échantillonnage, les contrôles, l'approbation ou le refus des matières », et que ces matières « doivent être achetées selon des spécifications approuvées, chez un fournisseur ou des fournisseurs approuvés par l'unité qualité ». Ainsi, en maîtrisant ce flux, on maîtrise notre produit.

Dans le cadre de substances actives destinées à entrer dans la composition de médicaments, l'aspect « matière » est primordial, car ces matières premières seront garantes de la qualité et de l'efficacité du produit de santé qu'elles composeront. C'est la raison pour laquelle l'ensemble des étapes associées à la matière doivent être rigoureusement maîtrisées, et les fournisseurs de ces matières audités et approuvés.

#### 1.2.2.2. Main d'œuvre

Dans un système qualité qui fonctionne de manière efficace, il est nécessaire de veiller à ce que les personnes qui participent à la fabrication des substances actives respectent un certain nombre d'exigences, définies notamment dans le chapitre 3 de la partie II des BPF(1), intitulé « Personnel ».

De cette manière, il y est écrit qu'il est de la responsabilité du fabricant et de la direction de veiller, et de donner les moyens au fait que la production soit effectuée par un personnel qui soit qualifié, en nombre suffisant, et ayant eu une formation et/ou une expérience appropriées. Cela correspond à une formation initiale, mais également à des évaluations périodiques.

L'hygiène de ce personnel joue également un rôle très important dans la qualité du produit, c'est pourquoi il est important de mettre en place une tenue adaptée à l'activité effectuée et au type de zone dans lequel il se trouve. Ainsi, il faudra mettre en place un port d'EPI (Equipements de Protection Individuelle) couvrant le corps, le visage et les mains, comme visible par exemple en figure 3. La fréquence de changement de ces tenues doit également être définie.



*Figure 3 : Equipements de Protection Individuelle*

De plus, si des consultants extérieurs sont utilisés afin de participer à la fabrication de substances actives, il est obligatoire de mettre en place un agrément qualité et que ces intermédiaires soient répertoriés dans la liste des prestataires agréés.

#### 1.2.2.3. Milieu

L'environnement de production est également un critère primordial à maîtriser afin de maintenir un haut niveau de qualité. On peut retrouver des exigences à ce sujet dans différents chapitres de la partie II des BPF(1), mais notamment dans les chapitres 4 : « Bâtiments et installations », 5 : « Equipements de fabrication », et 10 : « Stockage et distribution ».

Ainsi, il est stipulé que les locaux doivent être conçus, localisés et construits de la manière la plus adaptée à l'utilisation à laquelle ils sont destinés. Cette conception doit permettre un nettoyage facile et efficace, minimisant les risques qualité pour les matières et les produits, et écartant le risque de contaminations croisées (nettoyage, désinfection, validation de nettoyage).

De plus, l'environnement doit être protégé, de manière à empêcher la contamination des matières, par des systèmes de pression/surpression des zones, contrôles particuliers, qualification/validation des systèmes d'air, hottes ou des flux laminaires.

Les propriétés de cet environnement, telles que l'éclairage, la température, l'humidité et la ventilation doivent être surveillées et appropriées afin de ne pas affecter le produit lors de la fabrication.

Il est par ailleurs nécessaire de différencier les zones de repos et de repas des environnements de production afin de limiter les risques de contamination humaine.

Enfin, l'accès aux zones de production et de contrôle de la qualité doit être contrôlé et sécurisé, car critique. En effet, seules les personnes autorisées à réaliser ces activités doivent être en capacité d'accéder à ces espaces. De plus, ces zones nécessitent généralement une surveillance accrue afin d'empêcher toute contamination, et un contrôle d'accès permet de diminuer le nombre de personnel susceptible de venir perturber l'activité.

C'est l'ensemble de ces mesures, visant à maîtriser au mieux l'environnement de production, qui permettent de garantir la propreté attendue et de minimiser le plus possible les risques de contamination.

#### 1.2.2.4. Matériel

Le matériel utilisé pour la production de substances actives est contrôlé et choisi attentivement. En effet, il est en partie en contact avec la matière première et aura donc une influence dans la production. C'est dans cette optique qu'il existe des exigences sur les appareils dans le chapitre 5 de la partie II des BPF(1), « Equipements de fabrication ».

Ce dernier stipule que « les équipements utilisés pour la fabrication des intermédiaires et des substances actives doivent être conçus, dimensionnés et implantés de façon appropriée à leur utilisation, leur nettoyage, leur décontamination (si nécessaire) et à leur entretien ».

De plus, selon les principes des BPF, et notamment de son annexe 15 dédiée à la qualification et à la validation, les appareils utilisés dans la fabrication de produits pharmaceutiques doivent être qualifiés. La qualification des équipements est un processus documenté qui démontre que les équipements sont adaptés à leur utilisation prévue, qu'ils fonctionnent de manière fiable et qu'ils produisent des résultats conformes aux spécifications.



Par ailleurs, ils doivent être entretenus par des maintenances curatives (au besoin), et préventives selon une périodicité adaptée qui doit être procédurée.

D'après le chapitre 5.30(1), des procédures d'étalonnage doivent être mises en place pour les équipements critiques dans la fabrication des substances actives : les appareils de contrôle, de pesée, de mesure, de surveillance et de test.

Enfin, tous les systèmes informatisés qui entrent dans le processus de fabrication doivent également être validés, et ce afin d' « apporter la preuve que les matériels et les logiciels sont adaptés à la réalisation des travaux qui leurs sont demandés » (chapitre 5.41 des BPF(1)). Ce statut validé des systèmes doit être maintenu à tout moment si l'on veut garantir la qualité des produits, et il doit exister un système de sauvegarde et de restauration des données, pour des questions de traçabilité.

Garantir le bon fonctionnement des appareils et systèmes entrant dans le processus de fabrication permet ainsi de s'assurer qu'ils délivreront de manière constante et prévisible des produits correspondant à l'attendu.

#### 1.2.2.5. Méthode

Dans la fabrication de substances actives à usage pharmaceutique, bien qu'il soit important de contrôler tous les paramètres qui régissent la production, il est également capital de maîtriser la manière dont est réalisée la fabrication. Ainsi, le processus doit être robuste, et encadré par un système qualité pharmaceutique garantissant la gestion des risques qualité tels qu'évoqués dans l'ICH Q9(12), intitulé *Quality Risk Management*. Ce processus est schématisé en figure 4.

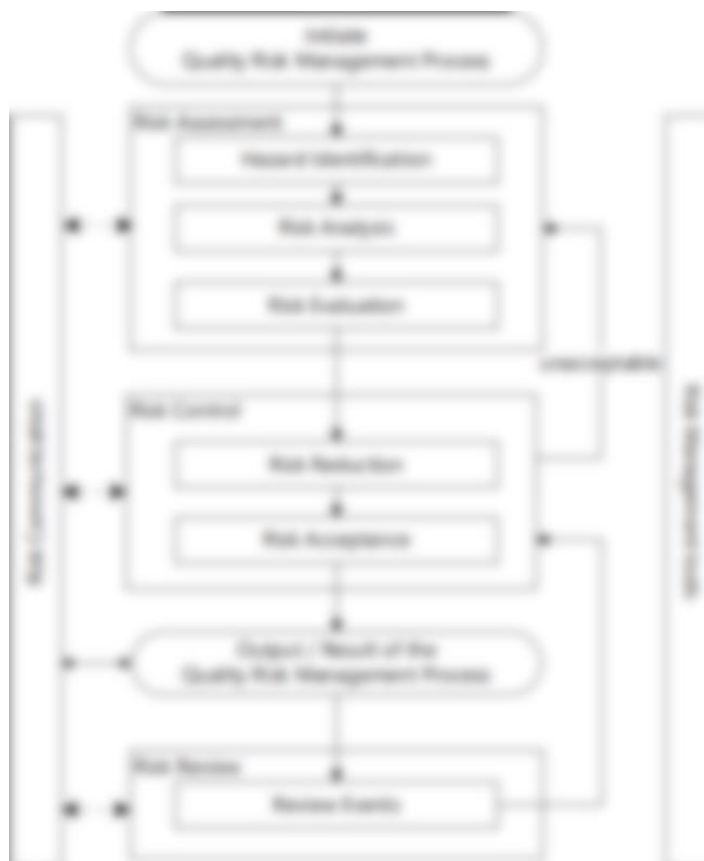


Figure 4 : Schématisation de la gestion des risques selon l'ICH Q9(9)

Cette ligne directrice nous décrit une gestion du risque pouvant être répartie en 3 étapes :

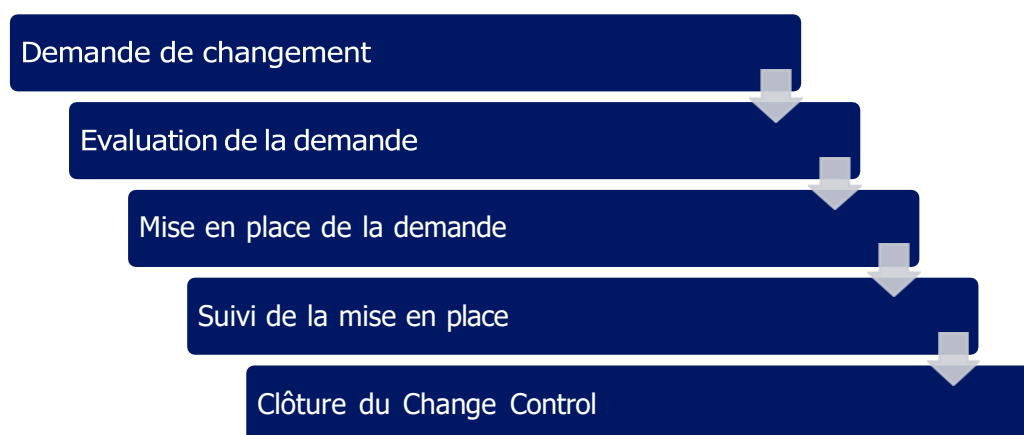
- L'appréciation du risque, qui comprend son identification, son analyse et son évaluation.
- La maîtrise du risque, avec sa réduction jusqu'à un niveau acceptable.
- La revue du risque, avec la revue des différents évènements.

Ainsi, il est fortement recommandé de prendre en compte et maîtriser les risques selon ces différentes étapes dans le but de parvenir à la plus grande robustesse. La gestion du risque, processus systématique d'évaluation, de maîtrise, de communication et de revue des risques qualité de la substance active peut d'ailleurs,

comme indiqué dans le chapitre 2.20 de la partie II des BPF(1), être appliquée de façon prospective ou rétrospective.

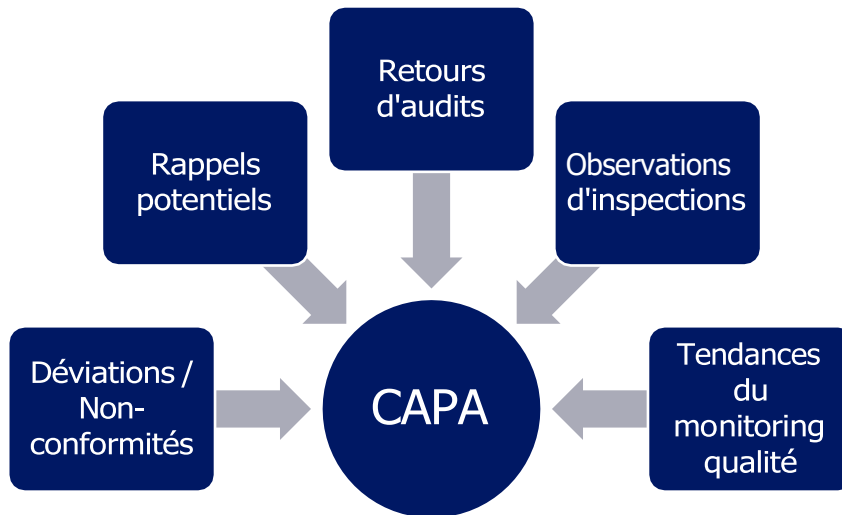
De plus, afin d'assurer la qualité et la robustesse des méthodes, il est nécessaire d'opérer une validation de celles-ci. Cette politique de validation, décrite dans le chapitre 12.10 de la partie II des BPF(1), inclut « la validation des procédés de production, des méthodes de nettoyage, des méthodes analytiques, des méthodes de contrôle en cours de procédé et des systèmes informatisés, ainsi que les personnes responsables de la conception, de la revue, de l'approbation et de la documentation de chaque étape de validation ».

Pour pérenniser la qualité des processus, le chapitre 13. de la partie II des BPF(1) précise qu'un « système de maîtrise des modifications formalisé doit être établi pour évaluer toutes les modifications qui peuvent affecter la production et le contrôle des intermédiaires ou des substances actives ». Cela renvoie notamment au concept de Change Control (ou Contrôle des Changements), qui est un système permettant l'évaluation prospective d'un changement planifié, l'évaluation de son impact à différents niveaux, et son approbation avant mise en œuvre, dans un but de maîtrise continue des activités. Ce processus peut être découpé en plusieurs étapes telles que (figure 5) :



*Figure 5 : Schématisation du processus de Change Control*

Dans le même esprit, un système permettant de traquer les non-conformités, ou déviations, est un moyen de les investiguer et de les corriger par la mise en place d'actions correctives ou préventives (CAPA) (figure 6). Cela a pour but de suivre lorsque les processus dérivent et de pouvoir rectifier la situation lorsque nécessaire.



*Figure 6 : Schématisation du processus de CAPA*

Ainsi, le monitoring des données d'entrée permet de pouvoir mettre en place des investigations qui mènent à des actions correctives et préventives, empêchant la survenue de défauts ou en diminuant l'occurrence. Cela augmente le niveau global de qualité du système.

Ainsi, il a pu être vu, au travers des 5M qui balayent l'entièreté des étapes de la production de substances actives, que de nombreux paramètres doivent être pris en compte et contrôlés. Il est nécessaire de vérifier continuellement la conformité et la robustesse de ceux-ci, et de mettre en place des actions pour les maîtriser ; l'objectif final étant la qualité, la sécurité et l'efficacité du produit.

## 2. Analyse de la substance active

### 2.1. Introduction

Après l'avoir produite, il faut désormais analyser la substance active. Cela permet de prouver le bon fonctionnement du processus de fabrication et de s'assurer que la matière première possède une qualité et une pureté suffisantes pour être introduite dans un médicament.

Dans les BPF(1) partie II, le chapitre 11 décrit largement les exigences liées aux contrôles de la substance active en laboratoire. Il y est indiqué en partie 11.20 que « des contrôles de laboratoire appropriés doivent être réalisés sur chaque lot d'intermédiaire et de substance active, pour déterminer leur conformité aux spécifications. »

### 2.2. Spécifications

Les spécifications sont une description des exigences auquel tout produit ou matériel utilisé ou obtenu au cours de la fabrication doit se conformer. Elles servent de référence à l'évaluation de la qualité et il est nécessaire de les définir et les respecter. Ces dernières « doivent être établies pour les substances actives conformément aux standards acceptés et être cohérentes avec le procédé de fabrication. » (BPF(1) part II, 11.13)

Ces spécifications sont définies d'après des monographies, comme celles de la Pharmacopée Européenne par exemple.

### 2.3. Pharmacopée Européenne

La Pharmacopée Européenne est un document préparé et publié par la DEQM (Direction Européenne de la Qualité du Médicament et soins de santé). Elle constitue un ensemble de textes applicables réglementairement à l'ensemble des 38 états membres de l'Union Européenne signataires de la Convention relative à l'élaboration de la Pharmacopée Européenne. Dans cet ouvrage, qui regroupe et décrit de manière exhaustive l'ensemble des matières premières autorisées pour la fabrication des médicaments, on retrouve :

- Des critères de pureté pour la fabrication des médicaments :
  - des matières premières
  - des préparations

- des contenants
- des produits finis

- Des méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer le contrôle.

L'ensemble des critères à respecter qui permettent d'assurer une qualité optimale sont publiés sous forme de monographies. Ces textes font autorité pour toute substance ou formule figurant dans la pharmacopée et constituent un référentiel opposable régulièrement mis à jour.

En conséquence, si l'on veut une substance qui est dite conforme à la Pharmacopée Européenne, sa partie 1.1.2.2. indique alors que « les spécifications des monographies constituent des exigences obligatoires. » (10).

La plupart du temps donc, les spécifications définies dans les méthodes d'analyses correspondent et sont basées sur les monographies des différentes pharmacopées (notamment européenne). Dans tous les cas, ces limites sont opposables et ont une valeur légale, donc si un fabricant souhaite constituer ses propres spécifications, elles doivent au moins respecter les valeurs définies dans la pharmacopée, donc être nécessairement au moins aussi restrictives.

#### 2.4. Certificat d'analyse

Une fois les analyses réalisées, le laboratoire est en mesure d'établir un certificat d'analyse. Selon le chapitre 11.42 de la partie II des BPF(1), ce certificat « doit mentionner chaque contrôle réalisé conformément aux exigences réglementaires ou à celles du client, avec les limites d'acceptation et les résultats numériques obtenus ». Il est la preuve de la réalisation des contrôles et de la conformité des résultats de ces derniers par rapport aux spécifications définies. C'est un document capital pour la libération du lot de substance active.

#### 2.5. Le cas de l'importation de substance active en France

Dans le cas où un laboratoire implanté en France ne produirait pas lui-même sa substance active, il existe des règles à respecter en ce qui concerne l'analyse et le contrôle de la qualité de la matière première.

Tout d'abord, il est nécessaire de s'assurer, si ces substances actives proviennent d'un pays tiers, qu'elles ont été fabriquées conformément à des normes

de bonnes pratiques au moins équivalentes à celles fixées par l'Union Européenne, et qu'elles sont accompagnées de documents attestant le respect de ces normes. Cette exigence est prévue légalement par l'article L5138-5(11) du Code de la Santé Publique. Ainsi, on assure que le produit importé répond à des standards de qualité qui sont d'une exigence similaire à ce qui est requis en France.

Dans le cas où le fournisseur a déjà fait des analyses de contrôle qualité sur le lot, il est possible d'utiliser son certificat d'analyse au lieu de réaliser de nouveau les tests, à condition que l'entité qui utilise la matière première possède un système d'évaluation de ses fournisseurs (ICH Q7(7), chapitre 7.30). Dans le cas où ce système d'audit aura validé le fournisseur, il ne sera pas nécessaire de réitérer systématiquement les analyses de contrôle qualité. Toutefois, comme lisible dans le chapitre 7.31 de la partie II des BPF(1), une analyse complète sera tout de même réalisée à intervalles appropriés et comparée aux certificats d'analyse du fournisseur, dans le but d'en surveiller la fiabilité.

Cependant, il est tout de même requis par le chapitre 7.30(1) de cette même partie de réaliser au moins un test d'identification sur chaque lot de matière, et ce afin d'assurer l'identité du lot reçu et une parfaite traçabilité. Il est à noter que « l'identité d'un lot entier de matières premières ne peut normalement être garantie que si des échantillons individuels sont prélevés dans tous les récipients contenant ce même lot et qu'un essai d'identification est effectué sur chaque échantillon. » (BPF(1), L.D.8, 2.) Un test de chacun des récipients dans laquelle aura été reçue la matière première doit donc être réalisé.

L'analyse est donc une étape capitale dans le processus de fabrication et d'utilisation de la substance active. En définissant des spécifications auxquelles on doit répondre, on définit le niveau de qualité attendu, qui doit lui-même répondre à des exigences des autorités. Le fournisseur est tenu de prouver qu'il le respecte en délivrant des preuves que les tests ont été réalisés et que leurs résultats sont conformes. De plus, en effectuant des tests d'identification à chaque étape, on assure une traçabilité optimale de notre produit, empêchant tout mix-up éventuel.

## 2.6. Traitement des résultats Out-Of-Specifications (OOS)

Lorsqu'il est question de spécifications à respecter, il faut définir la manière de traiter les résultats qui vont être amenés à être en dehors de ces spécifications. Un

résultat hors-spécifications, ou OOS (Out-Of-Specifications), est défini dans le guide pour l'industrie de la FDA (Food and Drug Administration) « Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production »(13). Ce dernier en donne la définition suivante : « Tous les résultats suspects qui ne sont pas conformes aux spécifications ou aux critères d'acceptation établis dans les dossiers d'enregistrement, dans les Pharmacopées ou par le fabricant sont des OOS ».

Ces résultats doivent impérativement faire l'objet d'une investigation, comme inscrit dans les BPF(1), chapitre 6.35 : « Les résultats hors spécifications ou les tendances anormales doivent faire l'objet d'une investigation. Tout résultat hors spécification confirmé ou toute dérive significative affectant les lots de produits libérés sur le marché doit être communiqué à l'autorité compétente. »

Cette investigation suit un flux lui permettant d'être la plus exhaustive possible (figure 7).



*Figure 7 : Flux de traitement des résultats Out-Of-Specifications(14)*

Elle démarre par une enquête de laboratoire. Celle-ci consiste en une vérification des calculs, méthodes, milieux, réactifs, équipements, formations et qualifications des techniciens. On cherche à déterminer si une erreur de laboratoire a



eu lieu ; elle peut être reconnue et détectée lors de l'analyse, auquel cas l'OOS n'est pas généré. Si elle est mise en évidence par une investigation, elle permet d'invalider le résultat hors spécification.

Cependant, dans le cas où l'enquête laboratoire n'aurait pas permis de montrer une erreur laboratoire manifeste, l'enquête se poursuit en production, à la source du produit en cause (fabrication du principe actif, équipements de fabrication, système de production d'eau, ...). Si cette enquête approfondie arrive à trouver un lien entre le résultat OOS et une erreur au niveau de la production, l'OOS est confirmé et la décision de libérer le lot de produit sera étudiée au cas par cas par le département d'Assurance Qualité.

En résumé, il est important de savoir comment traiter des résultats qui se trouvent en dehors des spécifications définies : d'abord pour s'assurer qu'ils sont effectivement des résultats OOS et non des erreurs provenant du laboratoire ; enfin pour investiguer sur l'origine de la dérive et sur la raison qui fait que le produit n'atteint pas le niveau de qualité qui en est attendu, afin d'être en mesure de mettre en place des actions évitant que cela ne se reproduise.

En conclusion, le flux décrivant l'analyse des substances actives peut être résumé de la sorte (figure 8):

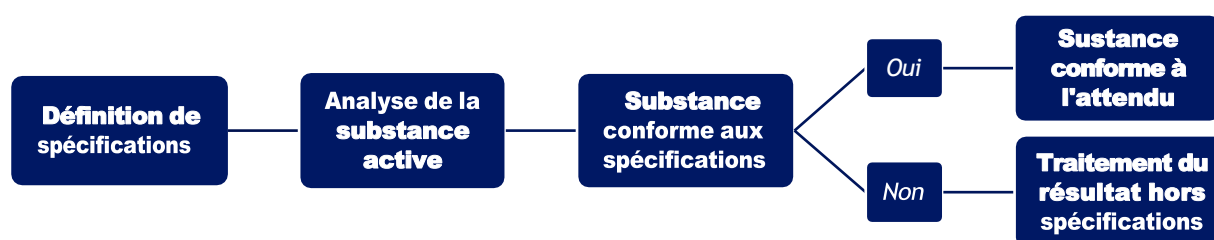


Figure 8 : Flux de l'analyse des substances actives

C'est l'ensemble de ces étapes qui permet une assurance de la qualité et une maîtrise des processus de production selon un niveau de qualité défini.

### 3. Transport et stockage

#### 3.1. Introduction

Le transport de la substance active est une étape facultative dans le cas où le laboratoire qui fabrique un médicament produit lui-même sa substance active.

Cependant, tous les types de laboratoires sont concernés par les problématiques liées au stockage de cette matière première à usage pharmaceutique.

Ces étapes sont critiques et nécessitent d'être parfaitement contrôlées si l'on veut maintenir un niveau de qualité le plus élevé possible. Elles sont donc soumises à une réglementation les encadrant.

### 3.2. Requis réglementaires

Comme pour la fabrication, les BPF définissent de manière claire les exigences qu'il faut respecter. Dans la partie II dédiée aux matières premières, le chapitre 10 « Stockage et distribution » y est entièrement dédié.

Ainsi, il est obligatoire de posséder pour le stockage de ses substances actives des locaux aux conditions appropriées (température, humidité), contrôlées, et documentées (BPF(1) partie II, chapitre 10.10), ainsi que des zones séparées spécifiques pour le stockage de matières en quarantaine, refusées, rappelées. (BPF(1) partie II, chapitre 10.11)

Pour ce qui est du transport, les BPF(1) partie II chapitre 10.20 imposent que la distribution ne précède jamais la libération des matières par l'unité qualité. Ces mêmes matières doivent être distribuées dans des conditions qui garantissent leur qualité et ces conditions doivent obligatoirement être indiquées sur l'étiquette (chapitres 10.21, 10.22(1)). Enfin, comme précisé dans le chapitre 10.23(1), le fabricant doit s'assurer que le transporteur connaît et respecte ces conditions de transport.

## 4. Libération

La libération est l'étape finale avant utilisation de la substance active. Elle correspond à une autorisation qui est donnée par une personne habilitée, à utiliser la matière première dans la production d'un médicament. D'après le chapitre 2.32.1 des BPF(1), il est de la responsabilité de l'unité qualité (Assurance Qualité) de décider « la libération ou le refus de toutes les substances actives. ». Comme précisé chapitre 2.17 de la partie II(1), ce processus est par ailleurs obligatoire ; en effet, « aucune matière ne doit être libérée ou utilisée avant son évaluation complète et satisfaisante ».

Lors de cette libération, la personne habilitée revoit le dossier de lot de l'API, et lui attribue un statut en fonction du résultat de sa revue (libération, refus..).

Cette vérification porte sur plusieurs critères, notamment :

- Le fait qu'aucun écart ou aucune déviation n'empêche la libération de la matière première. Dans le cas où une non-conformité serait survenue sur le lot, une investigation complète doit avoir été menée et son impact évalué.
- Le respect de la traçabilité et des conditions de transport ; si il est important de retracer le parcours de la substance active (numéro de lot, quantités, ...), il l'est encore plus quand il s'agit de produits nécessitant des conditions de stockage particulières (produits thermosensibles, photosensibles, ...). L'observation de ces conditions doit être vérifiée lors de la libération.
- Les résultats d'analyse : la matière première doit répondre à des critères de qualité qui sont vérifiés par des analyses qualitatives et quantitatives : celles-ci sont indispensables au processus de certification des lots. En effet, comme on peut le lire dans , le certificat d'un lot doit contenir l'identité de toutes les substances actives ainsi que les résultats d'analyses, comprenant les spécifications et les références aux méthodes utilisées.

Une fois libérée, la substance active poursuit son chemin dans le processus de fabrication, et sera rendue disponible pour être utilisée dans la production de médicaments.

## PARTIE II : Le transfert de méthode analytique

### 1. Méthode analytique d'identification des substances actives

#### 1.1. Définition

L'ECHA (European CHemicals Agency) définit l'identification des API, comme « un processus qui permet d'établir l'identité de la substance »(15).

Cette caractérisation permet, comme par exemple dans le cadre de REACH (Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals), d'obtenir des informations sur un produit, nécessaires à son enregistrement.

#### 1.2. Exigences réglementaires associées aux méthodes analytiques d'identification

Les méthodes analytiques sont soumises, dans leur conception comme dans leur utilisation, à des exigences auxquelles elles doivent se conformer.

En premier lieu, elles sont tenues de respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL). Ce texte constitue un « système de garantie de la qualité du mode d'organisation et de fonctionnement des laboratoires qui réalisent des essais »(16), qui permet d'assurer la qualité, la reproductibilité et l'intégrité des données générées à des fins réglementaires. De plus, les principes de ces BPL ont été inscrits dans le droit français pour les médicaments à usage humains par l'arrêté du 14 mars 2000 relatif aux bonnes pratiques de laboratoire(17), et dans le droit européen par la directive 2004/10/CE(18) concernant "le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à l'application des principes de BPL et au contrôle de leur application pour les essais sur les substances chimiques". Ainsi, les installations et activités doivent être en conformité avec les BPL, et cela sera vérifié dans le cadre des médicaments à usage humain par l'ANSM.

Ensuite, les méthodes analytiques d'identification sont définies, tout comme leurs normes, par les pharmacopées nationales ou internationales (US Pharmacopeia (USP), Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.), Pharmacopée Japonaise (JP), ...). Ce sont elles qui valident qu'un essai peut être utilisé pour un produit en particulier et pour fournir le résultat attendu.

Ces méthodes doivent par ailleurs être validées conformément aux directives réglementaires telles que les lignes directrices de l'Agence européenne des médicaments (EMA) ou de la Food and Drug Administration (FDA).

En conclusion, il est capital que les méthodes analytiques respectent les directives et obligations des autorités compétentes, et que les laboratoires qui les pratiquent se tiennent informés des évolutions réglementaires, afin de s'assurer qu'ils respectent toujours les exigences en vigueur.

### 1.3. Développement d'une méthode analytique

Dans le cadre du développement et de la mise en place d'une méthode analytique, l'ICH Q14, « Analytical Procedure Development »(19), (qui en est encore au stade de draft en consultation publique) déclare ceci : « L'objectif du développement est d'obtenir une procédure analytique adaptée à l'objectif visé : mesurer un ou plusieurs attributs du matériau analysé avec la spécificité/sélectivité, l'exactitude et/ou la précision requises dans l'intervalle à déclarer. » (partie 2.1)

Dans cette optique, il définit deux types d'approche, à savoir l'approche minimale, et l'approche améliorée.

#### 1.3.1. Approche minimale

Dans un projet de création et de mise en œuvre d'une procédure analytique, l'approche minimale définit que l'élaboration de celle-ci doit inclure, le cas échéant, les éléments suivants :

- La détermination des caractéristiques clés de la substance médicamenteuse ou du produit pharmaceutique qui doivent être testées par la procédure analytique.
- Le choix d'une méthode analytique appropriée ainsi que les instruments ou appareils nécessaires.
- La réalisation d'études de développement adéquates pour évaluer les performances de la méthode analytique, telles que la spécificité, l'exactitude et la précision dans la plage de mesure requise (y compris l'établissement d'un modèle d'étalonnage et la détermination des limites aux extrémités inférieures et/ou supérieures de cette plage) ainsi que la robustesse de la méthode.

- L'élaboration d'une description précise de la procédure analytique, y compris la stratégie de contrôle de cette méthode analytique (par exemple, les réglages des paramètres et l'adéquation du système).

### 1.3.2. *Approche améliorée*

L'approche améliorée fournit une méthode systématique pour développer et affiner la connaissance d'une procédure analytique. En plus des éléments décrits dans l'approche minimale, une approche améliorée doit inclure un ou plusieurs des éléments suivants :

- L'évaluation des propriétés de l'échantillon et la variabilité attendue de l'échantillon, en se basant sur une compréhension du processus de fabrication.
- La définition d'un profil analytique cible, ou Analytical Target Profile (ATP).
- L'évaluation des risques et des connaissances antérieures pour identifier les paramètres de la procédure analytique qui pourraient avoir un impact sur les performances de la méthode.
- La réalisation d'expériences avec une ou plusieurs variables afin d'explorer les plages et les interactions entre les paramètres de la procédure analytique identifiés.
- Développer une stratégie de contrôle de la procédure analytique en se basant sur une meilleure compréhension de la méthode, y compris des points de consigne appropriés et/ou des intervalles pour les paramètres pertinents de la procédure analytique, afin de garantir le respect des critères de performance.
- Établir un plan de gestion des modifications tout au long du cycle de vie, avec des définitions claires et des catégories de rapports pour les conditions établies, les intervalles acceptables prouvés ou les régions de conception opérationnelle de la méthode, selon le cas.

#### 1.4. Validation de la méthode

La validation analytique a pour principal objectif de démontrer l'aptitude et la fiabilité d'une méthode vis-à-vis des exigences réglementaires et normatives en vigueur. Elle permet de prouver que les mesures réalisées sont pertinentes au regard du produit concerné et qu'elles se trouvent dans une limite d'acceptation appropriée.

La norme ISO 17025(20), qui décrit les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais, définit ainsi la validation : « La validation est la confirmation par examen et apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies »

La validation d'une méthode analytique va se traduire par l'étude de plusieurs critères définis dans l'ICH Q2(R1) « Validation of Analytical Procedures », tels que :

- La spécificité : elle est définie comme la capacité à discriminer plusieurs éléments de structures similaires susceptibles d'être présents.
- La linéarité : elle correspond à la capacité d'une méthode à donner des résultats qui sont proportionnels à la concentration de substance analysée dans un échantillon.
- La gamme de validation (ou *range*) : il est l'intervalle de concentration dans lequel la méthode est dite validée.
- La justesse (*accuracy*) : elle est déterminée en comparant des valeurs de concentration théorique avec des valeurs expérimentales, et permet d'exprimer l'écart entre la valeur acceptée comme référence et la valeur trouvée.
- La fidélité (*precision*) : elle correspond à l'étude des variations dans une série de mesures provenant de plusieurs prises d'échantillon homogènes selon certaines conditions. Elle peut être évaluée selon 3 critères :

- La répétabilité : à savoir la fidélité entre des échantillons étudiés dans des conditions opératoires identiques et dans un laps de temps restreint.
  - La fidélité intermédiaire : correspond aux variations intra-laboratoires, à savoir des équipements différents, jours différents, opérateurs différents, ...
  - La reproductibilité : elle exprime la variabilité inter-laboratoire.
- 
- La limite de détection : c'est la concentration la plus basse détectable par la méthode.
  - La limite de quantification : c'est quant à elle la concentration la plus basse qui est quantifiable.
  - La robustesse : elle représente l'étude de l'influence que peuvent avoir de petites variations sur les résultats d'une méthode, donc sa sensibilité aux aléas pouvant perturber les conditions d'utilisation.
  - System Suitability Testing (SST) : les tests SST, pour "tests d'adéquation du système », sont des tests qui sont développés pour être utilisés en routine lorsqu'on réalise des analyses. Lorsqu'on réalise ces tests, propres à chaque méthode, cela montre que l'équipement, la méthode, les échantillons, l'analyste sont tous dans un cadre validé permettant la bonne tenue de l'analyse.

### 1.5. Les principales méthodes analytiques d'identification

Les principales méthodes analytiques d'identification de principes actifs varient en fonction de la nature des substances, du contexte dans lequel elles sont utilisées et de la précision ou de la simplicité de la méthode. Voici quelques-unes des méthodes les plus couramment utilisées pour l'identification des substances actives :



- Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (CLHP, ou HPLC pour High Performance Liquid Chromatography) : Cette méthode sépare les différents composants d'un mélange en utilisant une colonne remplie de particules stationnaires et un solvant mobile. Les substances actives sont identifiées en fonction de leur temps de rétention spécifique.
- Spectroscopie infrarouge (IR) / proche Infrarouge (SPIR) : Cette méthode mesure l'absorption d'énergie infrarouge par les liaisons moléculaires. Par la suite, chaque substance active a un spectre d'absorption caractéristique qui permet de l'identifier.
- Spectrométrie de masse (Mass Spectrometry) : La spectrométrie de masse permet l'identification des substances actives en mesurant le rapport masse/charge des ions produits lors de la fragmentation des molécules. Cela fournit des informations sur la masse moléculaire et la structure des substances.
- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) : La spectroscopie RMN est utilisée pour déterminer la structure moléculaire en mesurant l'interaction des noyaux atomiques avec un champ magnétique.
- Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) : La CPG sépare les composants d'un mélange en utilisant une phase stationnaire, et une phase mobile gazeuse. Les substances actives peuvent être identifiées en fonction de leur temps de rétention et des pics chromatographiques.
- Spectroscopie UV-Visible : Cette technique mesure l'absorption de la lumière ultraviolette et visible par les molécules, ce qui permet d'identifier certaines substances actives.
- Méthodes de titrage : Des réactions chimiques spécifiques peuvent être utilisées pour identifier certaines substances actives en mesurant les quantités de réactifs nécessaires pour atteindre l'équivalence.

- Méthodes de diffusion/diffraction des rayons X : Ces méthodes permettent de déterminer la structure cristalline (polymorphisme) des substances actives, ainsi que leur forme, taille et orientation.
- Méthodes électrochimiques : Ces techniques mesurent les propriétés électrochimiques des substances actives, telles que la voltampérométrie et l'ampérométrie.
- Méthodes biologiques : Certaines substances actives peuvent être identifiées en utilisant des tests biologiques spécifiques, tels que les essais de liaison aux récepteurs ou les essais d'activité enzymatique.

Il est essentiel de choisir la méthode analytique appropriée en fonction des propriétés chimiques et physiques de la substance active à identifier. De même, le coût, la simplicité ou le caractère destructif ou non de l'analyse sont des critères permettant de discriminer une méthode par rapport à une autre.

Dans l'industrie pharmaceutique, les méthodes les plus couramment utilisées sont la Chromatographie en phase Liquide Haute Performance, ainsi que la Spectrométrie Proche Infrarouge. Dans la partie qui suit, nous allons donc présenter ces deux techniques ainsi que leurs avantages et inconvénients.

## 2. La Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (HPLC)

### 2.1. Présentation

Comme évoqué brièvement précédemment, les chromatographies sont des méthodes physico-chimiques de séparation de molécules présentes dans un mélange. Cela consiste à faire migrer des constituants à séparer sur une phase stationnaire immobile à l'aide d'une phase mobile, liquide ou gazeuse. En fonction de la nature des phases et des types d'interactions entre ces dernières et les molécules du mélange, on retrouvera différentes sortes de chromatographie. Ainsi, le critère de séparation physico-chimique pourra être la charge, la masse moléculaire, l'hydrophilie/hydrophobie, la structure tridimensionnelle, etc. Le choix de la technique et des critères de séparation sera évalué en fonction des besoins.

La Chromatographie Liquide Haute Performance est un type de chromatographie liquide, ce qui signifie que la phase mobile y est liquide. La différence entre l'HPLC et

les autres méthodes de chromatographies liquides se situe dans le fait que dans le cas de l'HPLC, la migration se fait dans une colonne sous haute pression. Cette technique a de nombreuses utilisations en chimie analytique : elle permet de séparer, quantifier et identifier tout composant en mesure d'être dissous dans un liquide.

Son principe est le suivant : un solvant liquide (phase mobile) est contenu dans un réservoir. A la suite de ce dernier, une pompe a pour rôle de générer un certain débit de ce solvant, débit qui est paramétré. Un injecteur, aussi appelé passeur d'échantillons, permet ensuite d'insérer l'échantillon que l'on souhaite analyser dans le flux de solvant. Afin qu'il puisse être élué, l'échantillon doit se trouver sous forme liquide. Ainsi, il pourra être nécessaire, notamment pour les produits sous forme solide, de préparer les échantillons au préalable afin qu'ils puissent être miscibles avec la phase mobile liquide. Cela peut se traduire par exemple par une phase d'acidification.

Ce tout va traverser une colonne HPLC (figure 9), fixe, qui représente la phase stationnaire et a pour rôle de séparer les différentes molécules injectées selon différents critères : leur taille, polarité, affinité, interactions hydrophiles/hydrophobes, etc...

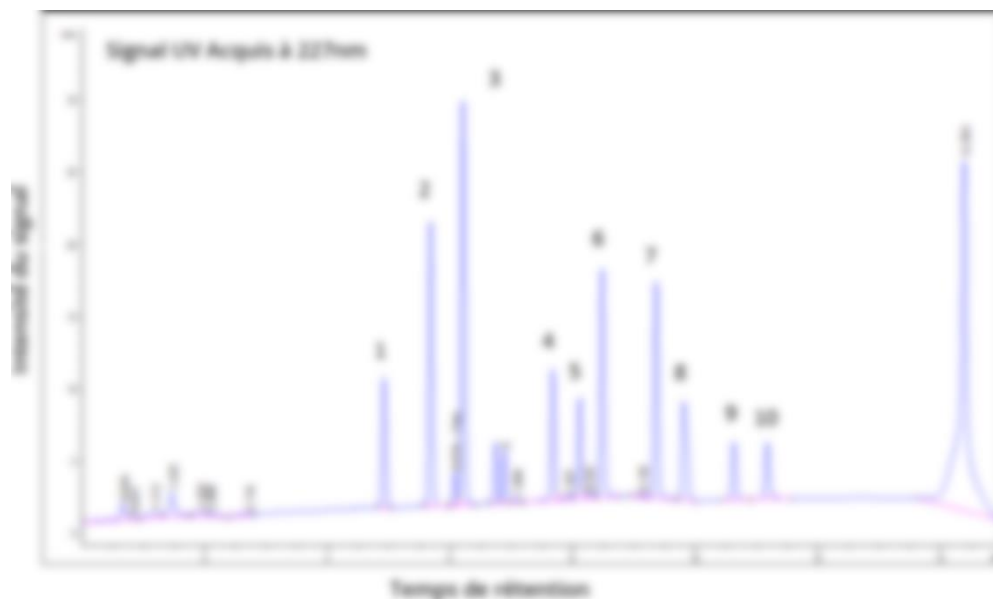


*Figure 9 : Schématisation d'un montage HPLC(21)*

Ainsi, les composants vont tous être retenus différemment et donc être élués à des vitesses différentes dans la colonne. Enfin, un détecteur sera placé au bout de cette chaîne. Ce détecteur peut être de différents types (détecteur de fluorescence, spectromètre de masse, ...) mais un des plus courants est le détecteur UV. Il est un

spectromètre qui va mesurer l'absorbance des échantillons qui vont sortir de la colonne à une longueur d'onde définie, comprise entre 190 et 400nm (Ultra-Violet). L'absorption dans l'ultra-violet est possible grâce aux différents groupements chromophores présents dans les composés, qui vont avoir la capacité d'absorber l'énergie du rayonnement ultraviolet.

Cette mesure d'absorption sera par la suite traduite par un appareil informatique en un chromatogramme sur lequel on observera, pour la longueur d'onde choisie, les différents composés élués sous formes de pics, comme il est possible de l'observer en figure 10.



*Figure 10 : Exemple de chromatogramme(22)*

Chacun de ces pics sera caractérisé par son intensité et son temps de rétention (ou d'éluion, c'est-à-dire le temps que le composé aura mis pour traverser la colonne). Le temps d'éluion dépendant du composé analysé, il représente une donnée connue qui donne la possibilité d'identifier les molécules présentes dans le mélange en fonction de ce temps.

De plus, il est possible, via la hauteur des pics et leur largeur, de réaliser une intégration de ces pics (figure 11). Grâce à cette dernière, on va obtenir l'aire de chacun des pics, ce qui permet la quantification des composés élués. En effet, en comparant à l'aire que l'on obtient en mesurant des composés de concentration connue, on pourra retrouver la concentration de l'échantillon.

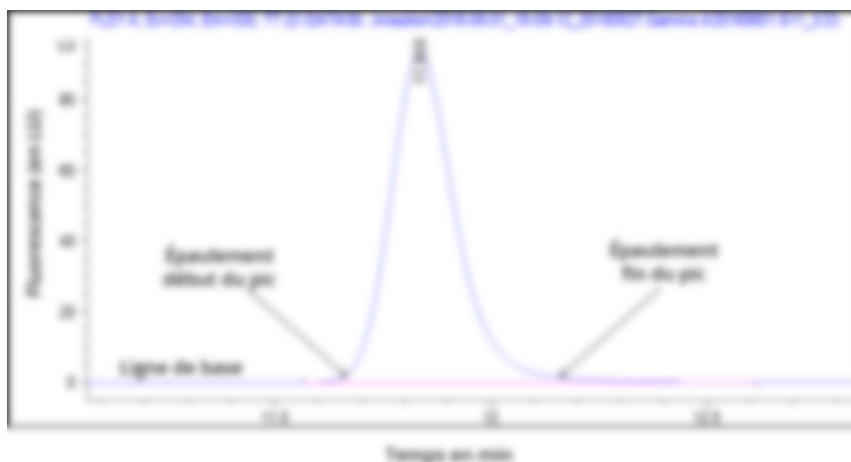


Figure 11 : Représentation d'un pic de chromatogramme(22)

## 2.2. Avantages

L'avantage principal de la technique de Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (HPLC) est qu'elle permet une séparation hautement efficace et une quantification précise des composés dans un échantillon. On peut également lui attribuer les qualités suivantes :

- Sélectivité importante : Avec cette méthode, il est possible de séparer des composants très similaires, ce qui peut être difficile avec d'autres techniques d'analyse.
- Grande sensibilité : L'HPLC permet de détecter des composants présents en très faible quantité, avec une limite de détection pouvant atteindre le picogramme.
- Polyvalence : La Chromatographie Liquide Haute Performance peut être utilisée pour analyser une large gamme de composés, tels que les médicaments, les produits pharmaceutiques, les aliments, les cosmétiques, les polymères, les pesticides, les herbicides ou les métaux.
- Fiabilité d'utilisation : Les résultats obtenus par HPLC sont fiables et reproductibles, ce qui en fait une technique couramment utilisée en recherche et développement, en contrôle qualité, en production.

- Automatisation : L'HPLC peut être facilement automatisée, ce qui permet d'augmenter l'efficacité et la précision de l'analyse.

Cette technique est largement utilisée dans les industries pharmaceutique, alimentaire et environnementale pour l'analyse de médicaments, de contaminants, de toxines et de nutriments. L'HPLC est également rapide, flexible et peut être adaptée pour traiter une variété de composés, ce qui en fait un outil indispensable pour les chercheurs et les analystes industriels.

En résumé, l'HPLC est une technique d'analyse chimique polyvalente, fiable et sensible, qui permet de séparer et d'identifier efficacement les différents composants d'un mélange.

### 2.3. Inconvénients

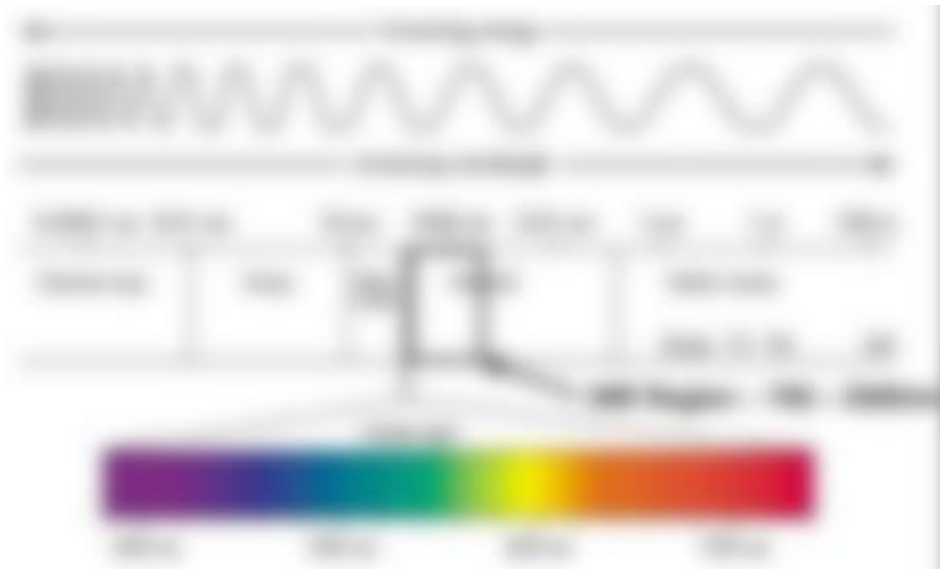
Elle a cependant quelques inconvénients :

- Coût élevé : l'équipement nécessaire à l'HPLC peut être coûteux et les consommables nombreux (colonnes à changer, solvants et consommables non réutilisés), ce qui peut être un obstacle à une utilisation courante pour les petits laboratoires ou ceux possédant un budget limité. De plus, la plupart des activités de maintenance nécessitent du matériel et des compétences techniques qu'il est nécessaire de sous-traiter, ce qui engendre un coût supplémentaire.
- Difficulté d'utilisation : la bonne utilisation de la méthode nécessite des compétences et une formation spécialisées, ce qui peut être compliqué pour les néophytes.
- Temps important : bien qu'elle soit beaucoup plus rapide que les autres techniques de chromatographie, l'HPLC reste une analyse longue qui peut prendre plusieurs heures, voire des jours.
- Préparation complexe : selon la nature de l'échantillon que l'on voudra passer dans notre colonne, des préparations compliquées peuvent être nécessaires afin de le traiter et de le rendre compatible avec l'HPLC ; le solvant, la colonne, le débit sont autant de paramètres qui doivent être contrôlés, mesurés, et qui sont produits-dépendants.

- Grande sensibilité : cette technique nécessite des conditions de propreté importantes, qui impliquent que le moindre contaminant affectera la qualité des données et leur exploitation.

### 3. La Spectroscopie Proche Infrarouge (SPIR)

#### 3.1. Présentation



*Figure 12 : Représentation de la région proche infrarouge sur le spectre(23)*

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) est une technique d'analyse de la lumière qui utilise la région proche infrarouge du spectre électromagnétique (de 700nm à 2500nm (figure12)) pour obtenir des informations sur les propriétés chimiques et physiques des échantillons(24).

Le fonctionnement de base de la spectroscopie proche infrarouge (figure 13) est le suivant :

- Émission de lumière: un source de lumière proche infrarouge est utilisée pour émettre une lumière vers l'échantillon à analyser.
- Absorption et transmission de la lumière: la lumière passe à travers l'échantillon et est partiellement absorbée par les composés chimiques présents dans l'échantillon. La lumière qui n'est pas absorbée continue à travers l'échantillon jusqu'à la détection.

- Détection de la lumière: la lumière transmise à travers l'échantillon est détectée par un photodétecteur qui mesure la quantité de lumière transmise à travers l'échantillon.
- Analyse des données: les données collectées par le photodétecteur sont analysées pour obtenir des informations sur les propriétés chimiques et physiques de l'échantillon, telles que la composition, la concentration, la structure moléculaire et les propriétés de surface.



Figure 13 : Schéma du principe de la spectroscopie proche infrarouge(25)

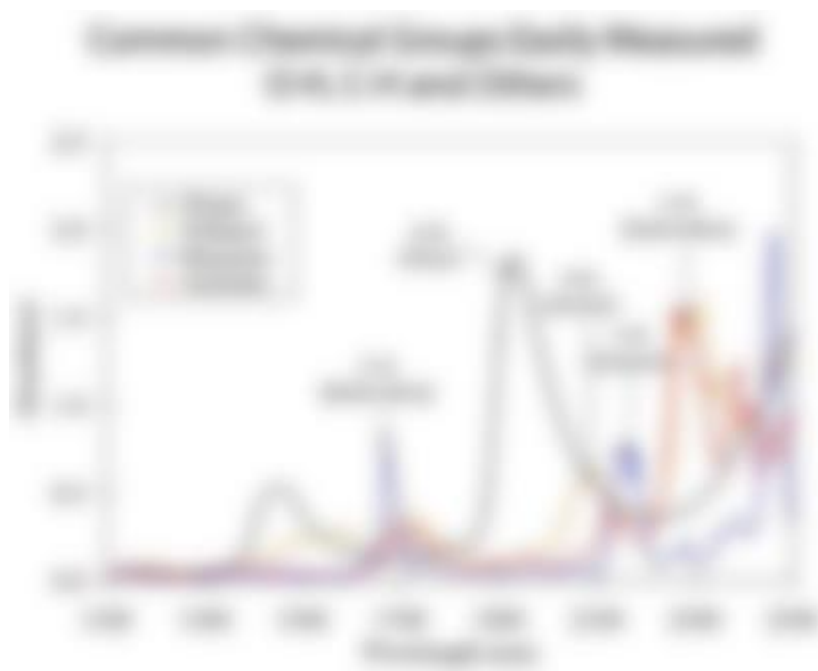
Plus précisément, c'est la vibration des molécules qui sera mesurée, et ce, lorsqu'elles sont excitées par le rayon infrarouge. Cette stimulation aura pour conséquence de faire passer les électrons des molécules en question sur les couches de valence supérieures disponibles. Ces passages à des niveaux vibrationnels plus élevés créent un signal, alors mesurable. C'est le principe de base de la spectroscopie. Le plus souvent, dans le cas des analyses de spectroscopie proche infrarouge, c'est la liaison entre deux atomes que l'on va étudier.

En effet, le principal type de vibration que l'on peut analyser en spectroscopie PIR est la vibration qui est exercée entre deux atomes, qui dépend à la fois de la masse de ces derniers et de la force du lien entre eux. Ainsi, chaque interaction est unique car elle a une fréquence différente et sera lue à une longueur d'onde dans le



spectre proche infrarouge qui lui est propre. De cette façon, on pourra détecter et reconnaître les liaisons X-H, où X est une molécule organique (C, N, O, S).

De plus, les liaisons émettent à des longueurs d'onde différentes en fonction de leur environnement : de cette manière, une liaison C-H dans un méthyle ou cette même liaison C-H dans un groupement aromatique seront différentes. Ainsi, grâce à la lecture des types de liaisons qui sont présentes ainsi que l'environnement dans lequel elles sont, on sera donc en mesure à l'aide de bibliothèques préalablement définies d'identifier des molécules entières. Ce principe est visible dans la figure 14 suivante :



*Figure 14 : Groupes chimiques mesurables par spectroscopie proche infrarouge(23)*

Les spectres proches infrarouge contiennent de précieuses informations sur les caractéristiques physico-chimiques des échantillons analysés, qu'il faut par la suite extraire afin de pouvoir les exploiter. C'est pourquoi l'interprétation des spectres complexes d'échantillons non préparés générés par la méthode NIR nécessite généralement l'utilisation de modèles de calibration chimiométrique. Selon Geladi, la chimiométrie est la « science de l'utilisation des méthodes mathématiques, statistiques et informatiques dans le but d'améliorer l'extraction des informations obtenues à partir des données analytiques ».

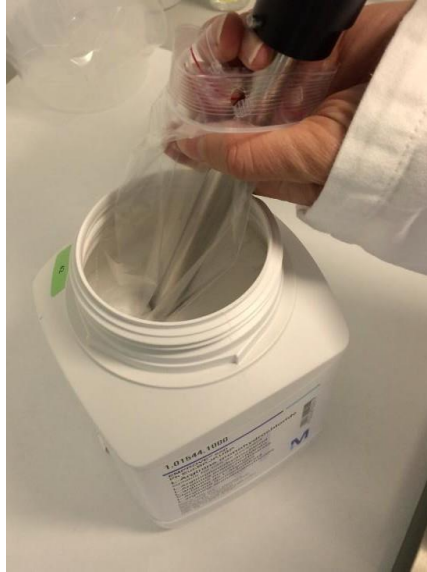
Ainsi, on est en mesure de développer des modèles à partir d'échantillons soigneusement sélectionnés (car considérés représentatifs), et qui nécessitent une qualification par des procédures analytiques de référence indépendantes (HPLC par exemple). Ces modèles ainsi définis permettent de comparer informatiquement avec les spectres obtenus lors de l'analyse, afin de pouvoir identifier formellement une substance si elle apparaît identique à un spectre que l'on a répertorié.

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) est souvent utilisée pour des applications au contrôle qualité, notamment pour des analyses qualitatives et quantitatives en industrie alimentaire, pharmaceutique et chimique.

### 3.2. Avantages

La SPIR se différencie des techniques analytiques classiques telles que l'HPLC ou la chromatographie en phase gazeuse sur de nombreux aspects :

- Rapidité : L'analyse en Spectroscopie PIR ne nécessite pas plus de quelques secondes afin de générer un résultat. De ce fait, elle permet de traiter rapidement un grand nombre d'échantillons.
- Simplicité : Contrairement à d'autres, cette méthode permet une identification sans avoir besoin de préparer les échantillons. De plus, elle peut fonctionner sur des formes pharmaceutiques différentes en fonction de la sonde présente (solides, liquides), couvrant ainsi une large gamme de produits. Enfin, elle offre la possibilité d'identifier au travers de contenants (sachet en plastique, flacon en verre) comme en figure 15, empêchant toute contamination du produit ou de l'opérateur.



*Figure 15 : Utilisation du spectromètre proche infrarouge*

- Economicité : La SPIR est une méthode qui est non destructive.
- Précision : Les bibliothèques spectrales étant très restrictives, il n'est pas possible d'obtenir d'identification qui serait « faussement positive », c'est-à-dire que si l'appareil nous indique une identification, on est certain qu'elle est vraie.

### 3.3. Inconvénients

Malgré ses nombreux avantages, la spectroscopie proche infrarouge possède tout de même quelques inconvénients.

Tout d'abord, cette méthode nécessite la mise en place de bibliothèques spectrales, ce qui peut s'avérer long et compliqué. Qui plus est, cette création des spectres de référence est un procédé critique et si précis qu'il peut entraîner des problèmes. En effet, il est normal d'observer quelques petites variations entre les échantillons, mais afin d'éviter les « faux positifs », il est nécessaire de bâtir une bibliothèque relativement restreinte. Cela peut donc avoir pour conséquence, dans certains cas, d'entraîner des non-conformités des échantillons par rapport à l'attendu, car ils possèdent des variations minimales mais assez importantes pour dévier des spectres de référence. De cette façon, il n'est pas rare de devoir mettre à jour les spectres régulièrement afin de couvrir l'ensemble des variations qui peuvent exister entre deux lots d'une même substance, ou qui peuvent survenir au cours du temps.

De plus, la SPIR nécessite de posséder une autre méthode d'identification de référence afin d'être en mesure de créer cette bibliothèque ; elle ne peut donc pas être l'unique technique d'identification présente sur un site de production.

Ensuite, cette méthode n'est en principe pas capable d'identifier des composés minéraux, limitant ainsi l'étendue des substances qu'elle est en mesure de traiter. Elle est par ailleurs inadaptée au dosage de traces et de résidus.

Enfin, la taille et l'orientation des poudres analysées en SPIR peut avoir une influence sur leur bonne identification. Il est donc nécessaire de surveiller la granulométrie des échantillons que l'on souhaite analyser par cette méthode.

## 4. Le transfert de méthode

### 4.1. Présentation

D'après le guide(26) sur le transfert de méthodes d'analyse de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), « le transfert de méthode est un processus qui consiste à transférer une méthode analytique préalablement validée d'un laboratoire émetteur à un laboratoire receveur et à s'assurer de la maîtrise de la méthode par le laboratoire receveur. » Il est également longuement décrit dans le chapitre « Technical transfer of testing methods » du chapitre 6 des GMP européennes dédié au contrôle qualité.

Ce procédé, observable figure 16, constitue une approche méthodologique visant à garantir pleinement la prise de décision concernant le transfert, ainsi qu'à identifier les éléments nécessaires à la mise en place au sein du laboratoire destinataire. L'objectif est d'assurer la fiabilité de la mise en œuvre de la méthode et de respecter les critères de validation liés au transfert. Cette procédure peut englober le transfert total ou partiel du protocole analytique associé à ladite méthode. De cette manière, un tel processus est particulièrement employé dans un contexte industriel, notamment lorsque l'objectif est de transférer une méthode élaborée par un laboratoire de recherche et développement vers des laboratoires en charge du contrôle qualité, qui se chargeront de son application de manière routinière.

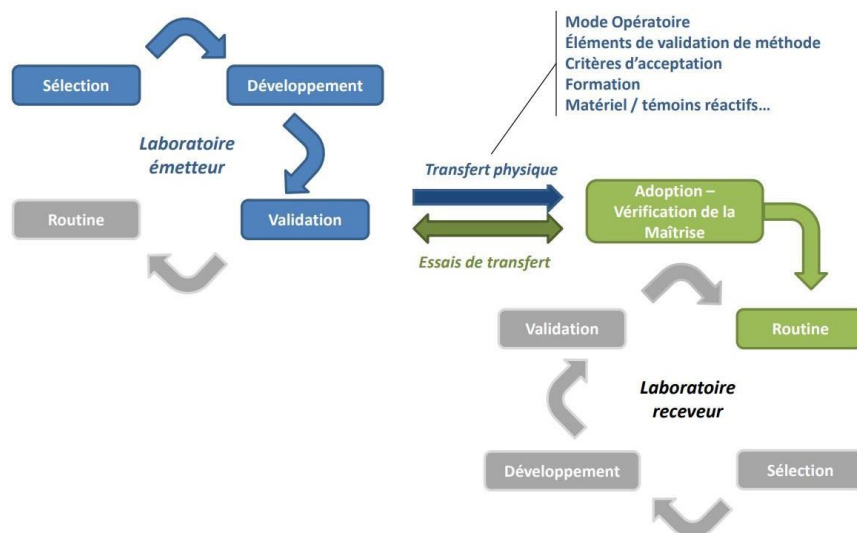


Figure 16 : Le cycle de vie du transfert de méthode(26)

Comme visible sur la figure 16, le processus de transfert se décline en 2 parties majeures :

- Le transfert dit « physique » de la méthode, à savoir des matériaux, équipements, réactifs, données ou connaissances nécessaires à la réalisation de l'analyse. Cela peut également englober les modes opératoires, critères d'acceptation, etc.
- Les essais de transfert : derrière cette appellation se trouve une vérification de maîtrise de la méthode par le laboratoire receveur. Ainsi, ce dernier met en œuvre la méthode, applique les différents protocoles de vérification et communique les résultats de ces essais au laboratoire émetteur. Ces mêmes résultats sont analysés afin de statuer sur la capacité du laboratoire receveur à mettre en œuvre la méthode et à la maîtriser conformément aux attendus.

#### 4.2. Méthodologie

D'après USP 37, General Information 1224: Transfer of analytical procedure, le transfert de méthode se fait de la sorte :

Tout d'abord, il est nécessaire d'établir et d'approuver un protocole de transfert. Ce dernier doit comporter les rôles et responsabilités de chacune des entités, de même que la stratégie globale de transfert. Il doit inclure le champ d'application, les équipements et matériaux utilisés, la procédure d'analyse ainsi que les critères d'acceptation de tous les tests inclus dans le transfert. Il peut également

être précisé dans le protocole la manière dont seront traitées les déviations par rapport aux critères d'acceptation.

Ensuite, il faudra prendre en compte certaines étapes clés. Ainsi, le laboratoire émetteur devra être en mesure de fournir toute la formation nécessaire au bon déroulé de l'analyse et du transfert. De son côté, le laboratoire receveur doit vérifier qu'il est compliant avec les réglementations et règlements généraux en matière de pratiques de laboratoire, et s'assurer qu'aucun problème n'existe en ce sens avant de signer le protocole de transfert.

Enfin, lorsque le transfert de méthode aura finalement eu lieu, les personnes impliquées rédigent un rapport de transfert qui décrit les résultats obtenus par rapport aux critères d'acceptation définis, de même que les conclusions qui en découlent quant à la capacité du laboratoire receveur à réaliser la procédure analytique. Dans le cas où les critères d'acceptation ne seraient pas remplis, le transfert ne pourrait être confirmé et une investigation devrait être menée afin de décider d'actions à mettre en place.

## PARTIE III : Le cas de l'insuline chez Novo Nordisk®

### 1. Introduction

#### 1.1. L'insuline

##### 1.1.1. Présentation

L'insuline est une hormone protéique essentielle au bon fonctionnement du corps humain. Sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas, elle joue un rôle crucial dans la régulation du métabolisme de l'organisme, car c'est elle qui régule la glycémie (taux de sucre dans le sang). En effet, elle permet au corps de réguler la manière dont il utilise le glucose, principal carburant énergétique des cellules.

##### 1.1.2. Structure de l'insuline

L'insuline est une hormone peptidique ; cela signifie qu'elle est composée d'une multitude d'acides aminés reliés entre eux. Comme on peut le voir sur la Figure 17, elle se compose de deux chaînes polypeptidiques, une chaîne A ainsi qu'une chaîne B, reliées entre elles par des ponts disulfures.

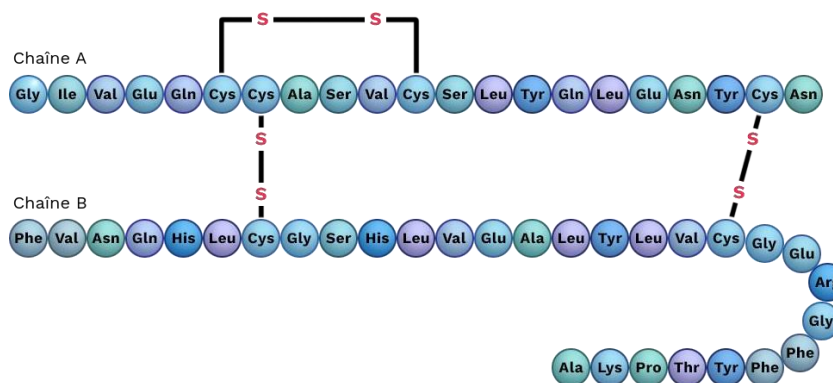


Figure 17 : Structure de l'insuline(27)

La chaîne A, composée de 21 acides aminés, est plus courte que la B qui en possède 30, et possède un pont disulfure intrachaîne. Ce dernier, comme les deux autres ponts interchaînes, est essentiel au maintien de la stabilité, de la conformation et de la structure tridimensionnelle de l'insuline. Cette structure est par ailleurs essentielle, car elle participe à déterminer l'activité biologique de la molécule.

Enfin, c'est une molécule qui est relativement fragile ; en effet, les préparations en contenant doivent être conservées au froid (2-8°C), sans être exposées ni à des

températures négatives, ni trop élevées (>25-30°C) afin de conserver leur intégrité et leur activité. De plus, c'est une molécule photosensible qui doit éviter le plus possible une exposition au soleil, et le contact avec l'oxygène, augmentant au fur et à mesure que le contenant se vide, a également un effet délétère sur l'efficacité de l'hormone.

### 1.1.3. *Activité de l'insuline et importance clinique*

L'insuline joue un rôle multiple dans la régulation du métabolisme des glucides, lipides et protéines. Lorsque la concentration de glucose sanguin augmente, notamment après un repas, les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas se mettent à produire puis libérer de l'insuline dans la circulation sanguine.

Cette dernière va agir sur plusieurs types de cellules(28) :

- Pour les cellules adipeuses et musculaires, elle va favoriser leur absorption de glucose. De plus, elle va également stimuler la conversion du glucose en glycogène (une forme de stockage du glucose) dans le foie et les muscles, diminuant ainsi la quantité de glucose dans le sang.
- Concernant le foie, l'insuline va empêcher la production hépatique de glucose et empêcher sa libération par le foie dans le sang.
- Pour les protéines et lipides, l'insuline va influencer la synthèse de protéines et favoriser le stockage des graisses en inhibant la lipolyse (dégradation des graisses stockées) et augmentant la lipogénèse (synthèse des lipides).

Ainsi par cette action multiple, qui stoppe la production de glucose par le foie et favorise sa mise en stock dans les cellules, la glycémie baisse. A l'inverse, à distance des repas, lorsque le taux d'insuline dans le sang devient moindre, le foie peut se mettre à libérer ses stocks de glucose (glycogénolyse), ainsi que se mettre à en produire de *novo* (néoglucogénèse).



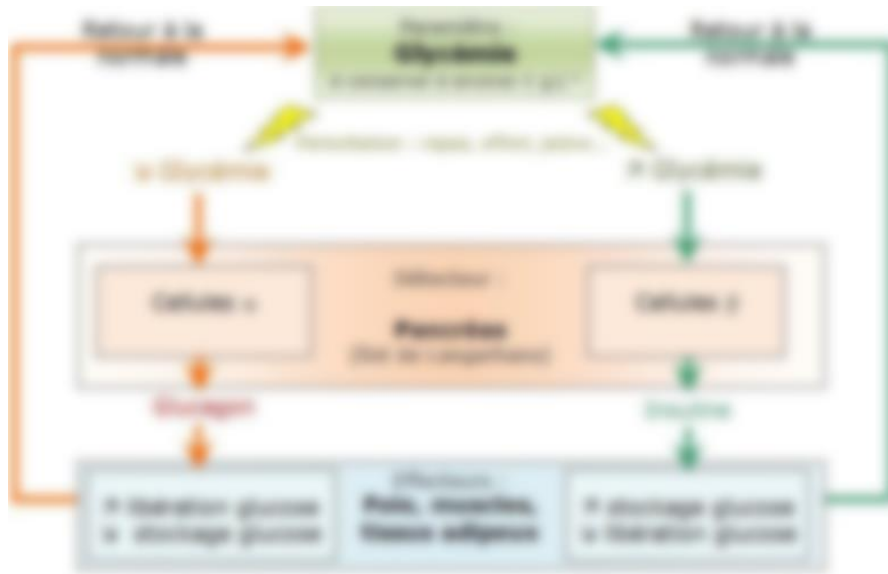


Figure 18 : Schéma de la régulation de la glycémie(29)

Ainsi, comme on peut voir dans la figure 18, l'insuline, tout comme le glucagon qui possède une action inverse, permet de réguler la glycémie et le métabolisme.

#### 1.1.4. Le diabète

Des dysfonctionnements liés à la production ou à la réponse des cellules à l'insuline existent ; ces derniers sont associés à des pathologies importantes, telles que le diabète, condition caractérisée par une hyperglycémie chronique.

Il en existe deux principaux types : les types 1 et 2.

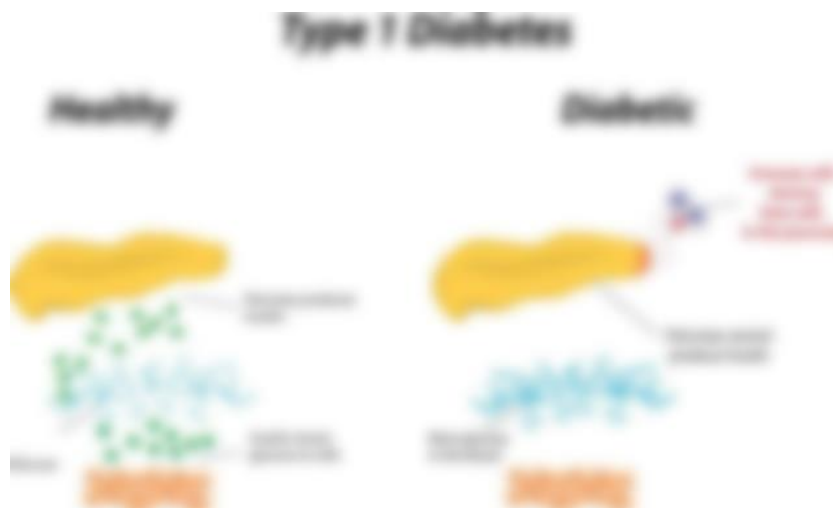
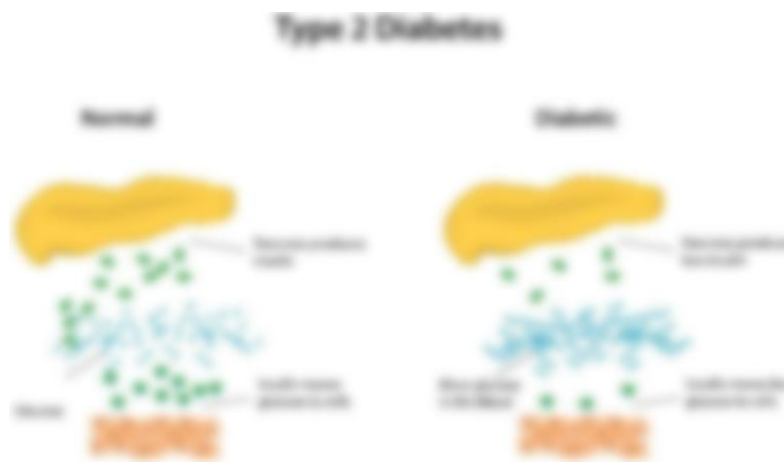


Figure 19 : Comparaison du fonctionnement d'un pancréas chez un patient sain et chez un patient atteint de diabète de type 1(30)

Dans le diabète de type 1 (figure 19), on observe une production insuffisante voire inexistante d'insuline. Il est le plus généralement causé par une pathologie d'origine auto-immune, qui conduit à la destruction progressive puis définitive des îlots de Langerhans. Cela est observable par la présence dans le sang d'anticorps dirigés contre ces cellules. Il était autrefois appelé diabète insulino-dépendant (ou DID) du fait que ceux en souffrant sont dans l'incapacité de produire de l'insuline et doivent par conséquent s'en injecter régulièrement.



*Figure 20 : Comparaison du fonctionnement d'un pancréas chez un patient sain et chez un patient atteint de diabète de type 2(31)*

Le diabète de type 2 (autrefois appelé diabète non-insulino dépendant, ou DNID) provient quant à lui d'une utilisation insuffisante de l'insuline par l'organisme (figure 20). Il se développe sur plusieurs années et peut être diagnostiqué tardivement. Il démarre par une première phase où les cellules de l'organisme vont résister à l'action de l'insuline. Cette « insulino-résistance » est physiologique, et augmente avec l'âge ou d'autres facteurs de risques hygiéno-diététiques, comme une alimentation trop riche et déséquilibrée ou un manque d'activité physique. Il est le plus généralement associé à un surpoids ou une obésité. En réponse à cette phase de résistance, l'organisme va essayer de compenser en sécrétant davantage d'insuline, pour pallier à la faible action de celle déjà présente et tenter de rétablir une glycémie correcte. C'est ce que l'on appelle l'hyperinsulinisme. Enfin, après un certain temps dans cette phase, le pancréas finit par s'épuiser et ne parvient plus à

sécréter suffisamment d'insuline pour réguler le taux d'insuline dans le sang. On parle alors d' « insulino-pénie » ou « insulino-déficience ».

Les symptômes du diabète sont multiples, et communs aux différents types de diabète, même si ils sont plus rares et moins marqués chez les patients souffrant de diabète de type 2. Les plus courants et spécifiques de l'hyperglycémie sont les suivants :

- Polydipsie (soif intense)
- Pollakiurie (envie fréquente d'uriner)
- Hyperphagie (augmentation de l'appétit) mais associée à un amaigrissement
- Asthénie
- Haleine cétonique

Cette dernière est due au fait que les corps cétoniques, à l'origine de la synthèse de l'insuline, vont être produits en quantité plus importante en réponse à la diminution de production de l'insuline. Ces corps cétoniques proviennent des tissus adipeux et de leur lipolyse, ce qui explique l'amaigrissement des personnes diabétiques. La présence trop importante de ces composés dans le sang peut avoir des conséquences dramatiques, pouvant mener jusqu'à un coma dit acidocétosique.

En conclusion, l'insuline est une molécule peptidique complexe qui joue un rôle essentiel dans la régulation de la glycémie et du métabolisme. Sa structure tridimensionnelle et son action biologique sont cruciales pour maintenir l'équilibre métabolique du corps humain.

#### *1.1.5. Les différents analogues de l'insuline*

Les analogues de l'insuline sont des substances conçues à partir de l'insuline produite naturellement par l'organisme afin d'améliorer la gestion de leur diabète par les personnes qui en souffrent. En effet, par des procédés de modification de leur composition, et notamment de leur séquence d'acides aminés, les analogues voient leurs propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques modifiées par rapport

à l'insuline traditionnelle ; c'est-à-dire que la manière dont ils sont absorbés, distribués, métabolisés et éliminés, ainsi que les interactions qu'ils peuvent avoir avec les différents récepteurs cellulaires sont changées.

La production de ces nouveaux types d'insuline a pour conséquence de changer la manière de traiter les pathologies qui nécessitent un traitement insulinique. Ainsi, il existe désormais des insulines qui sont absorbées rapidement au point d'injection et qui agissent plus rapidement et de manière plus marquée à court terme que l'insuline produite par notre organisme, dans le but de couvrir les besoins post-prandiaux en insuline, et d'autres analogues qui agissent plus lentement et plus longtemps, dans le but de maintenir un niveau basal constant d'insuline, notamment la nuit.

Cependant, malgré ces différences majeures de prescription et d'utilisation, ces analogues restent très similaires les uns des autres. C'est la raison pour laquelle il est important de pouvoir les discriminer les uns des autres, afin de produire le bon médicament avec la bonne molécule.

## 1.2. Présentation de l'entreprise

### 1.2.1. *Présentation globale*

Novo Nordisk® est une entreprise pharmaceutique, leader mondial du traitement du diabète par insuline, qui produit également des traitements contre l'obésité, l'hémophilie ou encore les troubles de la croissance. Laboratoire international, possédant son siège social à Bagsværd, au Danemark, il emploie plus de 47.000 personnes et commercialise dans 170 pays du monde des produits issus de ses 16 sites de production (répartis dans 9 pays), traitant ainsi plus de 34 millions de personnes dans le monde.

L'histoire de Novo Nordisk® débute en 1923, quand deux frères, Harald et Thorvald Pedersen, après avoir travaillé dans la production d'insuline chez *Nordisk Insulinlaboratorium*, se mettent à leur compte pour fabriquer leur propre insuline. En 1924, ils obtiennent une insuline stable : l'insuline Novo (figure 21). Ils ajoutent un moyen d'injection d'insuline confortable : la seringue Novo. Ainsi est créé *Novo Terapeutisk Laboratorium*.



Figure 21 : Communication de Novo Therapeutisk Laboratorium, 1935

De la fusion de ces deux entités naîtra en 1989 Novo Nordisk®, nouvelle entreprise déjà forte d'un savoir et d'une expertise de 100 ans.

A la tête de Novo Nordisk®, on trouve le CEO, qui est le directeur exécutif. Il est en charge de plusieurs entités, dont l'entité « Product Supply ». Cette dernière est en charge de l'approvisionnement des médicaments et comprend l'ensemble des étapes nécessaires à leur production, des étapes de planification de la jusqu'à la distribution du produit fini aux différents pays et filiales. Depuis quelques années, elle comprend également les services en charges de la qualité et de l'IT.

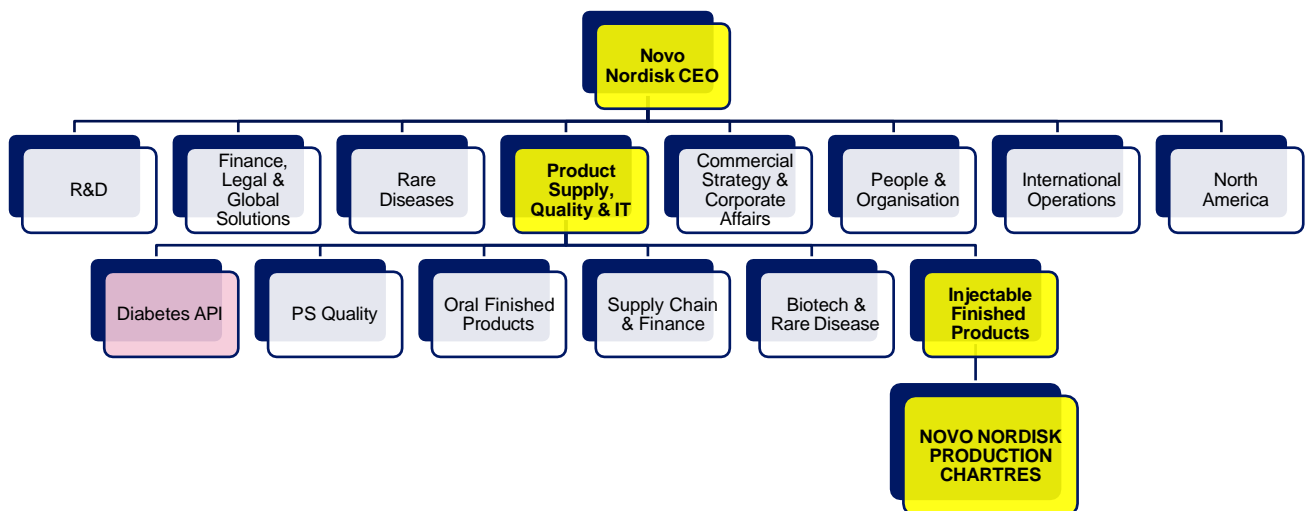


Figure 22 : Le site de Chartres dans l'organisation Novo Nordisk®

« Product Supply, Quality & IT » est également divisé en différentes unités, dont IFP : Injectable Finished Products, qui va produire l'ensemble des produits injectables pour Novo Nordisk® (figure 22).

IFP possède 7 sites de production dans le monde (figure 23), dont celui de Chartres.

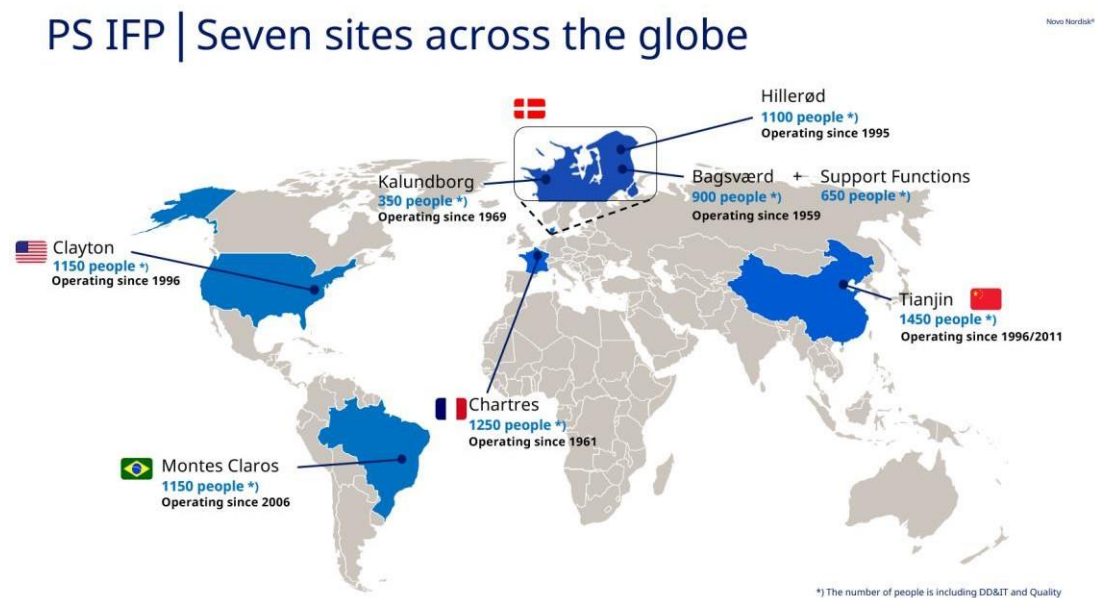


Figure 23 : Représentation des différents sites IFP dans le monde

### 1.2.2. Le site IFP de Chartres

Novo Nordisk Production SAS est un site de production situé à Chartres qui emploie plus de 1250 employés. Il produit des flacons et des stylos injectables à destination de patients présents dans près de 80 pays. Créé en 1961, le site Novo Nordisk® Production (NNP) de Chartres (figure 24) ne cesse de s'agrandir, comptant même un nouveau bâtiment de production datant de 2021, un nouveau laboratoire de Contrôle Qualité inauguré en 2023, de nouvelles lignes de conditionnement prévues pour 2024, et de tout nouveaux bâtiments de production aseptique en cours de conception.



*Figure 24 : Photographie de 2020 du site de Chartres*

Le site fabrique un large panel de produits dont :

- L'insuline humaine : Actrapid®, Insulatard®, Protaphane®, Penmix®, Novolin®, Mixtard®, Actraphane®
- L'insuline aspart : Novorapid®, Novomix®
- L'insuline detemir : Levemir®
- L'insuline degludec : Tresiba®
- Les insulines biphasiques : Ryzodeg®

Mais également des produits non insuliniques, tels que les analogues du GLP-1 (ou Glucagon-Like Peptide 1) : Ozempic®, Wegovy®, Victoza®, Saxenda®

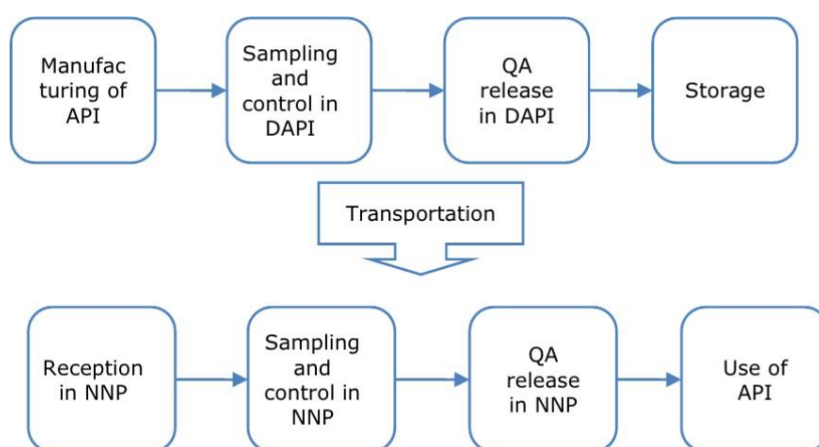
### *1.2.3. Le flux de l'insuline chez Novo Nordisk®*

Les matières premières, et notamment l'insuline, ne sont pas produites directement sur le site de Chartres, mais par l'entité « Diabetes Active Pharmaceutical Ingredients » (ou DAPI), dont les sites de production sont majoritairement situés au Danemark.

Le flux est ensuite le suivant : après avoir produit l'insuline, DAPI va elle-même réaliser les analyses de contrôle de la qualité de sa matière première, et la libérer. Pour des raisons logistiques, le site français est livré exclusivement par la filière DAPI du Danemark. Ainsi, après avoir été stocké plus ou moins longtemps au



Danemark, l'insuline est transportée à la filiale de Chartres. Il est ensuite à la charge de NNP de réaliser l'échantillonnage et le contrôle à réception de l'insuline reçue. Ce contrôle, comme décrit dans les spécifications internes de Novo Nordisk®, et qui est requis par les BPF comme vu précédemment, sera une vérification de l'identité du produit sur l'ensemble des contenants réceptionnés. Suite à ce contrôle, le service d'Assurance Qualité sera en charge de libérer l'API. Si les résultats d'identification sont conformes et que l'ensemble des analyses réalisées au Danemark donnent des résultats entrant dans les spécifications requises, alors le produit peut être approuvé et utilisé.



*Figure 25 : Flux et responsabilités associées de l'insuline chez Novo Nordisk®*

Afin de cadrer cette importation et de définir les rôles et responsabilités de chaque entité dans cette importation de substance active, les deux parties ont défini un « Service-Level-Agreement » (SLA), ou « Accord de niveau de service » (figure 25). Ainsi, DAPI s'engage à fabriquer, réaliser les contrôles après fabrication, libérer, et fournir au site de Chartres les CoA des lots d'insuline qu'il lui envoie. NNP sait ensuite qu'il est en charge de réceptionner, contrôler et libérer à nouveau ces mêmes lots selon les résultats du test d'identité à réception. Cet accord, dont le flux est visible en figure 25, garantit un haut niveau de qualité.

Une fois libérée localement par l'Assurance Qualité, à Chartres, l'insuline poursuivra dans son flux normal de production. Elle entrera dans le processus de formulation du médicament, qui servira à remplir des flacons ou des cartouches, qui seront inspectés, assemblés, conditionnés, avant d'être livrés dans le monde entier à l'ensemble des patients.



## 2. Planification et exécution du changement de méthode

### 2.1. Introduction

Dans le cadre de cette thèse, nous allons nous intéresser à un transfert de méthode analytique qui a eu lieu en 2022 sur le site Novo Nordisk® de Chartres. Cette analyse est utilisée afin d'identifier à réception l'insuline reçue depuis le Danemark sur le site, ce qui est une exigence réglementaire des BPF, partie I, chapitre 2.1.(1)

Dans ce cas, il va s'agir de l'implémentation de la méthode de Spectroscopie Proche Infrarouge afin de suppléer/remplacer la Chromatographie Liquide Haute Performance qui était auparavant exclusive à cette analyse d'identification sur le site. Ce transfert correspond uniquement à un transfert d'une méthode déjà existante et développée au global chez Novo Nordisk®, qui est ici validée localement.

### 2.2. Nécessité du changement

Ce changement intervient dans un contexte d'augmentation des volumes et de la production dans l'entreprise. Ainsi, il a été nécessaire de réfléchir à des solutions permettant de simplifier les analyses qui devinrent plus nombreuses.

C'est en ce sens que le passage de l'HPLC à la SPIR trouve tout son sens : en effet, comme décrit en partie II, la méthode de chromatographie d'origine est nettement plus difficile à utiliser, davantage sensible et nécessite un temps important pour la réaliser. De l'autre côté, la spectroscopie est simple, rapide et précise.

De plus, malgré la nécessité d'acheter un matériel coûteux pour cette nouvelle méthode, elle se révèle par la suite plus économique, car elle n'est pas destructive et permet même d'analyser à travers des conditionnements de transport, augmentant la simplicité et l'économie de produit.

Enfin, la SPIR ne nécessite pas de préparation de l'échantillon avant analyse, de devoir changer ou rincer les colonnes comme dans le cas de l'HPLC. De plus, elle permet de rendre disponibles les équipements nécessaires à la chromatographie, qui servent à de nombreuses analyses autres que l'identification de l'insuline à réception telles que :

- Identification et dosage de l'insuline, des excipients et des produits de dégradation dans le produit fini

- Homogénéité des produits insuliniques
- Analyse des Protéines de Haut Poids Moléculaire (HMWP)
- Analyse des substances apparentées
- Identification et dosage de produits différents de l'insuline, comme les analogues des GLP-1 (Semaglutide, Liraglutide)

Cela permet donc une réduction des besoins en équipement, et cette réduction du pool de chaînes HPLC permet de diminuer les opérations de maintenance et de préparation associées.

Pour ces nombreuses raisons, il a donc été décidé d'opérer ce changement sur le site de l'entreprise Novo Nordisk® de Chartres. Il va falloir, comme étudié précédemment, évaluer le changement plus globalement. Cela a pour but de mesurer proactivement l'impact de cette modification. C'est dans cette optique qu'une demande de changement (ou Change Request chez Novo Nordisk®) sera initiée.

### 2.3. Change Control

Cette demande de changement permet de faire un état des lieux de la situation actuelle et d'exprimer le changement désiré, ainsi que ce qui l'a motivé. De cette manière, on évalue ses conséquences au niveau des équipements, des produits ou encore des méthodes. Enfin, il faudra définir un plan d'exécution de ce changement, avec tout ce qu'il est nécessaire de faire pour le mener à bien.

Dans le cas de ce changement de méthode, il a été réuni une équipe pluridisciplinaire, composée d'experts en Contrôle Qualité, en validation ou en Assurance Qualité.

#### 2.3.1. *Etat actuel*

La première étape dans le processus de gestion des changements consiste à décrire l'état initial et la manière de procéder qui est déjà en place.

Dans notre cas, il a été expliqué que l'insuline reçue sur le site de Chartres était jusqu'à présent identifiée via 5 méthodes :

- Identification, dosage et protéines apparentées de l'insuline humaine
- Identification, dosage et pureté des produits à base d'insuline detemir
- Identification et pureté de l'insuline degludec dans les produits pharmaceutiques
- Identification, dosage et pureté de l'insuline aspart
- Identification et dosage du phénol, du métacrésol, de l'insuline degludec et dosage de l'insuline aspart

Ces méthodes sont celles de la Pharmacopée Européenne, de l'USP et de la JP, et reposent toutes sur le principe de l'HPLC.

De plus, le site possédait déjà un Spectromètre NIR, qui servait à identifier des matières premières.

#### 2.3.2. *Etat attendu*

Après avoir décrit l'état initial, il faut désormais expliquer l'état qui est attendu une fois que le changement sera mis en place, ainsi qu'un rationnel expliquant la raison pour laquelle cette modification est mise en place.

Dans notre cas, il a été dit que les insulines seraient désormais analysables via la SPIR, grâce à une méthode qui serait transférée et validée sur le site de Chartres. Cette méthode devra être créée dans le logiciel de gestion du laboratoire, le LIMS (Laboratory Inventory Management System).

Un changement dans les méthodes d'échantillonnage fera également évoluer la documentation décrivant le flux du laboratoire. En effet, l'insuline sera désormais directement échantillonnée sous flux laminaire avant d'être analysée, supprimant l'étape de transport et de changement de zone qui était présente avec l'HPLC.

L'objectif était d'être désormais en mesure de réaliser l'analyse d'identification sur les matières premières via spectroscopie proche infrarouge.

Les spécifications des produits sont déjà mis à jour par la maison mère afin d'inclure la possibilité d'analyser les produits via cette méthode ; cependant, la documentation liée à la libération sur le site de Chartres doit être mise à jour.

Les raisons évoquées pour justifier ce changement sont l'amélioration du flux analytique, la simplification du processus d'identification et d'approbation des matières premières.

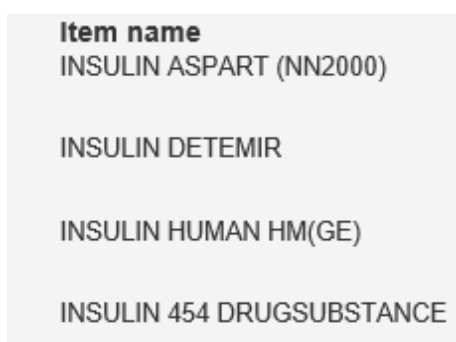
### 2.3.3. Analyse d'impact

Une fois la décision prise d'effectuer ce changement, il faut désormais étudier à quel niveau notre modification a eu une conséquence, dans le but de prévoir tout événement inattendu.

L'évaluation d'impact du changement est effectuée pour garantir que :

- La mise en œuvre du changement n'entraîne aucun impact négatif sur la qualité du produit ou la sécurité du patient.
- L'état validé des entités et des processus est maintenu.
- Les principes de gestion du risque qualité sont suivis et qu'un niveau adéquat de gestion du risque est appliqué en fonction de la criticité du changement.
- Les Affaires Règlementaires sont systématiquement informées lorsqu'un changement nécessite que des autorités ou organismes soient notifiés de ce changement.

D'abord, on cherche à savoir quels produits sont concernés par ce changement.



Item name
INSULIN ASPART (NN2000)
INSULIN DETEMIR
INSULIN HUMAN HM(GE)
INSULIN 454 DRUGSUBSTANCE

*Figure 26 : Produits impactés par le changement dans la CR*

Comme on peut le voir sur la figure 26, ce changement a un impact sur les 4 différents types d'insuline utilisés sur le site Novo Nordisk® de Chartres. En effet, cela va changer la manière de les analyser, et avec ceci la manière de les libérer.

Ensuite, on évalue l'impact sur les équipements ; étant donné que le spectromètre est déjà installé et qualifié, rien ne change sur l'équipement, il s'agit uniquement d'un changement de méthode. La seule modification est l'installation d'un logiciel dédié à l'identification des API. Cela nécessite tout de même la reformation des techniciens de laboratoire qui réalisent l'analyse.

De plus, on observe les conséquences de la modification sur la documentation. Ici, il y aura beaucoup de documents à modifier, tels que :

- La procédure décrivant le prélèvement des matières premières : elle inclura désormais la possibilité d'analyser les API en NIR en plus de l'HPLC.
- La méthode décrivant l'identification des matières premières par NIR : en plus de concerner des excipients, elle s'appliquera maintenant aux différentes insulines.
- Les différentes procédures de l'Assurance Qualité décrivant les étapes de revues et de libération de l'insuline après analyse devront être modifiées pour décrire cette nouvelle pratique.

Comme expliqué précédemment, les spécifications des produits sont établies pour l'ensemble des sites du groupe et donc étaient d'ores et déjà mises à jour.

Enfin, au niveau réglementaire, la méthode NIR étant une méthode valide selon la pharmacopée, aucun changement n'est à prévoir.

#### *2.3.4. Plan d'exécution*

Afin de mener à bien le projet, il faut définir quelles sont les étapes à réaliser et qui en est en charge. Ainsi, le plan d'exécution doit contenir la liste des activités nécessaires pour mettre le changement en place et qu'il fonctionne comme prévu. Il faut également s'assurer que les risques potentiels soient atténués ou éliminés, et qu'il n'est introduit aucun impact négatif involontaire sur la qualité du produit, la sécurité du patient, l'état validé ou la documentation réglementaire soumise aux autorités.

La première étape sera d'enregistrer et de valider la méthode NIR. Cela passera par l'approbation d'un protocole de transfert de méthode, puis son rapport.

Ensuite vient l'étape de mise à jour documentaire, qui comprend l'ensemble des méthodes et des procédures évoquées précédemment.

Après cela, il faudra former les différents analystes. Bien qu'ils soient habilités et habitués à utiliser l'équipement, une nouvelle méthode est déployée spécifiquement pour les API et nécessite une remise à niveau.

Enfin, une fois que tous les documents seront approuvés et applicables, et les techniciens et agents de laboratoires formés, il sera possible de débiter les analyses par NIR.

## 2.4. Transfert de la méthode

### 2.4.1. *Protocole du transfert*

Afin de réaliser le transfert de la méthode de spectroscopie infrarouge, il a d'abord fallu rédiger un protocole régissant les différentes étapes de réalisation de ce transfert, les procédures de tests ainsi que les différents rôles et responsabilités.

Ainsi, il est défini que ce transfert est convenu entre deux entités, Material Manufacturing Development, le laboratoire émetteur (situé au Danemark), et NNP, le laboratoire receveur. Il concerne l'identification de substances actives, à savoir les quatre types d'insulines utilisées chez Novo Nordisk® (humaine, aspart, detemir, degludec),

Pour commencer, le modèle NIR a dû être validé au Danemark, en utilisant le même matériel qui sera utilisé à Chartres. Cette validation a été réalisée selon la procédure Novo Nordisk® « Development and maintenance of NIR methods for the identification of raw materials ». Cette dernière s'appuie sur des lignes directrices et des pharmacopées de l'EMA et de la FDA.

Afin de réaliser cette identification, le protocole définit que les API doivent être disposés dans des flacons en verre afin d'y être analysés. Les paramètres de l'appareil sont constants et prédéfinis dans le protocole. Ainsi, on choisit la résolution, le nombre de scans, la portée ou encore le type de cellule de mesure.

Pour pouvoir réaliser l'analyse, il est important d'installer dans l'appareil les modèles chemométriques nécessaires à l'identification des substances. Pour développer ces « bibliothèques spectrales », la méthode SIMCA (Supervised Independent Modeling of Class Analogy) fut choisie. Il s'agit d'une méthode de classification de données. Ainsi, il existe un modèle par type de matière première, donc ici il fallut installer 4 modèles. Chaque modèle possède ses paramètres de portée, nombre de facteurs, etc, qui sont des données qui ont été validées lors du développement de la méthode et qui seront constantes lors des différentes mesures.

Lors d'une mesure, l'appareil va ainsi mesurer l'éloignement entre le composant mesuré et le modèle chemométrique. Si cette distance est inférieure au seuil de tolérance et que la substance mesurée correspond à la substance qui est effectivement attendue, alors le composant est identifié. Ces modèles sont suffisamment éloignés les uns des autres pour qu'il ne soit pas possible d'identifier une substance comme en étant une autre. Comme évoqué dans la partie ?, seuls des faux négatifs sont possibles.

Dans notre cas, ce transfert de bibliothèques ne fut pas très complexe, car l'appareil était déjà en place et validé. De plus, les modèles n'ont pas à être recréés spécifiquement pour le site de Chartres. En effet, le fait que chaque substance ne soit produite que par un seul site de production dans le monde permet de s'affranchir des variations qui pourraient avoir lieu entre les fabricants. Les mêmes modèles que les sites danois peuvent donc être utilisés.

Enfin, le fait que l'appareil soit déjà utilisé par les techniciens de laboratoires fait qu'il n'est pas nécessaire de prévoir d'habilitation complète ; une formation spécifique à la nouvelle méthode est suffisante.

#### *2.4.2. Réalisation du transfert*

Pour débiter, il a fallu transférer l'application permettant d'identifier les API dans l'équipement. Le dossier la contenant fut exporté du laboratoire émetteur, avant d'être installé sur le NIR du site de Chartres. Un protocole détaillé de cette manipulation a été rédigé puis suivi scrupuleusement. Cela fut suivi d'une série de tests ayant pour but de vérifier la bonne installation et le fonctionnement adéquat de l'application. On peut lire certains des critères ayant été évalués dans la figure 27.

<i>Test form 1 Instrument settings in NIR application</i>				
Parameter		Result	Acceptance criteria	Acceptance criteria met? Yes/No
Application name			API identification	
Measurement Cell			Fiber Optic Solids	
Number of scans			32	
Resolution (checked box = 8 cm <sup>-1</sup> )			Box for resolution is checked <input checked="" type="checkbox"/>	
Apodisation 1 Apodisation 2 Apodisation for interferogram			Blackman Blackman Blackman	
Transfilter			Box for transfilter unchecked <input type="checkbox"/>	
Datapoints			1501	
Lower wavenumber Limit			4000 cm <sup>-1</sup>	
Datapoint interval			4 cm <sup>-1</sup>	
External Reference Comparison			Box for external reference is checked <input checked="" type="checkbox"/>	
Maximum allowed deviation of the reference spectra			5	
Suitability test mode and interval			Interval ≤ 24 hours	
Measurement Cell				
External reference mode and interval			Interval ≤ 420 min (7 hours)	
Internal Reference mode			Interval	
Internal Reference Interval			30 min	
Performed by: _____			Link to raw data Encl. no.: _____	
Reviewed by: _____				

*Figure 27 : Feuille de test utilisée pour l'installation de l'application*

Afin de valider le transfert de la méthode, des essais sont réalisés sur les quatre types d'insuline. Chaque matière première sera testée sur 6 lots. Chacun de ces 6 lots sera échantillonné dans un flacon, puis mesuré 3 fois, avec un retournement du flacon entre chaque prise de mesure. Les résultats sont ensuite reportés sur une fiche de tests, comme visible en figure 28.



**Test form 1 Test forms for Insulin Human***Transfer to foreign site*

Procedure: Use six different batches of Insulin Human and one batch of Insulin Aspart, Detemir, Degludec.

Analyze each batch three times through the bottom of the glass vial (NSCA glass). Gently turn vial upside down between each repetition. Avoid air pockets

Test no.	Substance to be tested	Test condition	API Batch no	To be tested as	Acceptance criteria	Result: Identity OK/not OK	Result: Found substance	Acceptance criteria met? Yes/No	Link to raw data (encl. no.)
S1	Insulin Human ██████	Batch 1 Repetition 1		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				
S2	Insulin Human ██████	Batch 1: Repetition 2		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				
S3	Insulin Human ██████	Batch 1: Repetition 3		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				
S4	Insulin Human ██████	Batch 2: Repetition 1		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				
S5	Insulin Human ██████	Batch 2: Repetition 2		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				
S6	Insulin Human ██████	Batch 2: Repetition 3		Insulin Human ██████	Identity OK Found substance: Insulin Human				

*Figure 28 : Exemple de feuille de tests d'identification ; ici pour l'insuline humaine*

L'attendu est un résultat « OK » sur chacune des 3 mesures des 6 lots testés.

Pour s'assurer que le modèle n'est pas trop permissif et qu'il n'autorise pas l'identification d'autres insulines, il faut également tester les 3 autres types de matières premières. De cette manière, pour chacun des 4 types d'insuline, il a été mesuré un lot de chacun des 3 autres types de matière première, encore 3 fois chacun. Ici, contrairement aux tests précédents, les résultats attendus sont des absences d'identification ; en cherchant à identifier une sorte d'insuline, on ne peut pas avoir un résultat conforme pour aucun des autres types d'insuline. C'est pour cela que, comme visible dans la figure 29, le critère d'acceptation est ici d'obtenir des résultats « not OK » sur l'ensemble des substances testées.

**Test form 1 Test forms for Insulin Human***Transfer to foreign site*

Procedure: Use six different batches of Insulin Human and one batch of Insulin Aspart, Detemir, Degludec.

Analyze each batch three times through the bottom of the glass vial (NSCA glass). Gently turn vial upside down between each repetition. Avoid air pockets

Test no.	Substance to be tested	Test condition	API Batch no	To be tested as	Acceptance criteria	Result: Identity OK/not OK	Result: Found substance	Acceptance criteria met? Yes/No	Link to raw data (encl. no.)
S19	Insulin Aspart ████████	Batch 1 Repetition 1		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				
S20	Insulin Aspart ████████	Batch 1: Repetition 2		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				
S21	Insulin Aspart ████████	Batch 1: Repetition 3		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				
S22	Insulin Detemir ████████	Batch 1 Repetition 1		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				
S23	Insulin Detemir ████████	Batch 1: Repetition 2		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				
S24	Insulin Detemir ████████	Batch 1: Repetition 3		Insulin Human ████████	Identity not OK Found substance: ---				

*Figure 29 : Exemple de feuille de tests mesurant la spécificité ; ici pour l'insuline humaine*

Les différents analogues étant des molécules structurellement très proches, il est nécessaire de s'assurer que la méthode est sélective et qu'elle empêche tout faux positif : une identification faussement conforme d'une substance qui serait prise pour une autre.

#### 2.4.3. Rapport de transfert

Les tests ainsi effectués, il est désormais temps de conclure sur la validité du transfert.

En premier lieu, il faut vérifier que les critères d'acceptation sont remplis, à savoir que :

- Les 6 lots testés doivent ressortir conformes.
- Les composants différents (les autres insulines) doivent être détectés comme tels.
- Un jugement scientifique doit statuer du fait que visuellement, la variabilité inter-instrument n'affecte pas les spectres au point de compromettre la recevabilité des résultats.

Lors des tests, l'ensemble des insulines a été identifié correctement et la méthode était suffisamment sélective pour ne pas reconnaître les autres composés. De plus, les spectres analysés à Chartres sont suffisamment similaires à ceux du laboratoire émetteur pour conclure d'une absence de variation importante.

Le transfert est donc validé, la méthode NIR peut désormais être utilisée sur le site pour l'identification de l'insuline Humaine, de l'insuline Aspart, de l'insuline Degludec et de l'insuline Detemir.

### 3. Evaluation du changement

Une fois que l'impact a été évalué et le changement mis en place, il faut désormais l'évaluer. Cela se fait notamment via deux interrogations :

- Le changement a-t-il effectivement été mis en place comme prévu ?
- Un impact négatif a-t-il été introduit ?

Dans le cas étudié, cette évaluation n'a pas été concluante.

#### 3.1. Evaluation du transfert

Quelques semaines après ce transfert, il a été remarqué une apparition de plusieurs cas de résultats hors-spécifications :

- 2 échantillons OOS sur un lot d'insuline degludec
- L'ensemble des échantillons d'un lot d'insuline humaine analysé non-conforme
- Les échantillons de 6 lots entiers d'insuline detemir déclarés OOS.

#### 3.2. Investigation

Comme vu précédemment, ce genre de résultats entraîne l'initiation d'investigations laboratoire. Au cours de celles-ci, il a été exploré chaque cause potentielle ayant pu causer cette dérive dans les résultats.

En premier lieu, il faut vérifier que la manipulation humaine n'est pas à l'origine du résultat. Le technicien qui manipulait était effectivement formé, habitué à la méthode et avait reçu une reformation supplémentaire depuis la mise en place de la méthode. Ce dernier a rapporté n'avoir pas rencontré de problème particulier durant la manipulation, et lors de cette période où ont été observés des OOS associés aux lots d'insuline detemir, il a même contacté une autre analyste ainsi que l'expert local de

l'équipement, qui ont pu observer que la méthode était effectuée correctement. Cette cause fut donc écartée.

Ensuite, l'équipement fut inspecté. L'appareil était en état normal de fonctionnement, et le maintien de son état validé est vérifié mensuellement par le support contrôle qualité. Un test a été réalisé à l'aide de métacrésol, une autre matière première qui est analysée via spectroscopie depuis plus longtemps. Cet essai a été concluant pour l'ensemble des échantillons testés. L'origine est donc autre.

Par la suite, l'environnement a été vérifié. Cela compris aussi bien les matériaux utilisés pour l'analyse, à savoir les flacons en verre ou les outils jetables, qui sont les mêmes modèles que ceux utilisés sur d'autres analyses non problématiques. Il n'a pas non plus été observé d'excursion de température dans le monitoring de la salle et le dispositif de production d'un flux d'air laminaire servant au maintien de la propreté de la zone d'échantillonnage était bien en fonctionnement.

De plus, les échantillons avaient été d'ores et déjà analysés au sein du laboratoire fabricant au Danemark, et libérés par l'Assurance Qualité locale. Ces résultats sont donc incohérents et la problématique est extérieure au produit.

Enfin, la piste restante est celle de la méthode. Cela est assez cohérent étant donné le caractère récent de la mise en place de celle-ci.

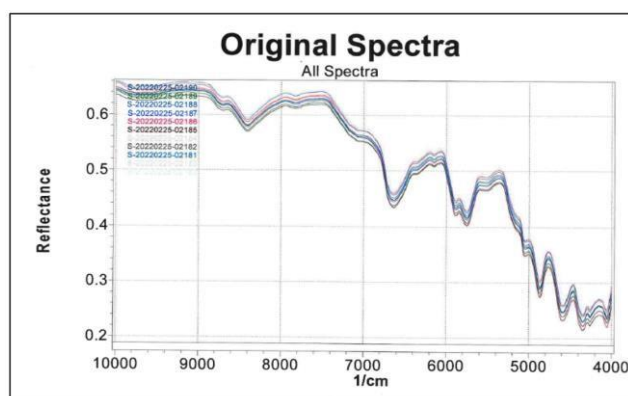
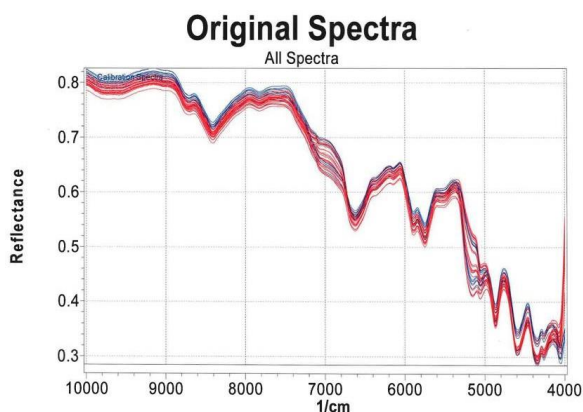


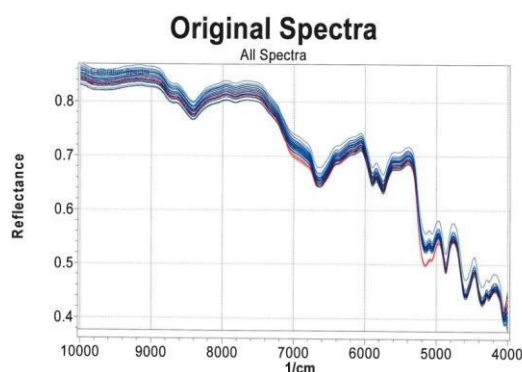
Figure 30 : Spectres de la séquence d'insuline degludec

Lorsque l'on observe l'aspect de l'ensemble des spectres, figures 30 à 32, pour les 3 types d'insulines testées, il n'apparaît aucune différence nette entre les spectres identifiés comme conformes et les spectres OOS.



*Figure 31 : Spectres de la séquence d'insuline detemir*

En effet, ces 3 graphiques ne montrent pas de différence visuelle flagrante sur les spectres non reconnus par la méthode. De plus, afin d'être en mesure de libérer les lots, ces matières premières ont été par la suite analysées via HPLC, autre méthode de référence de la Pharmacopée Européenne, qui a confirmé leur identité.



*Figure 32 : Spectres de la séquence d'insuline humaine*

Cela appuie donc la théorie selon laquelle le modèle serait trop strict, et n'aurait pas permis l'identification bien que les produits aient été conformes.

L'experte NIR de l'entreprise, basée au Danemark, a donc été contactée. Cette dernière a confirmé l'hypothèse d'un modèle insuffisamment mature, causant une production de résultats faussement négatifs.

### 3.3. Mise en place

A la suite des 3 investigations laboratoires, il a été conclu que les OOS provenaient effectivement de causes liées à l'analyse, et plus particulièrement à la méthode et au modèle NIR. Une déviation a donc été formalisée afin de mettre en place des actions afin de maîtriser et de corriger les causes de non-conformités.

En premier lieu, il a été décidé, comme évoqué dans la partie précédente, d'analyser les lots par chromatographie, afin de permettre de ne pas bloquer le flux de production et de continuer à fournir les patients. Cela a par ailleurs permis d'affirmer que les matières premières étaient correctement identifiées.

Enfin, l'action correctrice fondamentale fut de mettre à jour le modèle NIR. En effet, il a été conclu que l'immaturité de la bibliothèque spectrale ne permettait pas de prendre en compte l'ensemble des variations internes à un type d'insuline. En souhaitant éviter absolument qu'une matière première ne soit identifiée comme étant une autre, les modèles furent conçus pour être très restrictifs ; cela a pu entraîner des faux négatifs à cause de changements de granulométrie, de différences de quantité dans le flacon, ou simplement de différences minimales normales entre les lots.

Ainsi, afin de nourrir le modèle mathématique, une collecte de données a été initiée, et une revalidation du modèle a dû être réalisée, de la même manière que le précédent.

La validation de ce nouveau modèle NIR a été réalisée par l'entité principale, Material Manufacturing Development, puis la méthode fut à nouveau transférée sur le site de Chartres fin 2022.

## Conclusion

Bien que ce changement ait été mené jusqu'au bout et le transfert effectué, il ne donna pas entièrement satisfaction. En effet, après quelques semaines et la constatation de plusieurs résultats hors-spécifications, il fut décidé de stopper l'utilisation de l'appareil afin de pouvoir investiguer. La conclusion de ces investigations désigna les modèles d'identification comme étant à l'origine de ces perturbations. En effet, les différentes substances analysées sont tellement proches structurellement, qu'il est nécessaire de concevoir des modèles qui soient suffisamment éloignés pour éviter de confondre un type d'insuline avec un autre. Cela a malheureusement pour conséquence de les rendre exigeants et restreints, et de produire des résultats faussement négatifs.

A la suite de ces conclusions, il fut décidé d'intégrer plus de spectres provenant du site de Chartres ; en effet, si l'on prend par exemple le précédent modèle de l'insuline humaine, il ne comportait dans sa bibliothèque de 119 spectres que 3 provenant du site eurélien. Cette faible représentativité ne permettait ainsi pas de prendre en compte les variabilités propres au site de production et à l'équipement de Novo Nordisk Production.

A la suite d'une collecte de données et de l'ajout de spectres produits sur place, il fallut réitérer la même manipulation : à savoir transférer les modèles créés par la maison-mère au Danemark.

Quelques mois après ce deuxième transfert, il n'est encore pas rare aujourd'hui d'obtenir des résultats hors-spécifications. Cela démontre que malgré les nombreux avantages de cette méthode, elle reste, à cause de sa précision, sensible à des légères variations qui lui empêchent de fournir des résultats constants.

La difficulté rencontrée actuellement sur le site réside dans le fait que l'entreprise Novo Nordisk® est une entreprise internationale, et que ce paramètre oblige une collaboration de l'ensemble des sites de production répartis à travers le globe. Devoir concevoir des modèles qui satisfont chacun des laboratoires, en prenant en compte les différences inhérentes à chacun, est un défi colossal qui est encore en cours de réalisation.

## Bibliographie

1. ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé). Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
2. Légifrance. Code de la Santé Publique : chapitre VIII : Matières premières à usage pharmaceutique. Article L5138-1 [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000006690166/2010-02-26#:~:text=Toute%20activit%C3%A9%20de%20fabrication%2C%20d,sanitaire%20des%20produits%20de%20sant%C3%A9](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006690166/2010-02-26#:~:text=Toute%20activit%C3%A9%20de%20fabrication%2C%20d,sanitaire%20des%20produits%20de%20sant%C3%A9).
3. Légifrance. Directive européenne 2011/62/UE du Parlement Européen et du Conseil du 8 juin 2011 modifiant la directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain, en ce qui concerne la prévention de l'introduction dans la chaîne d'approvisionnement légale de médicaments falsifiés [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000024315056#:~:text=%2FCE%20...-Directive%202011%2F62%2FUE%20du%20Parlement%20europ%C3%A9en%20et%20du%20Conseil,approvisionnement%20l%C3%A9gal%20de%20m%C3%A9dicaments%20falsifi%C3%A9s>
4. Légifrance. Code de la Santé Publique : Chapitre Ier : Dispositions Générales. Article L5121-5 [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000006689884/2009-07-23#:~:text=La%20pr%C3%A9paration%2C%20l'importation%2C,et%20des%20produits%20de%20sant%C3%A9](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006689884/2009-07-23#:~:text=La%20pr%C3%A9paration%2C%20l'importation%2C,et%20des%20produits%20de%20sant%C3%A9).
5. Légifrance. Code de la Santé Publique : chapitre VIII : Matières premières à usage pharmaceutique. Article L5138-3 [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000045404937/2022-07-31](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000045404937/2022-07-31)
6. European Medicines Agency. Good Manufacturing Practices [Internet]. [cité 14 août 2023]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice>
7. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Good manufacturing practice guide for active pharmaceutical ingredients Q7 [Internet]. [cité 12 août 2023]. Disponible sur: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q7%20Guideline.pdf>
8. logistique pour tous. Un outil qualité... le diagramme d'Ishikawa ! [Internet]. [cité 27 juill 2023]. Disponible sur: <https://logistique-pour-tous.fr/wp-content/uploads/2016/03/5M.jpg>
9. European Medicines Agency. ICH guideline Q9 (R1) on quality risk management [Internet]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific->



guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use\_en-17.pdf

10. Conseil de l'Europe. Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé. Pharmacopée européenne. Strasbourg, France: Maisonneuve;2023.
11. Légifrance. Code de la Santé Publique: chapitre VIII : Matières premières à usage pharmaceutique. Article L5138-5 [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000026809104](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000026809104)
12. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Quality Risk Management Q9(R1) [Internet]. [cité 15 août 2023]. Disponible sur: [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_Q9%28R1%29\\_Guideline\\_Step4\\_2023\\_0126\\_0.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2023_0126_0.pdf)
13. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Pharmaceutical Quality/Manufacturing Standards Current Good Manufacturing Practice. Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production Guidance for Industry [Internet]. [cité 26 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/158416/download>
14. Guyomard S. Traitement des résultats hors spécification (OOS). La Vague. mars 2010;29: I-VIII.
15. ECHA (European Chemicals Agency). Identification des substances [Internet]. [cité 14 mai 2023]. Disponible sur: <https://echa.europa.eu/fr/regulations/reach/substance-identity>
16. ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé). Bonnes pratiques de laboratoire [Internet]. [cité 16 mai 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/reference/bonnes-pratiques-de-laboratoire>
17. Légifrance. Arrêté du 14 mars 2000 relatif aux bonnes pratiques de laboratoire [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000000568998>
18. Légifrance. Directive 2004/10/CE du Parlement Européen et du Conseil du 11 février 2004 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à l'application des principes de bonnes pratiques de laboratoire et au contrôle de leur application pour les essais sur les substances chimiques [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004L0010&rid=1>
19. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH Q14: Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation [Internet]. [cité 15 août 2023]. Disponible sur: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q2R2-Q14\\_EWG\\_Concept\\_Paper.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q2R2-Q14_EWG_Concept_Paper.pdf)

20. ISO (International Organization for Standardization). Norme ISO/IEC 17025 : Laboratoires d'étalonnages et d'essais [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/ISO-IEC-17025-testing-and-calibration-laboratories.html>
21. Waters. Comment fonctionne la chromatographie liquide haute performance, ou HPLC ? [Internet]. [cité 11 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.waters.com/nextgen/fr/fr/education/primers/beginner-s-guide-to-liquid-chromatography/how-does-high-performance-liquid-chromatography-work.html>
22. Chimactiv. Quelles sont les bases de l'HPLC ? [Internet]. [cité 14 mai 2023]. Disponible sur: <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/bases/hplc/theorie-illustree/5>
23. Kpmanalytics. Mesures dans le proche infrarouge - Comment fonctionnent-elles ? [Internet]. [cité 25 août 2023]. Disponible sur: <https://www.kpmanalytics.com/articles-insights/near-infrared-measurements-how-do-they-work>
24. Davies AMC. An introduction to near infrared (NIR) spectroscopy [Internet]. [cité 16 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.impopen.com/introduction-near-infrared-nir-spectroscopy>
25. Davrieux F, Bastianelli D, Thuriès L. La spectrométrie dans le proche infrarouge, présentation générale : théorie, principes et applications. [Internet]. [cité 14 mai 2023]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/186038/>
26. ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). Guide sur le transfert de méthodes d'analyse [Internet]. [cité 14 août 2023]. Disponible sur: [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_GuideTMA2018.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideTMA2018.pdf)
27. Labster Theory. La structure de l'insuline [Internet]. [cité 18 août 2023]. Disponible sur: <https://theory.labster.com/insuline-structure-fr/>
28. Sonksen P, Sonksen J. Insulin: understanding its action in health and disease. *Br J Anaesth*. juill 2000;85(1):69-79.
29. bacdefrancais.net. La régulation de la glycémie [Internet]. [cité 12 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.svt-biologie-premiere.bacdefrancais.net/regulation-glycemie.php>
30. Gomez E. Causes of Type 1 Diabetes [Internet]. [cité 12 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.diabetesdaily.com/learn-about-diabetes/basics/what-is-type-1-diabetes/causes-of-type-1-diabetes/>
31. Diabetes News Journal. Type 2 Diabetes is Lower in People with a Family History of High Cholesterol [Internet]. [cité 25 août 2023]. Disponible sur: <https://diabetesnewsjournal.com/2015/03/20/type-2-diabetes-is-lower-in-people-with-a-family-history-of-high-cholesterol/>

## Table des abréviations

ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de Santé
API	Active Pharmaceutical Ingredient
AQ = QA	Assurance Qualité = Quality Assurance
ATP	Analytical Target Profile
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
BPL	Bonnes Pratiques de Laboratoire
CAPA	Corrective Actions Preventive Actions
CEO	Chief Executive Officer
CoA	Certificate of Analysis
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CR	Change Request
CSP	Code de la Santé Publique
DAPI	Diabetes Active Pharmaceutical Ingredient
DEQM	Direction Européenne de la Qualité du Médicament et soins de santé
DID	Diabète Insulino-Dépendant
DNID	Diabète Non Insulino-Dépendant
ECHA	European CHemicals Agency
EMA	European Medicines Agency
EPI	Equipements de Protection Individuelle
FDA	Food and Drug Administration
GLP-1	Glucagon-Like Peptide 1
GMP	Good Manufacturing Practices
HMWP	High Molecular Weight Proteins = Protéines de Haut Poids Moléculaire
HPLC = CLHP	High Performance Liquid Chromatography = Chromatographie Liquide Haute Performance
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
IFP	Injectable Finished Products
IT	Information Technology
JP	Japanese Pharmacopoeia
L.D.	Ligne Directrice
NNP	Novo Nordisk® Production

OOS	Out Of Specifications
PS	Product Supply
REACH	Registration, Evaluation, Authorization and restriction of CHemicals = Enregistrement, évaluation et autorisation des produits chimiques
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SAS	Société par Actions Simplifiée
SIMCA	Supervised Independent Modeling of Class Analogy
SLA	Service-Level Agreement
(S(P))IR = NIR(S)	(Spectroscopie (Proche)) Infra-Rouge = Near InfraRed (Spectroscopy)
SST	System Suitability Test
UE	Union Européenne
USP	United States Pharmacopoeia
UV	Ultra-Violet

## Table des figures

Figure 1 : Flux des substances actives .....	4
Figure 2 : Diagramme d'Ishikawa(8) .....	7
Figure 3 : Equipements de Protection Individuelle .....	9
Figure 4 : Schématisation de la gestion des risques selon l'ICH Q9(9).....	12
Figure 5 : Schématisation du processus de Change Control .....	13
Figure 6 : Schématisation du processus de CAPA.....	14
Figure 7 : Flux de traitement des résultats Out-Of-Specifications(14) .....	18
Figure 8 : Flux de l'analyse des substances actives .....	19
Figure 9 : Schématisation d'un montage HPLC(21) .....	29
Figure 10 : Exemple de chromatogramme(22) .....	30
Figure 11 : Représentation d'un pic de chromatogramme(22) .....	31
Figure 12 : Représentation de la région proche infrarouge sur le spectre(23).....	33
Figure 13 : Schéma du principe de la spectroscopie proche infrarouge(25).....	34
Figure 14 : Groupes chimiques mesurables par spectroscopie proche infrarouge(23) .....	35
Figure 15 : Utilisation du spectromètre proche infrarouge.....	37
Figure 16 : Le cycle de vie du transfert de méthode(26) .....	39
Figure 17 : Structure de l'insuline(27).....	41
Figure 18 : Schéma de la régulation de la glycémie(29) .....	43
Figure 19 : Comparaison du fonctionnement d'un pancréas chez un patient sain et chez un patient atteint de diabète de type 1(30) .....	43
Figure 20 : Comparaison du fonctionnement d'un pancréas chez un patient sain et chez un patient atteint de diabète de type 2(31) .....	44
Figure 21 : Communication de Novo Terapeutisk Laboratorium, 1935 .....	47
Figure 22 : Le site de Chartres dans l'organisation Novo Nordisk® .....	47
Figure 23 : Représentation des différents sites IFP dans le monde .....	48
Figure 24 : Photographie de 2020 du site de Chartres .....	49
Figure 25 : Flux et responsabilités associées de l'insuline chez Novo Nordisk® .....	50
Figure 26 : Produits impactés par le changement dans la CR .....	54
Figure 27 : Feuille de test utilisée pour l'installation de l'application.....	58
Figure 28 : Exemple de feuille de tests d'identification ; ici pour l'insuline humaine .	59

Figure 29 : Exemple de feuille de tests mesurant la spécificité ; ici pour l'insuline humaine.....	60
Figure 30 : Spectres de la séquence d'insuline degludec .....	62
Figure 31 : Spectres de la séquence d'insuline detemir .....	63
Figure 32 : Spectres de la séquence d'insuline humaine .....	63

## Table des matières

Introduction .....	1
PARTIE I : Cycle de vie et réglementation de la production des substances actives et de leur importation .....	2
1. Production de la substance active.....	4
1.1. Définition .....	4
1.2. Requis réglementaires.....	4
1.2.1. Code de la Santé Publique .....	4
1.2.2. Bonnes Pratiques de Fabrication .....	5
1.2.2.1. Matière .....	7
1.2.2.2. Main d'œuvre.....	8
1.2.2.3. Milieu .....	9
1.2.2.4. Matériel.....	10
1.2.2.5. Méthode .....	11
2. Analyse de la substance active .....	15
2.1. Introduction.....	15
2.2. Spécifications .....	15
2.3. Pharmacopée Européenne.....	15
2.4. Certificat d'analyse .....	16
2.5. Le cas de l'importation de substance active en France.....	16
2.6. Traitement des résultats Out-Of-Specifications (OOS) .....	17
3. Transport et stockage .....	19
3.1. Introduction.....	19
3.2. Requis réglementaires.....	20
4. Libération .....	20
PARTIE II : Le transfert de méthode analytique .....	22
1. Méthode analytique d'identification des substances actives.....	22
1.1. Définition .....	22
1.2. Exigences réglementaires associées aux méthodes analytiques d'identification.....	22
1.3. Développement d'une méthode analytique .....	23
1.3.1. Approche minimale .....	23
1.3.2. Approche améliorée.....	24
1.4. Validation de la méthode .....	25

1.5. Les principales méthodes analytiques d'identification .....	26
2. La Chromatographie en phase Liquide Haute Performance (HPLC) .....	28
2.1. Présentation .....	28
2.2. Avantages .....	31
2.3. Inconvénients .....	32
3. La Spectroscopie Proche Infrarouge (SPIR) .....	33
3.1. Présentation .....	33
3.2. Avantages .....	36
3.3. Inconvénients .....	37
4. Le transfert de méthode .....	38
4.1. Présentation .....	38
4.2. Méthodologie .....	39
PARTIE III : Le cas de l'insuline chez Novo Nordisk®.....	41
1. Introduction .....	41
1.1. L'insuline .....	41
1.1.1. Présentation.....	41
1.1.2. Structure de l'insuline .....	41
1.1.3. Activité de l'insuline et importance clinique .....	42
1.1.4. Le diabète .....	43
1.1.5. Les différents analogues de l'insuline .....	45
1.2. Présentation de l'entreprise .....	46
1.2.1. Présentation globale .....	46
1.2.2. Le site IFP de Chartres .....	48
1.2.3. Le flux de l'insuline chez Novo Nordisk® .....	49
2. Planification et exécution du changement de méthode .....	51
2.1. Introduction.....	51
2.2. Nécessité du changement .....	51
2.3. Change Control .....	52
2.3.1. Etat actuel.....	52
2.3.2. Etat attendu .....	53
2.3.3. Analyse d'impact .....	54
2.3.4. Plan d'exécution .....	55
2.4. Transfert de la méthode .....	56
2.4.1. Protocole du transfert.....	56
2.4.2. Réalisation du transfert .....	57



2.4.3. Rapport de transfert .....	60
3. Evaluation du changement.....	61
3.1. Evaluation du transfert.....	61
3.2. Investigation .....	61
3.3. Mise en place .....	63
Conclusion .....	65
Bibliographie.....	66
Table des abréviations.....	69
Table des figures .....	71

THIERY Clément - Méthodes d'identification des substances actives : le cas du transfert de méthode, application à l'insuline chez Novo Nordisk

**Thèse d'exercice : Pharmacie : Reims : 2022-2023**

## RESUME

Sur un site de production pharmaceutique, il est courant de se procurer la matière première chez un fournisseur qui la produit en amont. Dans un souci de traçabilité et d'assurance de la qualité du produit, il est requis d'analyser ces substances actives à réception, afin d'en vérifier l'identité. Dans un contexte d'augmentation des volumes de production et une volonté de simplification des procédés, il a été décidé sur le site Novo Nordisk® de Chartres de changer cette méthode d'identification, de la Chromatographie Liquide Haute Performance à la Spectroscopie Proche Infrarouge. Ce travail de thèse se propose d'étudier le transfert de cette méthode entre l'entité qui l'a conçu et le site de production de Chartres, la méthodologie utilisée, les défis rencontrés, et de faire un bilan de ce changement.

## MOTS-CLES

- Analyse
- Méthodes
- Gestion du changement
- Chromatographie
- Analyse spectrale
- Insuline

## JURY

Présidente / Directrice : Mme EDWARDS-LEVY Florence

Assesseur(s) : M. BELJEBBAR Abdelilah

Mme HENAULT Laure

Mme HAMSIS Fatima