

 Ce contenu a été archivé le 24 juin 2013.

Information archivée dans le Web

Information archivée dans le Web à des fins de consultation, de recherche ou de tenue de documents. Cette dernière n'a aucunement été modifiée ni mise à jour depuis sa date de mise en archive. Les pages archivées dans le Web ne sont pas assujetties aux normes qui s'appliquent aux sites Web du gouvernement du Canada. Conformément à la [Politique de communication du gouvernement du Canada](#), vous pouvez demander de recevoir cette information dans tout autre format de rechange à la page « [Contactez-nous](#) ».

AVIS

Notre référence
01-118655-734

J'ai le plaisir de vous informer de la publication de la ligne directrice de l' *ICH**/Santé Canada, intitulée **Spécifications: Méthodes analytiques et critères d'approbation pour les produits biologiques et issus de la biotechnologie ICH thème Q6B**.

Cette ligne directrice a été élaborée par un groupe d'experts de l'ICH et a fait l'objet de consultations, menées par les organismes de réglementation, conformément au processus de l'ICH. Le Comité directeur de l'ICH en a approuvé la version finale et en a recommandé l'adoption par les organismes de réglementation de l'Union européenne, du Japon et des États-Unis.

En adoptant cette ligne directrice de l'ICH, Santé Canada fait siens les principes et les pratiques qui y sont énoncés. Ce document être lu en parallèle avec la lettre d'accompagnement et les sections pertinentes des autres lignes directrices qui s'appliquent.

Il est généralement admis que la portée et l'objet des lignes directrices actuelles de Santé Canada peuvent ne pas toujours correspondre en totalité à ceux des lignes directrices de l'ICH introduites dans le cadre de l'engagement de Santé Canada envers l'harmonisation à l'échelle internationale et du Processus de l'ICH. Dans des circonstances de ce genre, les lignes directrices de l'ICH adoptées par Santé Canada auront préséance.

Santé Canada a pris l'engagement d'éliminer ces incohérences par la mise en oeuvre d'un plan de travail graduel qui examinera l'impact lié à l'adoption des lignes directrices de l'ICH. Ce processus aboutira à la modification ou, si les révisions à apporter sont trop nombreuses, au retrait de certaines lignes directrices du PPT.

Ces lignes directrices et d'autres documents d'orientation sont actuellement accessibles sur **le site Web de la Direction des produits thérapeutiques et de la Direction des produits biologiques et des thérapies génétiques (<http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut>)**. Pour accéder à la liste des documents d'orientation offerts en copies papier, consulter le bon de commande des publications et des directives (accessible dans le site Web de la DPT) ou communiquer avec le coordonnateur ou la coordonnatrice des publications¹.

* *l' International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use*

¹ téléphone, au numéro (613) 954-6466; ou par courriel, à l'adresse publications_coordinator@hc-sc.gc.ca

Si vous avez des questions concernant cette ligne directrice, veuillez communiquer avec:

Directeur, Centre d'évaluation des produits biologiques et radiopharmaceutiques
Direction des produits biologiques et des thérapies génétiques
Santé Canada
Immeuble #6
Prè Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2

Téléphone: (613) 952-3605

Télécopieur: (613) 957-6302

Directeur, Centre d'évaluation des produits biologiques et radiopharmaceutiques a/s: anthony_ridgway@hc-sc.gc.ca



**LIGNE DIRECTRICE À L'INTENTION
DE L' INDUSTRIE**
**Spécifications: Méthodes analytiques et critères
d'approbation pour les produits biologiques et issus de
la biotechnologie**
ICH thème Q6B

Publication autorisée par le
ministre de la Santé

| | |
|---------------------|------------|
| Date d'approbation | 2001/12/20 |
| Date mis en vigueur | 2001/12/20 |

Notre Mission est d'aider les Canadiens et les Canadiennes à maintenir et à améliorer leur état de santé.

Santé Canada

Notre Mission: Faire en sorte que les médicaments, les instruments médicaux et les autres produits thérapeutiques disponibles au Canada soient sûrs, efficaces et de grande qualité et que les stupéfiants et drogues d'usage restreint ne fassent l'objet d'aucun abus et ne soient pas détournés de leurs usages légitimes.

*Direction générale des produits
de santé et de aliments*

**LE SITE WEB DE LA DIRECTION DES PRODUITS THÉRAPEUTIQUES / DIRECTION
DES PRODUITS BIOLOGIQUES ET DES THÉRAPIES GÉNÉTIQUES
(Web-PT)**

LAISSEZ VOTRE ORDINATEUR FAIRE LES RECHERCHES!

...Vous voulez savoir comment commercialiser un nouveau médicament?

...Vous souhaitez obtenir des renseignements au sujet du processus
de réglementation des médicaments?

...Vous voulez connaître quels sont les médicaments les plus récemment autorisés au Canada?

...Vous souhaitez avoir un accès direct à nos formulaires et à nos politiques?

...Vous voulez connaître quelles sont les contraintes en matière d' étiquetage des médicaments?

Vous pouvez obtenir ces renseignements et plusieurs autres en consultant

**le site web de la direction des produits thérapeutiques / direction des produits biologiques et
des thérapies génétiques**

à

www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut

© Ministre, Travaux publics et services gouvernementaux Canada 2001

Disponible au Canada par l'entremise de
Santé Canada - Publications
Edifice Brooke Claxton, L. A. #0913A
Pré Tunney
OTTAWA (Ontario)
K1A 0K9

téléphone : (613) 954-5995

télécopieur : (613) 941-5366

also available in English under the following Title: Specification: Test Procedures and
Acceptance Criteria for Biotechnological / Biological Products **ICH Topic Q6B**

NE de catalogue H42-2/67-24-2001F

ISBN 0-662-86592-8

AVANT-PROPOS

La présente ligne directrice a été élaborée par un groupe d'experts de l'ICH et a fait l'objet de consultations, menées par les organismes de réglementation, conformément au processus de l'ICH. Le Comité directeur de l'ICH en a approuvé la version finale et en a recommandé l'adoption par les organismes de réglementation de l'Union européenne, du Japon et des États-Unis.

En adoptant cette ligne directrice de l'ICH, Santé Canada fait siens les principes et les pratiques qui y sont énoncés. Ce document être lu en parallèle avec la lettre d'accompagnement et les sections pertinentes des autres lignes directrices qui s'appliquent.

Les lignes directrices sont des documents destinés à guider l'industrie et les professionnels de la santé sur la **façon** de se conformer aux politiques de Santé Canada et aux lois et règlements qui régissent leurs activités. Elles servent également de guide au personnel lors de l'évaluation et de la vérification de la conformité et permettent ainsi d'appliquer les mandats d'une façon équitable, uniforme et efficace.

Les lignes directrices sont des outils administratifs n'ayant pas de force de loi, ce qui permet une certaine souplesse d'approche. Les principes et les pratiques énoncés dans le présent document **pourraient être** remplacés par d'autres approches, à condition que celles-ci s'appuient sur une justification scientifique adéquate. Ces autres approches devraient être examinées préalablement en consultation avec le programme concerné pour s'assurer qu'elles respectent les exigences des lois et des règlements applicables.

Corollairement à ce qui précède, il importe également de mentionner que Santé Canada se réserve le droit de demander des renseignements ou du matériel supplémentaire, ou de définir des conditions dont il n'est pas explicitement question dans la ligne directrice, et ce, afin que le ministère puisse être en mesure d'évaluer adéquatement l'innocuité, l'efficacité ou la qualité d'un produit thérapeutique donné. Santé Canada s'engage à justifier de telles demandes et à documenter clairement ses décisions.

TABLE DES MATIÈRES

| | | |
|-------|---|--------------------|
| 1. | INTRODUCTION | 1 |
| 1.1 | But | 1 |
| 1.2 | Contexte | 1 |
| 1.3 | Portée | 2 |
| 2. | PRINCIPES À PRENDRE EN CONSIDÉRATION DANS L'ADOPTION DE SPÉCIFICATIONS | 2 |
| 2.1 | Caractérisation | 2 |
| 2.1.1 | <i>Propriétés physicochimiques</i> | 3 |
| 2.1.2 | <i>Activité biologique</i> | 4 |
| 2.1.3 | <i>Propriétés immunochimiques</i> | 5 |
| 2.1.4 | <i>Pureté, impuretés et contaminants</i> | 6 |
| 2.1.5 | <i>Quantité</i> | 8 |
| 2.2 | Considérations analytiques | 8 |
| 2.2.1 | <i>Étalons de référence et substances de référence</i> | 8 |
| 2.2.2 | <i>Validation des méthodes analytiques</i> | 9 |
| 2.3 | Contrôle du procédé | 9 |
| 2.3.1 | <i>Considérations relatives au procédé</i> | 9 |
| 2.3.2 | <i>Critères d'acceptation en cours de fabrication et limites d'action</i> | 10 |
| 2.3.3 | <i>Spécifications des matières premières et des excipients</i> | 10 |
| 2.4 | Spécifications des pharmacopées | 11 |
| 2.5 | Limites de mise en circulation vs limites de durée de conservation | 11 |
| 2.6 | Concepts statistiques | 11 |
| 3. | JUSTIFICATION DES SPÉCIFICATIONS | 11 |
| 4. | SPÉCIFICATIONS | 13 |
| 4.1 | Spécifications de la substances médicamenteuses | 13 |
| 4.1.1 | <i>Apparence et description</i> | 13 |
| 4.1.2 | <i>Identité</i> | 14 |
| 4.1.3 | <i>Pureté et impuretés</i> | 14 |
| 4.1.4 | <i>Puissance</i> | 15 |
| 4.1.5 | <i>Quantité</i> | 15 |
| 4.2 | Spécification du produit médicamenteux | 15 |
| 4.2.1 | <i>Apparence et description</i> | 15 |
| 4.2.2 | <i>Identité</i> | 15 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.2.3 | <i>Pureté et impuretés</i> | 16 |
| 4.2.4 | <i>Puissance</i> | 16 |
| 4.2.5 | <i>Quantité</i> | 17 |
| 4.2.6 | <i>Tests généraux</i> | 17 |
| 4.2.7 | <i>Tests supplémentaires pour les formes posologiques uniques</i> | 17 |
| 5. | GLOSSAIRE | 18 |
| 6. | ANNEXES | 20 |
| 6.1 | Annexe pour la caractérisation physicochimique | 20 |
| 6.1.1 | <i>Caractérisation de la structure et confirmation</i> | 21 |
| 6.1.2 | <i>Propriétés physicochimiques</i> | 22 |
| 6.2 | Annexe pour les impuretés | 23 |
| 6.2.1 | <i>Impuretés et contaminants issus de la fabrication</i> | 23 |
| 6.2.2 | <i>Impuretés issues du produit comprenant les produits de dégradation</i> | 24 |

1. INTRODUCTION

1.1 But

Le présent document d'orientation souligne les principes généraux pour adoption et la justification, dans la mesure du possible, d'un ensemble uniforme de spécifications internationales pour les produits issus de la biotechnologie et pour les produits biologiques, afin d'appuyer de nouvelles demandes de mise en marché.

1.2 Contexte

Une spécification est définie comme étant une liste de tests, de références à des méthodes analytiques et de critères d'acceptation appropriés qui sont des limites numériques, intervalles et autres critères pour les tests décrits. Elle établit un ensemble de critères auxquels une substance médicamenteuse, un produit médicamenteux ou matières à différents stades de leur fabrication doivent se conformer afin d'être jugés acceptables pour l'usage auquel ils sont destinés. La «conformité à la spécification» signifie que la substance médicamenteuse et le produit médicamenteux, lorsque testé selon les méthodes analytiques décrites, satisferont aux critères d'acceptation. Les spécifications sont des normes de qualité critiques qui sont proposées et justifiées par le fabricant et approuvées par les autorités réglementaires comme condition de l'homologation.

Les spécifications forment une partie d'une stratégie de contrôle total conçue pour assurer la qualité et l'uniformité du produit. D'autres parties de cette stratégie comprennent la caractérisation complète du produit au cours du développement sur laquelle plusieurs des spécifications sont basées, l'adhésion aux bonnes pratiques de fabrication (BPF), la validation du procédé de fabrication, le contrôle des matières premières, les contrôles effectués en cours de fabrication, les tests de stabilité, etc.

Les spécifications sont choisies pour confirmer la qualité de la substance médicamenteuse et du produit médicamenteux plutôt que pour établir une caractérisation complète et devraient mettre l'accent sur les caractéristiques moléculaires et biologiques jugées utiles pour assurer l'innocuité et l'efficacité du produit.

1.3 Portée

Les principes adoptés et expliqués dans le présent document s'appliquent aux protéines et aux polypeptides, à leurs dérivés et aux produits dont ils sont les composants. (p.ex.: les conjugués). Ces protéines et polypeptides sont produits par des systèmes d'expression recombinants ou non-recombinants en cultures cellulaires et peuvent être grandement purifiés et caractérisés à l'aide d'un ensemble approprié de méthodes analytiques.

Les principes élaborés dans le présent document peuvent aussi s'appliquer à d'autres types de produits tels que les protéines et polypeptides isolés à partir de tissus et de fluides corporels. Les fabricants devront consulter les instances réglementaires compétentes à ce sujet.

Le présent document ne s'applique pas aux antibiotiques, aux peptides synthétiques et polypeptides, héparines, vitamines, métabolites cellulaires, produits de l'ADN, extraits d'allergènes, vaccins conventionnels, cellules, sang complet et composants cellulaires du sang. Une ligne directrice distincte de l'ICH intitulée «*Specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances*», s'adresse aux spécifications et autres critères relatifs aux substances chimiques.

Le présent document ne recommande pas de méthodes analytiques spécifiques ou des critères spécifiques d'acceptation et ne s'applique pas à la réglementation de substances destinées à la recherche clinique ou préclinique.

2. PRINCIPES À PRENDRE EN CONSIDÉRATION DANS L'ADOPTION DE SPÉCIFICATIONS

2.1 Caractérisation

La caractérisation d'un produit issu de la biotechnologie ou d'un produit biologique par des techniques appropriées (incluant la détermination des propriétés physicochimiques, de l'activité biologique, des propriétés immunochimiques, de la pureté et des impuretés) est nécessaire pour l'établissement de spécifications appropriées. Les critères d'acceptation doivent être adoptés et justifiés à l'aide de données obtenues de lots utilisés dans les études précliniques ou cliniques, de données de lots utilisés pour démontrer l'uniformité de fabrication ainsi qu'avec des données d'études de stabilité et autres données pertinentes obtenues en cours de développement.

Une caractérisation approfondie est menée au cours de la phase de développement et, si nécessaire, à la suite de changements importants apportés au procédé de fabrication. Au moment de soumettre le dossier, le produit devrait, si possible, avoir été comparé à un étalon de référence approprié. Lorsque possible et pertinent, le produit devrait être comparé à son équivalent naturel. De même, au moment de soumettre le dossier, le fabricant devrait avoir adopté des substances de référence appropriées et caractérisées, qui serviront aux tests biologiques et physicochimiques effectués sur les lots de production. De nouvelles techniques analytiques et des améliorations à la technologie existante sont constamment en cours de développement et devraient être utilisées lorsqu'elles sont appropriées.

2.1.1 Propriétés physicochimiques

Un programme de caractérisation physicochimique comprend généralement la détermination de la composition, des propriétés physiques et de la structure primaire du produit souhaité. Dans certains cas, des renseignements au sujet de la structure supérieure du produit (dont la fidélité peut être déduite de son activité biologique) devraient être obtenus par une méthodologie physicochimique appropriée.

Les protéines possèdent une hétérogénéité structurelle inhérente aux processus de biosynthèse utilisés par les organismes vivants pour les produire; conséquemment le produit souhaité peut-être un mélange anticipé de formes ayant subies des modifications post-traductionnelles (p.ex.: les glycoformes). Ces formes peuvent être actives et il se peut que leur présence n'ait pas d'effet nuisible sur l'innocuité et l'efficacité du produit (section 2.1.4). Le fabricant devra définir le profil d'hétérogénéité du produit souhaité et faire la démonstration de son uniformité avec celui des lots utilisés dans les études précliniques et cliniques. Si une tendance uniforme d'hétérogénéité du produit est évidente, une évaluation de l'activité, de l'efficacité et de l'innocuité (y compris l'immunogénicité) des formes individuelles peut ne pas être requise.

L'hétérogénéité peut aussi être le résultat du procédé de fabrication et/ou de l'entreposage de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux. L'hétérogénéité de ces produits étant garante de leur qualité, le degré et le profil de cette hétérogénéité doivent être caractérisés afin d'assurer l'uniformité entre les lots. Lorsque ces variantes du produit souhaité ont des propriétés comparables à celles du produit souhaité en regard de l'activité, de l'efficacité et de l'innocuité, elles sont considérées comme étant des substances apparentées au produit. Lorsque les changements de procédé et les produits de dégradation modifient le profil d'hétérogénéité du produit de façon telle qu'il est différent de celui de la substance utilisée pendant le développement préclinique et clinique, l'importance de ces changements doit être évaluée.

Des méthodes analytiques pour élucider les propriétés physicochimiques sont énumérées à l'Annexe 6.1. De nouvelles techniques analytiques et des améliorations à la technologie actuelle sont en constante élaboration et devraient être utilisées lorsqu'appropriées.

Pour les besoins de la mise en circulation des lots (section 4) un sous-ensemble de ces méthodes devrait être choisi et justifié.

2.1.2 Activité biologique

L'évaluation des propriétés biologiques constitue également une étape essentielle dans l'établissement du profil complet de caractérisation. Une des propriétés importantes est l'activité biologique qui décrit l'habileté spécifique ou la capacité d'un produit à produire un effet biologique défini.

Un épreuve biologique valide pour mesurer l'activité biologique doit être fournie par le fabricant. Des exemples de méthodes utilisées pour mesurer l'activité biologique comprennent:

- Les épreuves biologiques sur des animaux, qui mesurent la réponse biologique d'un organisme au produit;
- Les épreuves biologiques en cultures de cellules, qui mesurent la réponse biochimique ou physiologique au niveau cellulaire;
- Les épreuves biochimiques, qui mesurent l'activité biologique telle que les taux de réaction enzymatique ou les réponses biologiques induites par interactions immunologiques.

D'autres méthodes telles que les épreuves de liaison entre ligand et récepteur, peuvent être acceptables.

La puissance (exprimée en unités) est la mesure quantitative d'activité biologique basée sur l'attribut du produit qui est lié aux propriétés biologiques pertinentes, alors que la quantité (exprimée en masse) est une mesure physicochimique du contenu protéique. Il n'est pas toujours nécessaire d'imiter l'activité biologique dans le contexte clinique. Une corrélation entre la réponse clinique prévue et l'activité dans l'épreuve biologique devrait être établie à l'aide d'études pharmacodynamiques ou cliniques.

Les résultats des épreuves biologiques devraient être exprimés en unités d'activité calibrées à l'aide d'un étalon de référence international ou national, lorsque disponible et approprié pour l'épreuve utilisée. Si un tel étalon n'existe pas, une substance de référence interne caractérisée devrait être établie et les résultats de mise à l'épreuve de lots de production notés comme unités internes.

Fréquemment, dans le cas de molécules complexes, les informations physicochimiques peuvent être considérables mais tout de même insuffisantes pour confirmer la structure supérieure, laquelle cependant peut être déduite de l'activité biologique. Dans de tels cas, une épreuve biologique, avec des limites de confiance élargies, peut être acceptée en combinaison avec une mesure quantitative spécifique. Il est important de noter qu'une épreuve biologique mesurant l'activité biologique du produit peut être remplacée par des tests physicochimiques seulement dans les cas où:

- des informations physicochimiques suffisantes au sujet de la substance, y compris la structure supérieure, peuvent être fournies de façon détaillée par de telles méthodes physicochimiques, et peuvent également démontrer une relation pertinente à l'activité biologique.
- il existe une histoire de fabrication bien établie.

Dans le cas où seuls des tests physicochimiques sont utilisés pour quantifier l'activité biologique (en se basant sur une corrélation appropriée), les résultats devraient être exprimés en masse.

Pour les besoins de la mise en circulation des lots (section 4), le choix d'une épreuve quantitative appropriée (biologique et/ou physicochimique) devrait être justifiée par le fabricant.

2.1.3 Propriétés immunochimiques

Lorsqu'un anticorps est le produit souhaité, ses propriétés immunologiques devraient être pleinement caractérisées. Des tests de liaison de l'anticorps aux antigènes purifiés et aux régions identifiées des antigènes devraient être effectués, si possible, afin de déterminer l'affinité, l'avidité et l'immunoréactivité (incluant la réactivité croisée). De plus, la molécule cible portant l'épitope approprié devrait être définie biochimiquement et l'épitope lui-même défini, si possible.

Pour certaines substances médicamenteuses ou produits médicamenteux, la molécule protéique pourra être examinée en se servant de méthodes immunochimiques (p.ex.:ELISA, transfert Western) en ayant recours à des anticorps qui reconnaissent différents épitopes de la molécule protéique. Les propriétés immunochimiques d'une protéine peuvent servir à établir son identité, son homogénéité ou sa pureté, ou bien servir à la quantifier.

Si les propriétés immunochimiques constituent un des critères de mise en circulation d'un lot, toute information pertinente à l'anticorps devrait être disponible.

2.1.4 Pureté, impuretés et contaminants

- **Pureté**

La détermination de la pureté absolue et relative offre des défis analytiques considérables, et les résultats dépendent fortement de la méthode employée. Historiquement, la pureté relative d'un produit biologique a été exprimée en termes d'activité spécifique (unités d'activité biologique par mg de produit) qui est aussi fort dépendante de la méthode employée. Conséquemment, la pureté d'une substance médicamenteuse et d'un produit médicamenteux est évalué par un ensemble de méthodes analytiques.

Le type de production par biosynthèse et les caractéristiques moléculaires des produits biologiques et des produits issus de la biotechnologie font qu'une substance médicamenteuse peut comprendre plusieurs entités moléculaires ou variantes. Lorsque ces entités moléculaires dérivent de modifications post-traductionnelles anticipées, elles font partie du produit souhaité. Lorsque des variantes du produit souhaité sont formées en cours de fabrication et/ou d'entreposage et possèdent des propriétés comparables au produit lui-même, elles sont considérées comme des substances apparentées au produit et non pas comme des impuretés (section 2.1.1).

Des critères d'acceptation individuels ou collectifs pour les substances apparentées au produit devraient être adoptés au besoin.

Pour les besoins de la mise en circulation des lots (section 4), un sous-ensemble approprié de méthodes devrait être choisi et justifié pour la détermination de la pureté.

- **Impuretés**

En plus d'évaluer la pureté d'une substance médicamenteuse ou d'un produit médicamenteuse, qui peut être composé du produit souhaité et de multiples substances apparentées au produit, le fabricant devrait aussi procéder à une évaluation des impuretés qui pourraient être présentes. Ces impuretés peuvent être issues du procédé ou du produit. Elles peuvent posséder une structure connue, partiellement caractérisée, ou non-identifiée. Lorsque des quantités adéquates d'impuretés peuvent être recueillies, ces substances doivent être caractérisées autant que possible, et s'il y a possibilité, leur activité biologique doit être évaluée.

Les impuretés issues du procédé comprennent celles qui dérivent du procédé de fabrication, c'est-à-dire, des substrats cellulaires (p.ex.: protéines de cellules hôtes, ADN de cellules hôtes), de la culture des cellules (p.ex.: inducteurs, antibiotiques ou composants du milieu de culture), ou du traitement en aval (voir section 6.2.1 en annexe). Les impuretés issues du produit (p.ex.: précurseurs, certains produits de dégradation) sont des variantes moléculaires produites durant la fabrication et/ou l'entreposage, qui ne possèdent pas de propriétés comparables à celles du produit souhaité en regard de l'activité, de l'efficacité ou de l'innocuité.

De plus, les critères d'acceptation pour les impuretés devraient être basés sur les données obtenues des lots qui ont servis aux études précliniques et cliniques ainsi que des lots de qualification utilisés pour vérifier l'uniformité du procédé de fabrication.

Des critères d'acceptation individuels et collectifs pour les impuretés (issues du produit ou de la fabrication) devraient être établis s'il y a lieu. Dans certaines circonstances, des critères d'acceptation pour des impuretés définies peuvent ne pas être requis (section 2.3).

L'annexe 6.2 présente des exemples de test analytiques qui peuvent être employés pour vérifier la présence d'impuretés. De nouvelles techniques analytiques et des modifications aux techniques présentes sont continuellement en cours de développement et devraient être employées lorsqu'appropriées.

Pour les besoins de la mise en circulation de lots (section 4), un sous-ensemble approprié de ces méthodes devrait être choisi et justifié.

- **Contaminants**

Les contaminants dans un produit comprennent toutes les matières incorporées de façon accidentelle qui ne font pas intentionnellement partie du procédé de fabrication, telles que des matières chimiques et biochimiques (p.ex.: protéases microbiennes), et/ou des espèces microbiennes. La présence de contaminants doit être rigoureusement évitée et/ou contrôlée de manière adéquate en cours de fabrication à l'aide de critères d'acceptation ou de limites d'action conformes aux spécifications de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux (section 2.3). Dans le cas spécial de contamination virale fortuite ou de contamination par mycoplasmes, le concept de limites d'action ne s'applique pas, et les stratégies proposées dans les lignes directrices tripartites harmonisées de l'ICH

«Qualité des produits issus de la biotechnologie: Evaluation de la sécurité virologique des produits issus de la biotechnologie dérivés de lignées cellulaires d'origine humaine ou animale» et «Préparation et caractérisation des substrats cellulaires utilisés pour la production de produits biologiques ou issus de la biotechnologie» devraient être considérées.

2.1.5 *Quantité*

La quantité, habituellement mesurée par le contenu protéique, est critique pour un produit issu de la biotechnologie et pour un produit biologique et devrait être déterminée en ayant recours à un test approprié, habituellement de nature physicochimique. Dans certains cas, il peut être démontré que les valeurs quantitatives obtenues peuvent être directement reliées à celles fournies par l'épreuve biologique. Lorsque cette corrélation existe, il peut être approprié de se servir de mesures de quantité plutôt que de mesures d'activité biologique dans les procédés de fabrication comme le remplissage.

2.2 **Considérations analytiques**

2.2.1 *Étalons de référence et substances de référence*

Dans le cas de demandes d'homologation pour de nouvelles entités moléculaires, il est peu probable qu'un étalon international ou national soit disponible. Au moment de soumettre le dossier, le fabricant devrait avoir adopté une substance de référence interne principale préparée à partir de lot(s) représentatif(s) de substances de production et cliniques. Les références internes utilisées dans l'analyse de lots de production devraient être calibrées à l'aide de cette substance de référence primaire. Dans le cas où une référence internationale ou nationale est

disponible et appropriée, la substance de référence devrait être calibrée à l'aide de celle-ci. Quoiqu'il soit préférable de se servir de la même substance de référence pour les épreuves biologiques et pour les tests physicochimiques, dans certains cas l'usage d'une substance de référence distincte peut être nécessaire. De plus, des substances de référence distinctes peuvent être requises pour les substances apparentées au produit, et impuretés issues du produit et du mode de fabrication. Lorsqu'appropriée, une description de la fabrication et/ou de la purification des substances de référence devrait faire partie de la demande d'homologation. Les documents décrivant la caractérisation de la (des) substance(s) de référence, ainsi que la formulation et les conditions d'entreposage nécessaires au maintien de la stabilité devraient aussi être fournis.

2.2.2 Validation des méthodes analytiques

Lorsque la demande d'homologation est transmise aux autorités réglementaires, les demandeurs devraient avoir procédé à la validation des méthodes analytiques incluses dans les spécifications, conformément aux lignes directrices tripartites harmonisées de l'ICH «*Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology* » et «*Validation of Analytical Procedures: Methodology*», excepté là où il existe des mesures spécifiques pour des tests spéciaux utilisés dans l'analyse des produits biologiques ou des produits issus de la biotechnologie.

2.3 Contrôle du procédé

2.3.1 Considérations relatives au procédé

Une conception adéquate du procédé ainsi que la connaissance de ses capacités, font partie de la stratégie de développement d'un procédé de fabrication bien contrôlé et reproductible, lequel produira une substance médicamenteuse ou un produit médicamenteux conforme aux spécifications. A cet égard, les limites sont justifiées à partir de renseignements critiques tirés de l'expérience acquise depuis les premiers développements jusqu'à la production à l'échelle commerciale.

Dans le cas de certaines impuretés, l'analyse de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux peut ne pas être nécessaire et peut ne pas être incluse dans les spécifications si un contrôle efficace ou l'élimination à un niveau acceptable sont démontrés par des études appropriées. Ces études peuvent comprendre la vérification à l'échelle commerciale, conformément aux exigences réglementaires régionales. Il est reconnu que seules des données

partielles peuvent être disponibles au moment de la demande d'homologation. Il est possible conséquemment que ce concept puisse être adopté après avoir reçu l'autorisation de commercialisation, en conformité avec les exigences réglementaires régionales.

2.3.2 Critères d'acceptation en cours de fabrication et limites d'action

Les tests en cours de production ont lieu à des étapes critiques de décisions et à d'autres étapes lorsque que les données obtenues servent à confirmer l'uniformité du procédé pendant la fabrication de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux. Les résultats d'analyses effectuées en cours de fabrication peuvent être notés comme limites d'action ou critères d'acceptation. De telles analyses peuvent rendre inutiles certains tests effectués sur la substance médicamenteuse ou sur le produit médicamenteux (section 2.3.1). L'analyse en cours de fabrication pour la présence d'agents fortuits à la fin de la culture cellulaire est un exemple de tests pour lesquels des critères d'acceptation devraient être établis.

L'usage par le fabricant de limites d'action internes pour évaluer l'uniformité du procédé à des étapes moins critiques est aussi important. Les données obtenues pendant le développement et en cours de validation devraient fournir une base pour établir les limites d'action provisoires pour le procédé de fabrication. Ces limites, qui sont de la responsabilité du fabricant, peuvent être utilisées pour lancer une enquête ou entreprendre toute autre action pertinente. Elles devraient être raffinées au fur et à mesure de l'accumulation de l'expérience de fabrication et de données obtenues après l'approbation du produit.

2.3.3 Spécifications des matières premières et des excipients

La qualité des matières premières utilisées dans la fabrication de la substance médicamenteuse (ou du produit médicamenteux) doit être conforme aux normes appropriées à leur usage. La matière première ou réactifs de nature biologique peuvent nécessiter une évaluation minutieuse pour établir la présence ou l'absence d'agents nuisibles endogènes ou fortuits. Les procédés qui utilisent la chromatographie d'affinité (p.ex.: avec des anticorps monoclonaux), doivent être accompagnés de mesures appropriées pour assurer que de telles impuretés issues procédé ou des corps étrangers éventuels provenant de leur fabrication et de leur usage, ne compromettent pas la qualité et l'innocuité de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux. Des renseignements appropriés sur l'anticorps devraient être disponibles.

La qualité des excipients utilisés dans la formulation du produit médicamenteux (et dans certains cas de la substance médicamenteuse), de même que des contenants et dispositifs de fermeture, doivent satisfaire aux normes de la pharmacopée si celles-ci sont disponibles et pertinentes.

Alternativement, des critères d'acceptation appropriés devraient être établis pour les excipients non inclus dans la pharmacopée.

2.4 Spécifications des pharmacopées

Les pharmacopées contiennent des exigences importantes relatives à certaines méthodes analytiques et aux critères d'acceptation qui, lorsqu'elles sont pertinentes, font partie du processus d'évaluation de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux. De telles monographies, applicables aux produits issus de la biotechnologie et aux produits biologiques, comprennent entre autres les tests de stérilité, endotoxines, limites microbiennes, volume dans le contenant, uniformité des unités posologiques et particules. En regard à l'usage de méthodes et de critères d'acceptation provenant de pharmacopées, la valeur de leurs indications est liée à l'harmonisation des méthodes analytiques de ces mêmes pharmacopées. Les pharmacopées se sont engagées à développer des tests identiques ou équivalents du point de vue de la méthodologie et des critères d'acceptation.

2.5 Limites de mise en circulation vs limites de durée de conservation

Le concept de limites de mise en circulation vs limites de durée de conservation peut être utilisé là où il est justifié. Ce concept concerne l'adoption de limites, qui sont plus strictes au stade de la mise en circulation que pour la durée de conservation de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux. Ce concept peut être applicable entre autres lorsqu'il s'agit de puissance et de produits de dégradation. Dans certaines régions, le concept de limites de mise en circulation peut n'être applicable qu'aux limites internes et non aux limites réglementaires de durée de conservation.

2.6 Concepts statistiques

Lorsque nécessaire, les données quantitatives rapportées doivent être soumises à une analyse statistique appropriée. Les méthodes d'analyses choisies doivent être décrites complètement, y compris la justification et le raisonnement. Ces descriptions devraient être assez claires pour permettre un calcul indépendant des résultats présentés.

3. JUSTIFICATION DES SPÉCIFICATIONS

L'adoption de spécifications pour la substance médicamenteuse et le produit médicamenteux fait partie d'une stratégie globale de contrôle qui comprend le contrôle des matières premières et des excipients, l'analyse en cours de fabrication, l'évaluation ou la validation du procédé, l'adhésion aux bonnes pratiques de fabrication (BPF), la vérification de la stabilité et les tests pour vérifier l'uniformité des lots. Ensembles, ces éléments fournissent l'assurance que la qualité du produit sera maintenue. Les

spécifications étant choisies pour confirmer la qualité plutôt que pour caractériser le produit, le fabricant doit fournir le raisonnement et la justification pour l'inclusion ou l'exclusion des tests pour des critères spécifiques de qualité. Les points suivants devraient être pris en considération lors de l'adoption de spécifications scientifiquement justifiables.

- *Les spécifications sont liées à un procédé de fabrication.*

Les spécifications devraient être fondées sur des données obtenues à partir de lots servant à démontrer l'uniformité de fabrication. Il est important de relier les spécifications à un procédé de fabrication, particulièrement pour les substances apparentées au produit, pour les impuretés issues du produit et pour les impuretés issues du mode de fabrication. Les modifications apportées au procédé et les produits de dégradation apparaissant durant l'entreposage peuvent engendrer des profils d'hétérogénéité différents de ceux observés dans le produit utilisé durant le développement préclinique et clinique. L'importance de ces changements devrait être évaluée.

- *Les spécifications doivent prendre en considération la stabilité de la substance médicamenteuse et du produit médicamenteux.*

La dégradation de la substance médicamenteuse et du produit médicamenteux qui peut se produire durant l'entreposage devrait être prise en considération lors de l'établissement des spécifications.

La complexité inhérente de ces produits font qu'il n'existe aucun test indicatif de stabilité ou paramètre qui permette d'établir le profil des caractéristiques de stabilité. Par conséquent, le fabricant devrait proposer un profil indicateur de stabilité. Le résultat de ce profil de stabilité fournira alors l'assurance que des changements dans la qualité du produit seront détectés. Les tests qui devront être inclus seront spécifiques au produit. Le fabricant est invité à consulter la ligne directrice tripartite harmonisée de l'ICH «*Stabilité des produits biologiques ou issus de la biotechnologie*».

- *Les spécifications sont liées aux études précliniques et cliniques.*

Les spécifications devraient être fondées sur des données tirées de lots utilisés dans les études précliniques et cliniques. La qualité du matériel produit à l'échelle commerciale devrait être équivalente à celle des lots utilisés lors d'études précliniques et cliniques.

- *Les spécifications sont liées aux méthodes analytiques.*

Les attributs critiques de qualité peuvent porter sur des aspects tels que la puissance, la nature et la quantité des substances apparentées au produit, les impuretés issues du produit et les impuretés issues du procédé. De tels attributs peuvent être évalués par des méthodes analytiques multiples, chacune fournissant des résultats différents. Par conséquent il est important de confirmer que les données obtenues durant le stade du développement correspondent avec celles générées lors de la demande d'homologation.

4. SPÉCIFICATIONS

Le choix des tests qui doivent être inclus dans les spécifications est spécifique au produit. On doit décrire le raisonnement appuyant le choix d'un éventail acceptable de critères d'acceptation. Les critères d'acceptation doivent être établis et justifiés en se basant sur les données dérivées de lots précliniques et cliniques, sur des données de lots utilisés pour faire la démonstration de l'uniformité de fabrication, sur des données d'études de stabilité et sur des données pertinentes obtenues en cours du développement.

Dans certains cas, l'analyse à différents stades de fabrication plutôt qu'aux étapes de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux, peut être appropriée et acceptable. Dans pareilles circonstances, les résultats de ces tests doivent être considérés comme des critères d'acceptation en cours de fabrication et être inclus dans les spécifications pour la substance médicamenteuse ou le produit médicamenteux, conformément aux exigences des autorités réglementaires régionales.

4.1 Spécifications de la substances médicamenteuses

En général, les tests et les critères d'acceptation suivants sont considérés applicables à toutes les substances médicamenteuses (les méthodes analytiques sont indiquées à l'annexe 2.2.2). Les tests décrits dans les pharmacopées (p.ex.: la détection des endotoxines) devraient être menés sur la substance médicamenteuse s'ils sont appropriés. D'autres critères d'acceptation spécifiques pour la substance médicamenteuse peuvent aussi être nécessaires.

4.1.1 Apparence et description

Une description qualitative de l'état physique (e.g. solide, liquide) et de la couleur d'une substance médicamenteuse devrait être fournie.

4.1.2 Identité

Les épreuves d'identité devraient être hautement spécifiques pour la substance médicamenteuse et devraient tenir compte de l'aspect unique de sa structure moléculaire et/ou d'autres propriétés spécifiques. Il peut être nécessaire d'effectuer plus d'un test (physicochimique, biologique et/ou immunochimique) afin de prouver l'identité. Les tests d'identité peuvent être de nature qualitative. Certaines des méthodes typiquement utilisées pour caractériser le produit, telles que décrites à la section 2.1 et à l'annexe 6.1, peuvent être employées et/ou modifiées s'il y a lieu, dans le but d'identifier le produit.

4.1.3 Pureté et impuretés

La pureté absolue de produits biologiques et des produits issus de la biotechnologie est difficile à déterminer et les résultats dépendent de la méthode employée (section 2.1.4). Par conséquent, la pureté d'une substance médicamenteuse est habituellement évaluée à l'aide d'une combinaison de méthodes. Le choix et l'optimisation des méthodes analytiques devraient être axés sur la séparation du produit souhaité des substances apparentées au produit et des impuretés.

Les impuretés observées dans ces produits sont classées comme étant issues du procédé ou issues du produit.

- Les impuretés issues du procédé présentes dans la substance médicamenteuse (section 2.1.4) peuvent englober les milieux de culture de cellules, protéines de cellules hôtes, ADN, anticorps monoclonaux ou matrice de chromatographie utilisés pour la purification, solvants et composants de tampons. La présence de ces impuretés devraient être minimisée en se servant de procédés de fabrication appropriés et bien contrôlés.
- Les impuretés issues du produit (section 2.1.4) présentes dans la substance médicamenteuse sont des variantes moléculaires formées durant la fabrication et/ou l'entreposage ayant des propriétés différentes de celles du produit souhaité.

Dans le cas des impuretés, le choix et l'optimisation des méthodes analytiques devraient être axés sur la séparation du produit souhaité et des substances issues du produit, par rapport aux impuretés. Au besoin, des critères d'acceptation individuels et/ou collectifs pour les impuretés devraient être établis. Dans certaines circonstances, des critères d'acceptation pour des impuretés précises peuvent ne pas être requis (section 2.3).

4.1.4 Puissance

Un test de puissance pertinent et validé (section 2.1.2) devrait faire partie des spécifications pour une substance médicamenteuse et/ou un produit médicamenteux biologique ou issu de la biotechnologie. Lorsqu'un test de puissance approprié est utilisé pour le produit médicamenteux (section 4.2.4), une méthode alternative (physicochimique et/ou biologique) peut suffire pour une évaluation quantitative au stage de substance médicamenteuse. Dans certains cas, la mesure de l'activité spécifique peut fournir un surcroît d'information utile.

4.1.5 Quantité

La quantité de substance médicamenteuse, habituellement basée sur le contenu protéique (masse) devrait être déterminée à l'aide d'un test approprié. La détermination de la quantité peut se faire indépendamment d'un étalon ou d'une substance de référence. Dans les cas où la fabrication du produit est basée sur la puissance, une autre détermination de la quantité peut ne pas être nécessaire.

4.2 Spécification du produit médicamenteux

En général, les tests et critères d'acceptation suivants sont considérés applicables à tous les produits médicamenteux. Chaque section (4.2.1-4.2.5) est renvoyée aux sections pertinentes (4.1.1-4.1.5) sous "Substance médicamenteuse". Les exigences des pharmacopées s'appliquent aux formes posologiques pertinentes. Les tests typiques inclus dans les pharmacopées comprennent entre autres les tests de stérilité, endotoxines, limites microbiennes, volume dans le contenant, particules, uniformité des unités posologiques et teneur en humidité pour les produits médicamenteux lyophilisés. Lorsque approprié, l'uniformité des unités posologiques peut être évaluée en cours de fabrication et des critères d'acceptation peuvent être adoptés.

4.2.1 Apparence et description

Une description qualitative de l'état physique (p.ex.: solide, liquide), de la couleur et de la limpidité du produit médicamenteux devrait être fournie.

4.2.2 Identité

Les tests d'identité devraient être très spécifiques pour le produit médicamenteux et devraient être basés sur l'aspect unique de sa structure moléculaire et pour d'autres propriétés spécifiques. Les tests d'identité peuvent être de nature qualitative. Même s'il est reconnu que

dans la plupart des cas, un test unique est adéquat, des tests additionnels (physicochimiques, biologiques et/ou immunochimiques) peuvent être nécessaires pour l'identification de certains produits. Des méthodes typiques utilisées pour caractériser le produit, telles que décrites à la section 2.1 et à l'annexe 6.1, peuvent être employées et/ou modifiées s'il y a lieu, dans le but d'identifier le produit.

4.2.3 Pureté et impuretés

Des impuretés peuvent apparaître, ou leur quantité peut augmenter, durant la fabrication et/ou l'entreposage du produit médicamenteux. Celles-ci peuvent être les mêmes que celles qui proviennent de la substance médicamenteuse elle-même, être issues du procédé ou être des produits de dégradation qui sont formés spécifiquement dans le produit médicamenteux pendant la formulation ou l'entreposage. Si des impuretés sont qualitativement et quantitativement (i.e. quantités relatives et/ou concentrations) les mêmes que celles contenues dans la substance médicamenteuse, le test n'est pas nécessaire. Si l'on sait que des impuretés sont introduites ou sont générées lors de la fabrication ou de l'entreposage du produit médicamenteux, la concentration de ces impuretés devrait être déterminée et des critères d'acceptation devraient être adoptés.

Les critères d'acceptation et les méthodes analytiques devraient être développés et justifiés en s'appuyant sur l'expérience préalable avec le produit médicamenteux, afin de mesurer les changements dans la substance médicamenteuse pendant la fabrication et/ou l'entreposage du produit.

Le choix et l'optimisation des méthodes analytiques devraient être axés sur la séparation du produit souhaité et des substances issues du procédé, par rapport aux impuretés (y compris les produits de dégradation) et aux excipients.

4.2.4 Puissance

Un test de puissance pertinent et validé (section 2.1.2) devrait faire partie des spécifications d'une substance médicamenteuse et d'un produit médicamenteux biologique ou issu de la biotechnologie. Lorsqu'un test de puissance approprié est utilisé pour la substance médicamenteuse, une méthode alternative (physicochimique et/ou biologique) peut suffire pour une évaluation quantitative du produit médicamenteux. Cependant, la justification d'un tel choix doit être fournie.

4.2.5 Quantité

La quantité de la substance médicamenteuse contenue dans le produit médicamenteux, habituellement basée sur le contenu protéique (masse), devrait être déterminée à l'aide d'un test approprié. Dans les cas où la fabrication du produit est basée sur la puissance, une autre détermination de la quantité peut ne pas être nécessaire.

4.2.6 Tests généraux

La description physique et la mesure des autres attributs de qualité est souvent un élément important dans l'évaluation des fonctions du produit médicamenteux. Par exemple, ces tests comprennent le pH et l'osmolarité.

4.2.7 Tests supplémentaires pour les formes posologiques uniques

On doit reconnaître que certaines formes posologiques uniques peuvent requérir des tests additionnels à ceux mentionnés ci-haut.

5. GLOSSAIRE

Critères d'acceptation

Les limites numériques, intervalles de limites, ou autres mesures appropriées pour l'acceptation des résultats d'analyses auxquelles sont assujetties la substance médicamenteuse ou le produit médicamenteux, ou matières à différents stades de leur production.

Limite d'action

Une valeur interne (maison) utilisée pour évaluer l'uniformité du procédé à des étapes moins critiques.

Activité biologique

L'aptitude spécifique ou la capacité du produit de provoquer un effet biologique défini. La puissance est la mesure quantitative de l'activité biologique.

Contaminants

Toute substance introduite accidentellement (p.ex.: composé chimique, biochimique ou espèce microbienne) qui ne fait pas partie du procédé de fabrication de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux.

Produits de dégradation

Variants moléculaires résultants de changements au produit souhaité, ou substances apparentées au produit causées par le temps et/ou par l'action de p.ex.: la lumière, la température, le pH, l'eau ou par réaction avec un excipient et/ou le contenant et dispositif de fermeture. De tels changements peuvent résulter de la fabrication et/ou de l'entreposage (p.ex.: déamidation, oxydation, agrégation, protéolyse). Les produits de dégradation peuvent être des substances apparentées au produit ou des impuretés issues du produit.

Produit souhaité(1) La protéine qui a la structure souhaitée, ou (2) la protéine qui devrait découler de la séquence de l'ADN et des modifications post-traductionnelles anticipées (y compris les glycoformes), et des modifications en aval prévues, pour produire une molécule biologique active.

Produit médicamenteux (Forme posologique; produit fini)

Un type de produit pharmaceutique qui contient une substance médicamenteuse, généralement en association avec des excipients.

Substance médicamenteuse (matériel en vrac)

Le matériel qui est subséquemment mélangé avec des excipients pour donner le produit médicamenteux. Il peut être composé du produit souhaité, de substances apparentées au produit, et d'impuretés issues du produit et du procédé. Il peut aussi contenir des excipients et d'autres composants telles que des substances tampons.

Excipient

Un ingrédient ajouté intentionnellement à la substance médicamenteuse et qui, dans les quantités utilisées, ne doit pas avoir de propriétés pharmacologiques.

Impureté

Tout composant présent dans la substance médicamenteuse ou dans le produit médicamenteux qui n'est pas le produit souhaité, une substance apparentée au produit ou un excipient, y compris les substances tampons. Une impureté peut être issue du produit ou du procédé.

Substance de référence interne principale

Une substance convenablement caractérisée, préparée par le fabricant à partir de lot(s) représentatif(s) dans le but de faire des analyses biologiques et physicochimiques de lots subséquents, et qui est utilisée pour la calibration de substance de référence de travail interne.

Substance de référence de travail interne

Une substance préparée de façon similaire à la substance de référence principale qui est établie uniquement pour évaluer et contrôler les lots subséquents pour l'attribut individuel mis en question. Elle est toujours calibrée à l'aide de la substance de référence interne principale.

Puissance

La mesure de l'activité biologique à l'aide d'une épreuve biologique quantitative appropriée (aussi nommé test de puissance ou épreuve biologique), basée sur l'attribut du produit qui se trouve lié aux propriétés biologiques pertinentes.

Impuretés issues du procédé

Impuretés dérivées du procédé de fabrication. Elles peuvent être dérivées du substrat de cellules (p.ex.: protéines de cellules hôtes, ADN de cellules hôtes), de la culture de cellules (p.ex.: inducteurs, antibiotiques ou composants du milieu) ou du traitement en aval (p.ex.: réactifs de traitement ou agents lessivés des colonnes).

Impuretés issues du produit

Des variantes moléculaires du produit souhaité (p.ex.: précurseurs, certains produits de dégradation créés pendant la fabrication et/ou l'entreposage) qui n'ont pas des propriétés comparables à celui-ci en regard de l'activité, de l'efficacité et de l'innocuité.

Substances apparentées au produit

Des variantes moléculaires du produit souhaité formées pendant la fabrication et/ou l'entreposage qui sont actives et qui n'ont pas d'effets nuisibles sur l'innocuité et l'efficacité du produit médicamenteux. Ces variantes ont des propriétés comparables au produit souhaité et ne sont pas considérées comme des impuretés.

Étalons de référence

Se rapporter aux étalons internationaux ou nationaux.

Spécification

Une spécification est une liste de tests, de références à des méthodes analytiques et de critères d'acceptation appropriés qui sont des limites numériques, intervalles ou autres critères pour les tests décrits. Elle établit un ensemble de critères auxquels une substance médicamenteuse, un produit médicamenteux ou matières à différents stades de leur fabrication, doivent se conformer afin d'être jugés acceptables pour l'usage auquel ils sont destinés. «La conformité à la spécification» signifie que la substance médicamenteuse et le produit médicamenteux, lorsque testé selon les méthodes analytiques décrites, satisferont aux critères d'acceptation. Les spécifications sont des normes de qualité critiques qui sont proposées et justifiées par le fabricant et approuvées par les autorités réglementaires comme condition d'approbation.

6. ANNEXES

6.1 Annexe pour la caractérisation physicochimique

Cette annexe contient des exemples d'approches techniques qui peuvent être employées pour la caractérisation structurelle, la confirmation et l'évaluation des propriétés physicochimiques du produit souhaité, de la substance médicamenteuse et/ou du produit médicamenteux. L'approche technique spécifique utilisée peut varier d'un produit à l'autre et des approches différentes de celles mentionnées dans cette annexe peuvent être appropriées le cas échéant. De nouvelles techniques analytiques et des modifications aux techniques existantes sont en constante évolution et devraient être utilisées au besoin.

6.1.1 Caractérisation de la structure et confirmation

a) Séquence d'acides aminés

La séquence d'acides aminés du produit souhaité devrait être déterminée autant que possible en se servant de méthodes semblables à celles décrites aux points b) à e) et ensuite être comparée à la séquence des acides aminés déduite de la séquence du gène pour le produit souhaité.

b) Composition en acides aminés

La composition globale des acides aminés est déterminée en recourant à diverses méthodes analytiques et hydrolytiques, et comparée à la composition en acides aminés déduite de la séquence du gène pour le produit souhaité ou son équivalent naturel, si jugé nécessaire. Fréquemment, l'analyse de la composition en acides aminés fournit des informations structurelles utiles pour les peptides et les petites protéines, mais de telles informations sont généralement moins précises pour les grandes protéines. Les données fournies par l'analyse quantitative des acides aminés peuvent souvent aussi être utilisées pour déterminer le contenu protéique.

c) Séquençage des acides aminés terminaux

L'analyse des acides aminés terminaux est exécutée pour identifier la nature et l'homogénéité des acides aminés amino- et carboxy-terminaux. Si le produit souhaité est hétérogène en ce qui concerne les acides aminés terminaux, la quantité relative des formes variantes devrait être déterminée en utilisant une méthode analytique appropriée. La séquence de ces acides aminés terminaux devrait être comparée avec la séquence d'acides aminés terminaux déduite de la séquence du gène pour le produit souhaité.

d) Carte des peptides

La fragmentation sélective du produit en des peptides discrets est effectuée à l'aide d'enzymes appropriées ou des substances chimiques, et les fragments de peptides qui en résultent sont analysés par HPLC ou autre méthode analytique appropriée. Les fragments de peptides devraient être identifiés autant que possible avec des techniques telles que l'analyse de la

composition des acides aminés, le séquençage N-terminal ou la spectrométrie de masse. On a souvent recours à la cartographie des peptides de la substance médicamenteuse ou du produit médicamenteux par une méthode validée appropriée pour confirmer la structure du produit souhaité pour les besoins de la mise en circulation des lots.

e) Groupes sulfhydryles et ponts disulfures

Dans les cas où, basé sur la séquence génétique du gène pour le produit souhaité, la présence de résidus de cystéine est anticipée, le nombre et les positions de tout groupe sulfhydryle libre et/ou de ponts disulfures devraient être identifiés autant que possible. La cartographie des peptides (dans des conditions réductrices et non-réductrices), la spectrométrie de masse ou d'autres techniques appropriées peuvent être utiles à cette évaluation.

f) Structure des hydrates de carbone

Pour les glycoprotéines, le contenu en hydrates de carbone (sucres neutres, sucres aminés et les acides sialiques) doit être établi. De plus, la structure des chaînes d'hydrates de carbone, la composition des oligosaccharides (profil antennulaire) et le ou les sites de glycosylation des chaînes de polypeptides doivent être analysés autant que possible.

6.1.2 Propriétés physicochimiques

a) Poids moléculaire ou dimension

Le poids moléculaire (ou la dimension) est déterminé par la chromatographie d'exclusion sur gel, l'électrophorèse en gel de SDS- polyacrylamide (dans des conditions réductrices et non-réductrices), la spectrométrie de masse, et autres techniques appropriées.

b) Profil d'isoformes

Celui-ci est déterminé par la focalisation isoélectrique ou autres techniques appropriées.

c) Coefficient d'extinction (ou absorptivité molaire)

Dans plusieurs cas, il sera préférable de déterminer le coefficient d'extinction (ou l'absorptivité molaire) pour le produit souhaité à une longueur d'onde UV/visible précise (p.ex.: 280 nm). Le coefficient d'absorptivité est déterminé par la spectrophotométrie en UV/visible d'une solution du produit qui a un contenu protéique connu et qui est déterminé par des techniques telles que

la composition en acides aminés, la détermination du contenu en azote, etc. Si l'absorption UV est utilisée pour mesurer le contenu protéique, on doit utiliser le coefficient d'extinction pour le produit en question.

d) Profil électrophorétique

Les profils électrophorétiques et les données sur l'identité, l'homogénéité et la pureté peuvent être obtenus par l'électrophorèse en gel de polyacrylamide, la focalisation isoélectrique, l'électrophorèse en gel de SDS-polyacrylamide, le transfert Western, l'électrophorèse capillaire ou autres méthodes appropriées.

e) Profils de chromatographie liquide

Les profils chromatographiques et les données sur l'identité, l'homogénéité et la pureté peuvent être obtenus par chromatographie d'exclusion sur gel, la chromatographie en phase liquide inversée, la chromatographie d'échange d'ions en phase liquide, la chromatographie d'affinité et autres méthodes appropriées.

f) Profils spectroscopiques

Les spectres d'absorption en ultra-violet et en spectre visible sont déterminés au besoin. La structure supérieure du produit est examinée en se servant de méthodes telles le dichroïsme circulaire, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et autres techniques appropriées.

6.2 Annexe pour les impuretés

Cette annexe énumère les impuretés potentielles, leur provenance et donne des exemples d'approches analytiques pertinentes pour leur détection. Les impuretés spécifiques et les démarches techniques utilisées, comme pour la caractérisation physicochimique, variera selon le produit, et souvent des approches différentes de celles énumérées dans cette annexe pourront être appropriées. De nouvelles techniques analytiques et des modifications aux techniques existantes sont en constante évolution et devraient être utilisées, au besoin.

6.2.1 Impuretés et contaminants issus de la fabrication

Ceux-ci découlent du procédé de fabrication (section 2.1.4) et sont classifiés en trois catégories principales: dérivés du substrat de cellules, dérivés du milieu de culture des cellules et dérivés de l'aval du procédé.

- a) Les impuretés dérivées du substrat comprennent entre autres, les protéines dérivées de l'organisme hôte et les acides nucléiques (génomiques, vecteur ou ADN total). Pour les protéines de la cellule hôte, un test sensible p.ex.: un immunoessai, pouvant détecter un large éventail d'impuretés protéique est généralement employé. Dans le cas d'un immunoessai, un anticorps polyclonal utilisé dans le test est produit par immunisation avec une préparation de cellules de production sans le gène codant pour le produit, avec des partenaires de fusion, ou autres lignées de cellules appropriées. On peut mesurer le niveau d'ADN provenant de la cellule hôte par analyse directe du produit (telles que les techniques d'hybridisation). Des études de clairance, qui pourraient inclure des expériences d'ensemencement à échelle réduite, démontrant l'élimination des impuretés dérivées du substrat cellulaire telles que des acides nucléiques et des protéines de la cellule hôte, peuvent quelque fois être utilisées pour ne pas avoir à établir des critères d'acceptation pour ces impuretés.
- b) Les impuretés dérivées du milieu de culture comprennent entre autres, les inducteurs, antibiotiques, sérums et autres composantes du milieu.
- c) Les impuretés dérivées de l'aval du procédé incluent entre autres, les enzymes, les réactifs de traitement chimique et biochimique (p.ex.: bromure de cyanogène, guanidine, agents oxydants et réducteurs) les sels inorganiques (p.ex.: métaux lourds, arsenic, ions non-métalliques), les solvants, les porteurs, les ligands (p.ex.: anticorps monoclonaux) et autres agents lessivables.

Pour les virus endogènes, dont la présence est intentionnelle, et pour les virus fortuits, la capacité du procédé de fabrication à éliminer et/ou inactiver les virus devrait être démontrée tel que décrit dans la ligne directrice de l'ICH: «*Evaluation de la sécurité virologique des produits issus de la biotechnologie et dérivés de lignées cellulaires d'origine humaine ou animale*».

6.2.2 Impuretés issues du produit comprenant les produits de dégradation

Les points suivants décrivent les variantes moléculaires du produit souhaité les plus fréquentes et listent les techniques pertinentes à utiliser pour leur évaluation. De telles variantes peuvent nécessiter des efforts considérables pour les isoler et les caractériser dans le but d' identifier le genre de modification(s). La présence en quantités significatives, de produits de dégradation résultant de la fabrication ou de l'entreposage, devrait être surveillée et contrôlée à l'aide de critères d'acceptation adoptés et pertinents.

- a) Formes tronquées: Les enzymes hydrolytiques ou les produits chimiques peuvent catalyser le clivage des liens peptidiques. Celles-ci peuvent être détectées par HPLC ou SDS-PAGE. La cartographie des peptides peut être utile, selon les propriétés du variant.

- b) Autres formes modifiées: Formes déamidées, isomérisées, liens S-S dépareillés, formes oxydées ou formes conjuguées modifiées (p.ex.: par glycosylation ou par phosphorylation) peuvent être détectées et caractérisées par des méthodes chromatographiques, électrophorétiques et/ou d'autres méthodes analytiques pertinentes (p.ex. HPLC, électrophorèse capillaire, spectroscopie de masse, dichroïsme circulaire).

- c) Aggrégats: La catégorie d'aggrégats comprend les dimères et multiples plus élevés du produit souhaité. Ceux-ci sont généralement issus du produit souhaité et des substances apparentées au produit, et peuvent être quantifiés à l'aide de méthodes analytiques appropriées (chromatographie par exclusion sur gel, électrophorèse capillaire).