



Étude de cas d'Agilent

Entretien : évaluation d'une stratégie innovante de tests d'identification analytiques appliqués aux oligonucléotides

Dites-nous quelques mots sur votre entreprise.

Vetter est une entreprise familiale de sous-traitance pharmaceutique (un CDMO) basée à Ravensburg en Allemagne et possédant des unités de production en Allemagne, en Autriche et aux États-Unis. Avec actuellement plus de 5 700 employés dans le monde, notre entreprise est spécialisée dans la production d'injectables stériles dans une large gamme de formats (seringues, cartouches, flacons et systèmes à double chambre). Nos prestations de base comprennent la fabrication clinique et commerciale, le conditionnement secondaire et l'assemblage de dispositifs pour médicaments parentéraux.

Vetter possède une grande expérience dans le soutien des processus de production de ses clients dans le secteur des biotechnologies et de l'industrie pharmaceutique grâce à des services analytiques tels que les tests de contrôle-qualité (CQ) des matières premières et des produits pharmaceutiques en cours de fabrication et après remplissage, les études de stabilité et le suivi analytique de développement.

Pour en savoir plus sur Vetter, rendez-vous sur vetter-pharma.com.

Quel est le type de travail réalisé par votre laboratoire ?

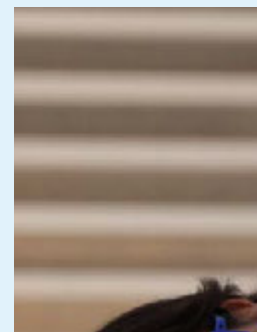
L'Analytical Science Laboratory (ASL) du service développement de Vetter (VDS) est spécialisé dans le suivi analytique appliqué au développement et à la caractérisation des procédés conformément aux exigences de l'actuelle bonne pratique de fabrication. Le VDS appuie le développement des produits du client, en particulier en ce qui concerne les procédés de production et de conditionnement.

L'ASL fournit un soutien analytique au développement et à l'implémentation des procédés de production et de remplissage, par exemple en mesurant l'humidité résiduelle dans les études de développement relatives à la lyophilisation, en déterminant la concentration et la stabilité des protéines dans les études de développement relatives au mélange et au pompage ou en contribuant au développement des procédés de désinfection des salles blanches grâce à notre centre d'excellence ASL « Détermination d' H_2O_2 ».



Alexandra Heussner, PhD

Directrice de laboratoire
Analytical Science Laboratory (ASL),
Service développement,
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,
Ravensburg, Allemagne



Melanie Zerulla-Wernitz, PhD

Directrice de l'Analytical Science Laboratory (ASL), service développement,
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,
Ravensburg, Allemagne

Vetter est une entreprise leader dans le domaine du remplissage de médicaments parentéraux, y compris les produits ophtalmiques. Par conséquent, une proportion très importante de nos compétences de laboratoire concerne l'analyse de particules subvisibles dans notre centre d'excellence ASL « Matières particulières ».

De plus, nous aidons au transfert des méthodes analytiques de nos clients, vers Vetter et au sein de Vetter, grâce à des études de faisabilité et à la qualification de laboratoire ou à la validation de procédures.

Enfin, nous soutenons l'implémentation à l'échelle de l'entreprise de nouvelles procédures et technologies d'analyse afin de toujours moderniser et mettre à niveau nos systèmes d'analyse et de fournir des technologies de pointe pour les nouveaux produits.

Décrivez certains des défis que vous devez affronter.

Les oligonucléotides sont une classe émergente de produits biopharmaceutiques pour laquelle il n'existe pas de stratégie éprouvée de demande d'autorisation du point de vue des techniques analytiques. En tant que CDMO, Vetter a besoin de solutions analytiques intelligentes pour répondre aux besoins de nombreux clients et de différents produits. Nous devons anticiper les systèmes ou procédures les plus susceptibles de satisfaire aux besoins futurs de nos clients en matière de développement et de production commerciale, afin de pouvoir fournir suffisamment rapidement et avec des efforts raisonnables les données analytiques essentielles à la garantie de la sécurité des patients et à la satisfaction des exigences réglementaires.

Autre défi, dans les environnements de l'actuelle bonne pratique de fabrication, l'innovation des systèmes ou procédures analytiques ou les mises à niveau des systèmes sont souvent techniquement complexes et exigeantes d'un point de vue réglementaire. Il est nécessaire de suivre une approche intégrative faisant intervenir des spécialistes des technologies analytiques, des experts en assurance qualité et des informaticiens. Il peut s'avérer particulièrement difficile de trouver une solution répondant aux exigences d'intégrité des données tout en offrant une utilisation pratique du système analytique sans perdre de fonctions nécessaires. Nous nous efforçons d'anticiper dès que possible les besoins futurs de nos clients, et aussi de Vetter, en particulier en ce qui concerne la conformité à la législation.

Comment le spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 vous a-t-il permis de surmonter ces défis ?

L'un de nos projets en cours vise à optimiser le suivi analytique des produits pharmaceutiques à base d'oligonucléotides. Par exemple, les tests de confirmation d'identité (ID) classiques tels que les procédures basées sur l'HPLC et l'UPLC échouent généralement à confirmer l'identité de ce type de produits.

On a tendance à associer des mesures de la température de fusion (T_m) avec des mesures de la masse intacte, combinant les informations de séquence et de masse pour obtenir une identification sans équivoque. Bien que différentes techniques analytiques aient été soigneusement examinées, cette stratégie basée sur la T_m a fait l'objet de discussions dans des conférences de spécialistes et est recommandée par de nombreux laboratoires pharmaceutiques développant et produisant des oligonucléotides.

Pour cette approche, l'UV-Vis Cary 3500 est à la pointe de la technologie. La température peut être réglée exactement grâce à l'élément Peltier intégré et régulée grâce à des sondes directement plongées dans les cuves. Ce modèle d'instrument multizone avec quatre paires de cuves permet de mesurer les échantillons et les solutions de référence en parallèle, avec jusqu'à quatre zones de températures différentes.

Pourquoi utilisez-vous l'UV-Vis pour vos tests d'identification des oligonucléotides ?

L'un des principaux objectifs de tout procédé de fabrication pharmaceutique est de s'assurer que chaque unité de produit médicamenteux contient le produit pharmaceutique voulu en quantité et qualité correcte. Pour cela, il faut disposer de procédés de fabrication et de tests de CQ de haute qualité.

Les pratiques de CQ actuelles dans les tests d'identification impliquent des technologies extrêmement sophistiquées telles que la confirmation de séquence de novo par séquençage par MS/MS ou l'analyse de séquences erronées. Pour les oligonucléotides simple brin en particulier, les mesures de la masse intacte peuvent être couplées à une seconde technique sensible à la séquence telle que le profil de fragmentation MS, la T_m ou la RMN et comparées avec un étalon de référence entièrement caractérisé. Pour les oligonucléotides double brin, les tests d'identification peuvent même être limités à la mesure de la masse intacte couplée à la confirmation du double brin formé, si la masse intacte de chaque brin est aussi mesurée avant renaturation¹.

Bien qu'il soit possible d'utiliser d'autres techniques, nous sommes convaincus que la mesure de la T_m et de la masse sera à l'avenir la stratégie d'analyse de référence pour les tests d'identification de CQ. C'est une stratégie judicieuse aussi bien du point de vue scientifique que du point de vue réglementaire et commercial : l'implémentation de systèmes et de procédures de mesure de la T_m à l'aide de l'UV dans les laboratoires de CQ est relativement facile et présente un faible coût de fonctionnement.

Les méthodes sont moins complexes que d'autres approches comme le séquençage par MS/MS ou la RMN, et les laboratoires ont souvent déjà à disposition un personnel qualifié qui peut rapidement être formé à l'utilisation de nouveaux instruments et de nouvelles procédures au lieu d'embaucher des spécialistes hautement qualifiés.

Puisque ces instruments peuvent aussi exécuter des méthodes UV-Vis courantes, ils peuvent être intégrés au parc d'instruments existant et offrent dès le départ un haut degré d'utilisation de la capacité. Chez Vetter, nous avons pu les intégrer tant à l'ASL qu'au laboratoire de CQ.

Comment avez-vous utilisé l'UV-Vis sur le Cary 3500 dans les tests d'identification des oligonucléotides ?

Afin de développer une connaissance approfondie de l'instrument et de l'application de la Tm, nous avons mené plusieurs études. Une étude des performances de l'instrument à l'aide de différents réglages de paramètres a démontré des performances très solides. Cette étude a fait l'objet de discussions avec des experts et est détaillée dans un livre blanc paru récemment²⁻⁴.

Dans une autre étude visant à déterminer la sensibilité des mesures de Tm dans les tests d'identification, nous avons étudié la spécificité de cette procédure quant à diverses séquences d'oligonucléotides. Des séquences d'oligonucléotides modèles et des variants ont été conçus, synthétisés et analysés. Nous avons observé que le remplacement d'une seule base ou les suppressions ou insertions d'un seul nucléotide entraînaient des modifications notables dans la Tm mesurée des duplex oligonucléotidiques. La spécificité généralement élevée de cette méthode envers les modifications subtiles dans les séquences oligonucléotidiques a confirmé son adéquation aux tests d'identification des oligonucléotides dans un environnement de CQ pharmaceutique. Il s'agit d'une procédure suffisamment robuste et sensible pour satisfaire aux exigences internes ainsi qu'à celles des clients de Vetter et des organismes réglementaires⁵.

Ces études, ainsi que d'autres études en cours, ont permis à Vetter d'approfondir son expertise dans le domaine des oligonucléotides et de l'analytique spéciale.

Combien de temps une mesure prend-elle ? Est-ce difficile ?

L'analyse d'un échantillon dans un environnement de BPF peut prendre moins d'une heure, suivant les paramètres sélectionnés. La vitesse de montée en température est d'une grande influence sur la durée nécessaire. Nos réglages favoris comprennent une vitesse de montée en température de 10 °C/min, se traduisant par une mesure de 10 minutes.

L'UV-Vis Cary 3500 est lui-même simple d'utilisation. Tout chercheur ou technicien de laboratoire qualifié peut l'utiliser et suivre la procédure après un court apprentissage.

Décrivez votre expérience de collaboration avec Agilent.

Lorsque nous avons choisi un instrument pour l'analyse de Tm dans l'ASL et pour le CQ, nous avons sélectionné Agilent et nous étions parmi les premiers utilisateurs de l'UV-Vis Cary 3500. Nous étions aussi, à notre connaissance, les tout premiers utilisateurs du logiciel dans des environnements réglementés suivant les directives de conformité de la section 21 CFR Partie 11 de la FDA.

Notre expérience de collaboration avec Agilent a été positive sur le long terme. Nous exploitons plusieurs instruments d'Agilent pour le CQ, dont les systèmes de HPLC Agilent, ainsi que dans l'ASL qui utilise l'ICP-MS Agilent 7800. Qu'il s'agisse d'assurer des prestations ou de répondre aux questions, Agilent a été un partenaire fiable et professionnel. Les techniciens Agilent ont été disponibles rapidement et apporté une assistance complète.

Selon vous, quel est l'avenir de cette technologie ?

Nous continuerons d'étudier les performances de ce test d'identification à mesure que de nouvelles opportunités se présentent. Nous voulons établir et valider une procédure de plateforme analytique basée sur les connaissances actuelles, qui pourrait permettre l'implémentation rapide des mesures d'identification, en particulier pour les nouveaux produits ou les clients qui ne disposent pas d'une procédure d'analyse se prêtant au transfert de méthodes.

Cet objectif implique une mise à niveau du système de nos instruments, susceptible d'améliorer encore davantage la précision du traitement des données. Nous avons implémenté et qualifié le système juste après sa mise sur le marché fin 2019 et nous utilisons encore la première version du logiciel offrant les fonctionnalités nécessaires pour la conformité de la section 21 CFR Partie 11 dans les environnements réglementés.

La nouvelle version du logiciel fournit désormais de nouveaux calculs intégrés pour le traitement des données tels qu'une fonction de lissage et des améliorations de la fonction de dérivation. Ces fonctions peuvent être enregistrées dans une méthode et appliquées automatiquement à la fin de la collecte des données. Nous collaborons en ce moment avec Agilent pour évaluer comment elles peuvent être qualifiées au niveau du système et non dans les validations de procédures spécifiques au produit.

Auteurs

Dr. Alexandra Heussner est une scientifique interdisciplinaire accomplie et une directrice de laboratoire au sein du service développement de Vetter à Ravensburg en Allemagne. Elle a contribué à notre compréhension de la toxicologie des toxines naturelles et des médicaments pharmaceutiques et appuyé le développement et l'implémentation de méthodes associant sciences biologiques, technologie de l'information et statistiques. Elle a obtenu un doctorat en sciences appliquées à l'Université de Sunderland au Royaume-Uni et, après de nombreuses années de recherche universitaire, elle a intégré Vetter en 2016. Avec son équipe à l'ASL, elle s'occupe actuellement de l'implémentation, du développement et de la validation de procédures d'analyse. Elle est membre de la Parenteral Drug Association (PDA).

Dr. Melanie Zerulla-Wernitz est à la tête de l'Analytical Science Laboratory, dans lequel elle dirige une équipe de scientifiques de domaines divers alliant sciences naturelles et appliquées. Elle a obtenu un doctorat en sciences naturelles à l'Université de Constance en Allemagne. Après de nombreuses années dans le développement préclinique, elle a intégré Vetter en 2004. Sa carrière a commencé dans le service contrôle-qualité puis a progressé vers le service développement. Après un passage d'un an dans le Service développement de Vetter de Chicago, elle continue de diriger l'ASL et travaille à l'expansion de son offre de prestations et d'analyses.

Références

1. Capaldi, D. *et al.* Strategies for Identity Testing of Therapeutic Oligonucleotide Drug Substances and Drug Products. *Nucleic Acid Therapeutics* **2020**, 30(5), 249–264. doi: 10.1089/nat.2020.0878.
2. Schuler, S. *et al.* Challenging Oligonucleotide ID Testing. *8th Annual Oligo Networking Event*, 23–25 Mar **2021**.
3. Schuler, S. *et al.* Emerging Therapeutic Oligonucleotides – ID Testing. *PDA UPS Conference*, 05–06 Oct **2021**.
4. Heussner A. H. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – Analytical Challenges Accepted. *PDA UPS Conference* 05–06 Oct **2021**.
5. Heussner, A. H. *et al.* Investigating Tm Method Specificity Using Oligonucleotide Sequence Variants. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2022**, (submitted).

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

RA44813.3348032407

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
Publié aux États-Unis, le 30 septembre 2022
5994-5144FR