



QUANTIFICATION DES **HCP - HOST CELL** **PROTEIN**

L'utilisation d'hôtes biologiques (mammifères, bactéries, insectes, champignons) comme substrats de production est largement répandue dans l'industrie biopharmaceutique. Les industries biopharmaceutiques sont soumises à des contraintes réglementaires strictes de la part des autorités de santé lors du développement de protéines recombinantes (vaccins, anticorps monoclonaux, etc.). De nombreuses impuretés sont inhérentes au procédé de culture cellulaire et principalement des composants cellulaires tels que l'ADN résiduel et les protéines.

LES PROTÉINES DE LA CELLULE

HÔTE (HCPS) constituent un groupe majeur des impuretés des médicaments biologiques. Produites par l'organisme hôte pour son propre métabolisme mais sans lien avec la protéine d'intérêt, elles sont variables, imprévisibles et hétérogènes en termes de propriétés physicochimiques. Elles peuvent persister dans le produit fini puisqu'elles peuvent être co-purifiées et concentrées avec la protéine d'intérêt. Elles sont donc inévitables.

LES RISQUES LIÉS AUX HCPS

De par leur origine, les HCPS peuvent être immunogènes et impacter l'efficacité, la pharmacocinétique et l'activité de ces produits. Ainsi, elles peuvent compromettre la sécurité des patients. Dans le cadre du management du risque les autorités exigent de caractériser la présence des HCPS ainsi que leur concentration et ce dès la phase I des essais cliniques.

LES EXIGENCES RÉGLEMENTAIRES

Selon les guidelines EMA (European Medicines Agency), les HCPS doivent être testées et répondre à des spécifications limites. Dans le cadre général de production d'une protéine recombinante, le seuil d'HCPS ne doit pas excéder 100 ppm (parties par million) dans le produit fini. Ce seuil est modulé au cas par cas, en fonction de la voie et la fréquence d'administration, de la dose du médicament et des résultats des études cliniques. Le seuil de tolérance doit toujours être fixé dans le respect du rapport bénéfices / risques.

La FDA (Food and Drug Administration) indique que les HCPS doivent présenter des seuils de présence limites selon des méthodes de détection très sensibles. Il est en effet difficile de déterminer une limite commune de contamination des HCPS pour tout type de produits de biotechnologie. Les HCPS sont en effet très variables qualitativement et quantitativement d'un produit à l'autre et même d'un système de production ou purification à l'autre. La standardisation de méthodes analytiques en devient alors problématique puisque les réactifs associés aux tests sont liés au produit même ainsi qu'au système de production.

Définir un composé suffisamment représentatif d'une impureté à suivre aux différentes étapes de production/purification ou à utiliser dans une approche de validation est un véritable challenge.

LA TECHNIQUE ELISA

D'après les recommandations de l'International Conference on Harmonization (ICH) Q6B, les HCPS doivent être documentées et caractérisées. À cette fin, un test format Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) est recommandé.

De par sa robustesse et son format haut débit, la technique ELISA est une méthode de référence pour détecter et quantifier les HCPS totales.

Cette technique est utilisée dans l'un de nos laboratoires dédiés aux analyses pour l'industrie bio/pharmaceutique situé à Poitiers et accrédité BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoire) et BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication).

DEUX TYPES DE KITS ANTI-HCPS PEUVENT ÊTRE DÉVELOPPÉS :

- Les kits dits «génériques» disponibles dans le commerce, sont capables de détecter les HCPS les plus communément retrouvées dans un système d'expression donné (CHO, E. coli).
- Les kits «plateformes» développés par l'industriel. Les étapes successives de ce processus sont les suivantes : préparation des antigènes, immunisation animale et validation du kit ELISA. La caractérisation des réactifs biologiques du kit ELISA anti-HCP (immunogènes + anticorps) est conjointe au développement de l'essai. Le western blot en 2 dimensions est ainsi préconisé par les autorités. La couverture de reconnaissance des anticorps anti-HCP est habituellement supérieure à celle obtenue avec des kits «génériques».

LES KITS DE qPCR :

Le développement de kits de qPCR permet également de répondre efficacement à la détection et quantification des HCPS. Le kit ProteinSEQ™ commercialisé par Thermo Fisher Scientific permet la quantification des HCPS dans les produits pour lesquels le substrat de production est la lignée CHO. Il a notamment pour avantage d'offrir un range de quantification (4 logs) plus important que l'ELISA. Il est ainsi possible de quantifier jusqu'à 0,2 ng/mL de protéines de la cellule hôte.

Références réglementaires : texte spécifique HCP : PE 2.6.34, USP <1132> décrit une méthodologie analytique par ELISA.

LES SERVICES SGS

ANALYSE DES ÉCHANTILLONS ET VALIDATION DE LA MÉTHODE

L'offre SGS dédiée à l'industrie bio/pharmaceutique comprend les **analyses de routine de vos échantillons** mais également la **validation de la méthode de quantification sur la matrice** selon les critères suivants : spécificité, linéarité, range, limite de quantification, répétabilité, précision intermédiaire.

À PROPOS DE SGS FRANCE DIVISION LIFE SERVICES

Au travers de ses 18 laboratoires analytiques basés en Europe, en Asie et sur le continent américain, SGS optimise son réseau international pour offrir des solutions harmonisées globales et

locales aux laboratoires pharmaceutiques et de biotechnologie.

SGS réalise également des études cliniques de la phase I à IV, le traitement des données, la simulation et modélisation de données pharmacocinétiques.

NOUS CONTACTER

SGS FRANCE DIVISION LIFE SERVICES

4, rue du Commandant d'Estienne d'Orves
92390 Villeneuve-la-Garenne
t. + 33 (0) 1 41 06 95 85
fr.pharmaqc2@sgs.com
www.sgsgrupp.fr