

G. Le Guyader; V. Vieillard; M. Paul

Service de Pharmacie, Groupe hospitalier Henri Mondor, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France.

Introduction

Actuellement quatre biosimilaires du Trastuzumab sont disponibles sur le marché. Des études précédentes avaient démontré une stabilité du trastuzumab Herceptin® de 6 mois à 4°C après dilution et de 3 mois pour l'un de ses biosimilaires dans les mêmes conditions.

Objectifs: Etudier la stabilité du Trastuzumab biosimilaire OGVRI commercialisé par les Laboratoires Mylan, après reconstitution des flacons à une concentration de 21 mg/ml et après dilution pour des concentrations finales de 0,8 et 2,4 mg/ml et conservation dans des poches de polyoléfine à 4°C et 25°C. En parallèle, a été étudié l'impact d'une excursion de la température de conservation à 25°C pendant 3 jours (sur les poches et flacons) et pendant 7 jours dans le flacon avant reconstitution.

Matériel et Méthodes



Les flacons ont été fournis par le laboratoire Mylan.

Trois lots différents ont été utilisés. Les flacons ont été reconstitués et dilués en conditions stériles aux concentrations finales de 0,8 mg/ml ou 2,4 mg/ml dans des poches de NaCl.



Les poches et flacons reconstitués ont été conservés pendant 3 mois (poches) et 1 mois (flacons) à 4°C avec une excursion à 25°C pendant 3 jours

Les flacons avant reconstitution ont été conservés 7 jours à 25°C.



La stabilité physico-chimique a été testée en utilisant les méthodes suivantes : turbidimétrie, spectrométries UV et de fluorescence, diffusion dynamique de la lumière, chromatographies ionique et d'exclusion stérique, pH, osmolarité et densité.

Les analyses ont été réalisées en triplicate. Toutes les méthodes utilisées ont été démontrées comme indicatrice de stabilité pour les anticorps.

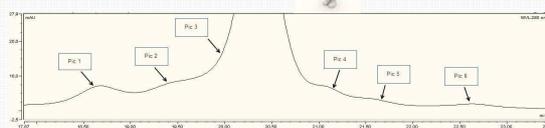
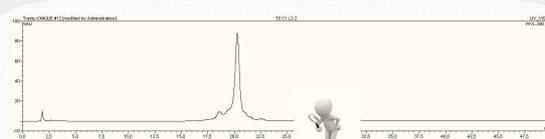
► La stabilité est-elle maintenue après reconstitution en flacons ainsi qu'en cas de conservation dans des poches de polyoléfine ?

► Une excursion de température a-t-elle un impact sur la stabilité ?

Résultats

Diamètre moyen (nm)	J0	J30	J90
Poche	11,136 ± 0,267	11,65 ± 0,33	11,99 ± 0,31
Flacon	7,09 ± 0,146	7,60 ± 0,29	NA

Absence de modification du diamètre hydrodynamique moyen mesuré par DLS. On peut donc conclure que la conservation du Trastuzumab pendant trois mois à +4 °C (dont 3 jours à 25°C) n'influence pas son diamètre hydrodynamique et n'induit pas la formation de populations d'agrégats submicroniques, microniques et de particules.

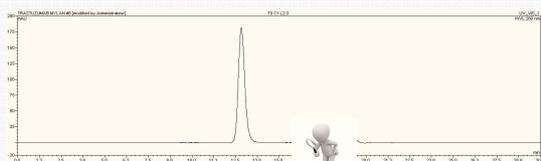


%pic/total	J0	J90
Pic 1	4,54% ± 0,15	4,88% ± 0,14
Pic 2	0,24% ± 0,04	0,24% ± 0,03
Pic 3	93,36% ± 0,22	92,82% ± 0,13
Pic 4	0,34% ± 0,04	0,44% ± 0,08
Pic 5	0,31% ± 0,02	0,05 ± 0,02
Pic 6	1,22% ± 0,10	1,58% ± 0,10

La chromatographie ionique n'a pas montré de modification significative dans la répartition des variants ioniques, signant l'absence de modification de la structure initiale, notamment des déamidations.

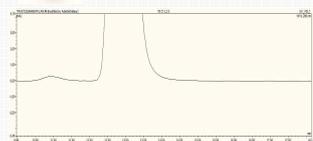
► absence d'instabilité chimique

Les profils chromatographies par exclusion de gels n'ont pas montré de formation d'oligomères ni de ruptures de la structure moléculaire.



Un monomère principal :
99,80 ± 0,018 %

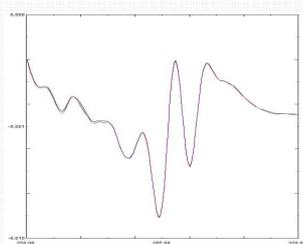
Un dimère :
0,2 ± 0,018 %



Les résultats de turbidité témoignent de l'absence de formation d'agrégats diffractant la lumière durant la conservation tant sur 90 jours à +4 °C qu'après une excursion en température de 3 jours à +25 °C.

Les courbes de dénaturation thermique étaient identiques, suggérant l'absence de modification de la température d'agrégation thermique et donc d'une absence de déstabilisation thermodynamique: cette stabilité thermodynamique ne semble pas affectée par les conditions de concentration, de température et de durée de conservation.

L'analyse spectrale par UV et fluorescence dérivée n'a pas montré de modification, en particulier de la structure tertiaire de l'anticorps.



► Le Trastuzumab biosimilaire Mylan peut être conservé en flacons après reconstitution pendant 30 jours ainsi qu'après dilution dans des poches NaCl 0.9% à +4 °C pendant 90 jours sans altération notable.

► L'excursion transitoire de température (3 jours) ne remet pas en cause non plus l'intégrité du Trastuzumab biosimilaire.

► Des résultats similaires sont observés sur les flacons conservés 7 jours à 25°C avant reconstitution.

Discussion /Conclusion

Après reconstitution avec de l'eau ppi stérile et dilution en condition stérile avec du NaCl 0,9% dans des poches de polyoléfine, aux concentrations usuelles de 0,8 et 2,4 mg/ml, le Trastuzumab biosimilaire Ogvri est stable pendant au moins 3 mois à 4°C à l'abri de la lumière. Les mêmes conclusions peuvent être portées pour les flacons après reconstitution à 21 mg/ml pendant 30 jours. Enfin les deux excursions thermiques testées (3 jours à 25°C sur les flacons après reconstitution et poches après dilution et 7 jours à 25°C sur les flacons fermés) n'ont aucun impact sur la stabilité.