

La Vague

LE MAGAZINE DE LA PHARMA ET DES BIOTECHS

N° 81 | Avril 2024
Trimestriel

Sous-traitance de la
bioproduction des
biomédicaments
en France.

Externalisation
des audits
fournisseurs :
les clés de la réussite.

General Considerations
on Bacterial Endotoxins
& USP Approach to
Developing GC ...

Microbial Monitoring
RABS Gloves: Unravelling
the Implications
of Directional Use.

Externalisation des activités

Maitrise de la contamination

Sommaire

N°81 // Avril 2024

Édito Externaliser, c'est aussi maîtriser !.....	3
Ils ont participé à ce numéro 	4
Billet d'humeur Au cœur du réacteur	5
Actualités A3P Synthèse A3P Bionettoyage.....	6
Actualités A3P GIC A3P Performance environnementale	9
Actualités A3P Événement A3P Microbiologie	10
Actualités A3P Événement Congrès Intern. A3P 2024	13
Réglementaire Ring	14
Outsourcing Sous-traitance de la bioproduction des biomédicaments en France.....	15
Outsourcing Externalisation des audits fournisseurs : Les clés de la réussite.....	20
Outsourcing Selecting container closure components with confidence: A data-driven approach to CCI 25	
Technology L'art de comprendre le langage : l'évolution du traitement automatique du langage.....	29
Contamination Microbial Monitoring RABS Gloves: Unravelling the Implications of Directional Use..	35
Contamination General Considerations on Bacterial Endotoxins & USP Approach to Developing GC 37	
Contamination Bacterial Spore Formers in Disinfectant Efficacy Testing.....	41
Contamination Avoiding product oxidation by H ₂ O ₂ in isolators. It all depends on the right analyses!...	45

La Vague

Revue trimestrielle N° 81 - Avril 2024
Numéro offert aux adhérents de l'Association (valeur 10€)

• Directrice de la Publication
Anne RIGOULOT

• Rédacteur en chef
Frédéric BAR

• Comité de lecture
Frédéric ESTASSY, Arnaud HUC, Hervé TASSERY, Lauriane ZUCHUAT

• Coordination, DA & conception
Sophie TORGUE
storgue@a3pservices.com

• Impression
VL développement
42000 Saint-Just-Saint-Rambert

• Editeur
A3P Association
30, rue Pré Gaudry - 69007 Lyon

• Dépôt légal à parution
N° d'ISSN : 1298-0471

Tous droits réservés. Les articles publiés
n'engagent que la responsabilité de leurs
auteurs.

Tirage : 2300 exemplaires
Imprimé sur du papier issu de forêts
durables.



Les avantages de l'adhésion A3P Inscrivez le site* de votre entreprise & faites bénéficier de toute la base documentaire, à vos collaborateurs !



Depuis votre espace personnalisé sur le site A3P, bénéficiez de tous les **contenus techniques, scientifiques** (supports de conférences et guides), accédez aux **annuaires adhérents et sociétés**, profitez de l'outil de **veille réglementaire RING**, participez à des **événements privilégiés**, utilisez l'**application mobile**, recevez tous les trimestres sur votre bureau la **version papier du magazine La Vague**, ... et surtout faites partie du **Réseau de l'Industrie du propre & stérile** !

<p>Tout le contenu des événements A3P conférences, ateliers, ...</p>	<p>Réglementaire veille, warning letter, ...</p>	<p>Tous les Guides Techniques & scientifiques</p>	<p>Annuaire des membres du réseau</p>
---	---	--	--

Toutes les infos sur www.a3p.org/adhesion/

*La cotisation Site fait référence à une adresse postale d'un laboratoire de production d'une société prestataire / fournisseur ou d'un siège social. Le montant est défini selon le nombre de salariés attachés au site. Cotisation valable 1 an de date à date et dans tous les pays où l'Association A3P est représentée.

Edito

Hervé TASSERY - Membre du CA A3P & Comité de lecture

Externaliser, c'est aussi maîtriser !

Ce numéro de "La Vague" se penche sur l'externalisation des activités et la gestion de la sous-traitance. Voilà bien une question au centre des préoccupations des industriels, mais aussi des autorités de santé, quelle que soit leur origine. Qui n'a pas déjà été challengé, lors d'une inspection, sur ce sujet parfois un peu "brulant" ?

Pourquoi externalise-t-on certaines activités ? Il y a plusieurs raisons à la sous-traitance : le manque de disponibilité ou de temps face, par exemple, à un surcroît d'activité ponctuel ou des plannings trop "chargés", ou le manque de compétences techniques pour réaliser certaines tâches, comme des analyses complexes, ou le manque de compétences tout court pour assurer certaines missions, dont certains audits.

On peut aussi évoquer la nécessité de disposer ponctuellement de compétences particulières, non nécessaires de façon "continue" sur le site, comme par exemple, pour effectuer les opérations de requalification périodiques des environnements contrôlés, les étalonnages des différents capteurs et sondes présents dans les différents secteurs ou certaines opérations de validation.

Il y a aussi la sous-traitance des certaines interventions, comme les opérations de maintenance et d'exploitation, sous-traitées à des sociétés spécialisées présentes sur les sites quasiment "en continu". Les causes de l'externalisation sont donc multiples et permettent de gérer des situations qui seraient souvent ingérables sans faire appel à des partenaires extérieurs.

Quelles activités externalise-t-on ? Il serait présomptueux de vouloir faire une liste exhaustive des activités "externalisables". Parmi les activités les plus souvent sous-traitées, on peut citer : Les opérations d'analyse, chimiques et microbiologiques, Les opérations de qualification des locaux, des environnements et des équipements, Les opérations de maintenance (préventives et/ou curatives), Les opérations d'étalonnage sur site et/ou en centre spécialisé, La réalisation d'audits internes, des fournisseurs, sous-traitants et prestataires, La réalisation de formations, en sur site et/ou à l'extérieur, Le nettoyage des locaux, L'entretien des vêtements de travail, Le gardiennage... Vous trouverez dans ce numéro des articles sur les raisons du choix de l'externalisation et l'intérêt de sous-traiter des activités comme la réalisation d'audits des fournisseurs ou les analyses chimiques et microbiologiques.

Comment garder la main sur ces activités ? Quoiqu'il arrive, sous-traiter ne veut pas dire "se décharger de la responsabilité" de l'opération. Les BPF ont bien intégré ce risque et en ont fait

un chapitre complet : Le chapitre 7 : "Activités externalisées". Le décor est planté dès l'introduction : "Toute activité couverte par le guide des BPF qui est externalisée, doit être définie de manière appropriée, convenue et contrôlée afin d'éviter tout malentendu susceptible de conduire à un travail ou un produit de qualité insuffisante". **Les acteurs sont clairement définis et les BPF développent les responsabilités : du donneur d'ordre & du sous-traitant.**

Le donneur d'ordre a la responsabilité finale de s'assurer que des processus sont en place pour assurer la maîtrise des activités externalisées. Cela commence par évaluer la légalité, l'aptitude et la compétence du sous-traitant à mener à bien ces activités externalisées. Un contrat, élément clé de la relation, doit être établi et doit garantir au donneur d'ordre que les principes des BPF sont respectés lors de la réalisation des activités sous-traitées. Par ailleurs, le donneur d'ordre doit surveiller régulièrement et évaluer la performance de ses sous-traitants.

L'opération sous-traitée doit rester "sous maîtrise", mais ce n'est pas toujours simple à garantir quand on sous-traite, par exemple, en raison de son incapacité à réaliser soit même l'opération pour des raisons de compétences !

Le sous-traitant, de son côté, doit être en mesure d'effectuer de manière satisfaisante le travail confié. Il doit disposer de locaux, d'équipements, des connaissances et de l'expérience appropriés, ainsi qu'un personnel compétent.

C'est à ce moment qu'intervient, même si elle n'est pas développée dans les BPF, **la notion de confiance !**

De toute façon, un contrat doit être établi entre le donneur d'ordre et le sous-traitant précisant les responsabilités respectives et les processus d'échange concernant les activités externalisées. Les aspects techniques du contrat doivent être établis par des personnes compétentes, possédant des connaissances appropriées en matière de sous-traitance d'activités et de BPF.

En complément de la confiance accordée, le donneur d'ordre devra, quoi qu'il arrive, auditer, "sur site" à chaque fois que possible, les activités externalisées effectuées par le sous-traitant. Enfin, au cours du temps, un suivi des "performances" du sous-traitant par le donneur d'ordre doit permettre de garantir la continuité de la qualité de la prestation.

Pour conclure cet éditto, on aura bien compris que sous-traiter, c'est une nécessité dans de nombreux cas, mais c'est aussi continuer à maîtriser ce que l'on sous-traite.

Merci à nos Contributeurs

Ils ont participé à ce numéro



Rédacteurs de "Sous-traitance de la bioproduction des biomédicaments en France"

Nicolas GROUX

MABDESIGN

De formation initiale en Biochimie et Biotechnologies de l'UCBL, Nicolas a complété sa formation en Management de la Technologie et de l'Innovation à l'EM Lyon. A l'origine de la création de MabDesign en 2014, il en est le Directeur Général.

Geoffrey RICHARD

MABDESIGN

Après avoir obtenu un doctorat en oncologie, Geoffrey a travaillé au sein de laboratoires de recherche académique. Par la suite, il a complété sa formation en obtenant un diplôme en management des biotechnologies. Il a ensuite intégré MabDesign en 2017.

Gavin VUDDAMALAY

MABDESIGN

Gavin a occupé différents postes dans le privé et le public, comme directeur de laboratoire (CRO) et enseignant-chercheur (université). Gavin a un doctorat en immunologie et maladies infectieuses de l'Université de Toulouse.

Soria CATHERINE

INTERTEK

Rédactrice de "Externalisation des audits fournisseurs : Les clés de la réussite"

Soria est ingénieure biochimiste diplômée de l'INSA de Lyon. Elle a complété sa formation par un diplôme universitaire en pharmacie industrielle. Elle a travaillé avec les plus grands groupes pharmaceutiques dans la formation, le conseil et l'audit où elle a pu partager ses connaissances en assurance qualité, notamment en validation de nettoyage et en assurance de stérilité. Soria est aujourd'hui responsable de l'activité d'audit au sein de la division pharmaceutique.



Bettine BOLTRES

GLASS SYSTEMS at WEST

Rédactrice de "Selecting container closure components with confidence: A data-driven approach to CCI"

Dr. Bettine Boltres is supporting the scientific exchange between West and the pharmaceutical industry. She has authored the book "When Glass Meets Pharma", which builds the bridge between glass for pharmaceutical primary packaging and drug substances. With her profound knowledge in glass, polymer and rubber materials for container closure systems she serves as an expert in these areas in the United States Pharmacopoeia Packaging and Distribution Expert Committee, the European Pharmacopoeia Commission and the ISO TC76 Working Group 2 and 4. Additionally, Bettine is on the PDA Board of Directors and in 2015.

Felix HEISE

MERCK KGAA

Rédacteurs de "Avoiding product oxidation by H₂O₂ in isolators. It all depends on the right analyses"

Head of Global MSAT DP Biologics / Merck KGaA – Healthcare (EMD Serono) Senior Expert Barrier Systems Syntegon Technology

Thomas KOSIAN

SYNTEGON TECHNOLOG



Stefano D'AMICO

USP

Rédacteur de "General Considerations on Bacterial Endotoxins & USP Approach to Developing GC <86> Bacterial Endotoxins Test Using Recombinant Reagents"

After gaining around 10 years of experience in the pharmaceutical industry, particularly in Quality Control, Microbiology, and Sterility Assurance, Stefano joined USP in 2022. As a part of the Strategic Customer Development EMEA Team in Basel, he is committed to supporting key portfolio accounts in Southern Europe and Central Asia.

David SHIELDS

STERIS

Rédacteurs de "Bacterial Spore Formers in Disinfectant Efficacy Testing"

Dave is a Senior Manager at STERIS Corporation. Dave has over two decades of professional microbiology experience, specifically in food microbiology and aseptic manufacturing microbiology. He holds a master's degree in management and a bachelor's degree in biology.



Jim POLARINE

STERIS

Mr. Polarine is a senior technical service manager at STERIS Corporation. His current technical focus is microbial control in cleanrooms and other critical environments. He is a frequent international industry speaker and published several PDA book chapters and articles related to cleaning and disinfection and contamination control



Walid EL AZAB,

QP/PRO SERVICES

Rédacteur de "Microbial Monitoring RABS Gloves: Unravelling the Implications of Directional Use"

Walid is an Industrial pharmacist, a Qualified Person (QP). His areas of expertise include both upstream and downstream pharmaceutical operation and validation in non-sterile and sterile process. He is an active member of the PDA, ISPE, ECA, and A3P associations with numerous published articles and book chapters on contamination control.



Virginie BRIFFAUD

EFOR

Virginie est data scientist au sein du centre d'expertise data du groupe Efor. Titulaire d'un doctorat en Neurosciences, elle apporte sa compétence en analyse de données et intelligence artificielle aux entreprises travaillant dans le secteur des Life Sciences.



Enrico PERSPACCE

EFOR

Enrico est data scientist au sein du centre d'expertise data du groupe Efor. Titulaire d'un doctorat en chimie et d'un master en data science pour la santé, il accompagne les entreprises sur des problématiques de données dans le domaine des Life Sciences sur l'ensemble du cycle de vie du produit.



Mehdi Olivier DOUBIANI

EFOR

Mehdi Olivier est directeur du Laboratoire d'Intelligence Artificielle (Lab IA) du groupe Efor. Sa compétence en data science et Intelligence Artificielle, fruit de 16 années de formation et d'expérience est complétée par une solide expertise dans les domaines de la statistique, de la biologie cellulaire et moléculaire.

Billet d'Humeur

Frédéric BAR - Membre du CA A3P & Comité de lecture



La dernière fois que j'ai pris la parole dans La Vague, c'était pour partager avec vous des idées pour aider notre industrie à avancer sur la décarbonation. Nous avons largement disserté sur les sources d'énergie et je suis content de voir que le nucléaire, post COP28, revient au cœur du progrès énergétique. Là, vous avez peur et vous pensez que je vais vous refaire le coup du climat !

Mais, figurez-vous que ce n'est pas du tout de ce cœur de réacteur dont je vais vous parler aujourd'hui. Je veux concentrer votre attention sur le cœur du réacteur du magazine La Vague ! Je vais vous plonger dans ce qui se passe derrière tout ça. Comment arrive-t-on à tenter de vous captiver pour que vous soyez heureux de lire les articles ? Pour que vous découvriez des informations scientifiques pertinentes pour vous aider à résoudre vos problématiques ? Comment faire pour que vous souriez en lisant ces quelques lignes ?

Alors, oui, je suis d'accord avec vous, le premier rôle de ce billet est de vous motiver pour la suite et que vous plongiez dans les excellents articles sur la Maitrise de la contamination & L'externalisation des activités. Laissez-moi vous demander : Est-ce un thème où l'on trouve facilement des articles et plein d'auteurs enthousiastes ? Et bien... Non ! Mais c'est ça qui est magique avec La Vague. Nous avons nos mentors avec Anne Rigoulot et Didier Meyer qui sont parfaitement calmes face aux échéances et apparemment en total contrôle malgré leurs multiples casquettes. Avec leur aide, on essaye de lire dans nos boules de cristal pour trouver les thèmes qui vont vous passionner mais en même temps, on respecte les thèmes historiques sur lesquels vous avez besoin d'une mise à jour.

Et là, il faut la force du collectif avec l'équipe du comité de lecture, Anne, Sophie, Frédéric E, Hervé, Lauriane et Arnaud pour se motiver les uns et les autres et ne rien lâcher. On prend notre bâton de pèlerin et on se connecte avec vous, on vous demande d'écrire, on vous influence sur l'impact de votre article et on finit par vous convaincre de passer du temps, de nos jours, sur l'écriture. Mais c'est essentiel dans notre monde qui zap, snap, like et papillonne. Doit-on perdre l'outil d'information le plus puissant, le plus pérenne, l'écrit ? Et bien hors de question, il est essentiel d'écrire et de bien poser les choses ! A vos plumes ! Faites-nous voyager avec vos articles comme ceux de Sylvain Tesson !

Je digresse un peu, revenons à notre magazine. Nous avons toujours nos sueurs froides à l'approche du couperet de la date de publication. On rentre dans la phase la plus exigeante ; la relecture. Il faut toutes les compétences du groupe pour vous donner, vous nos très chers auteurs, un retour précis et pertinent pour améliorer vos articles. A-t-on fait ce qu'il faut pour avoir assez de contenu ? Est-ce qu'on colle au thème ? Est-on assez scientifique ?

En soit, va-t-on ne faire que des heureux lecteurs ?

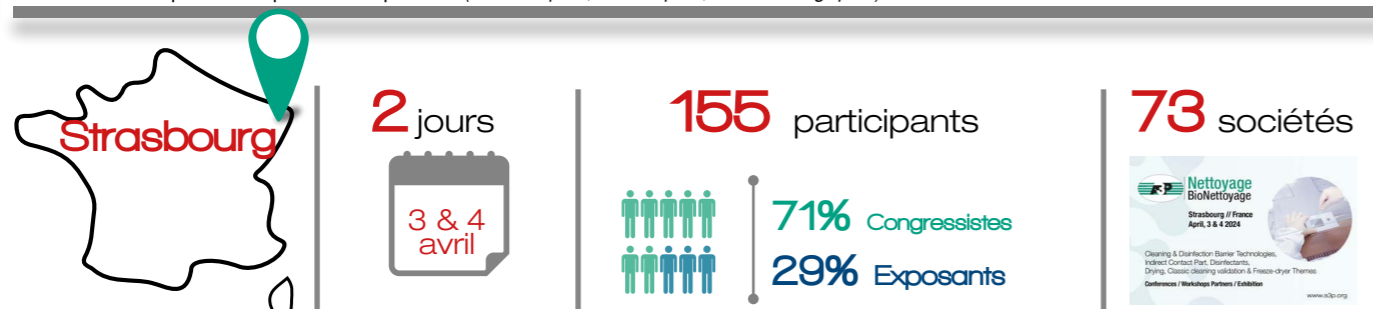
L'alchimie d'un numéro comme celui-ci se trouve dans le bon équilibre entre le contenu scientifique, l'attrait de l'innovation de nos fournisseurs et le raccord avec le thème. Et là encore, quelques heures de travail nous permettent d'établir un chemin de fer, "comme on dit dans le jargon", pour créer une fluidité dans votre lecture. Et voilà, cela part sous presse et finit dans vos mains avec le sentiment du devoir accompli.

Dans notre magazine en papier recyclé, vous découvrez de la connaissance qui fait avancer notre métier. Bonne lecture à tous et si vous avez compris mon message, envoyez-nous aussi vos beaux articles !

Vous aussi, vous souhaitez participer aux prochains numéros ? Faites-nous parvenir vos propositions d'articles qui seront étudiées par le comité de lecture pour approbation. => Coordonnées des contacts page 2

Synthèse Évènement

L'essentiel des prises de position exposées (scientifiques, techniques, méthodologiques)



Nettoyage, Désinfection, Bionettoyage, Décontamination, Bio-Décontamination, Détergence, lavage... Tous ces mots sont régulièrement mal compris ou mal utilisés sur les sites industriels. Le nettoyage fait plutôt référence à la maîtrise de la chimie quand le mot bionettoyage signifie plutôt l'élimination du vivant. Il faut plutôt se baser sur les exigences de l'Annexe 1 des GMPs pour la désinfection et la décontamination alors que le nettoyage et sa validation font plutôt références aux exigences de l'Annexe 15. En réalité, bien souvent, ces mots sont liés et toutes nos surfaces de ZAC se doivent d'être visuellement propres et sèches avec un niveau bioburden le plus bas possible avant de réaliser une opération de fabrication. Ceci implique un effort de validation adapté et bien dimensionné pour les procédés de décontamination, notamment des surfaces en contact produit indirect, à la marge des "deux mondes". Cet événement parlera donc de la maîtrise de la décontamination des surfaces et reviendra notamment sur les "Indirect Contact Parts" de nos technologies barrières sans oublier les fondamentaux de la validation de nettoyage.

Accès aux présentations ➔ www.a3p.org/supports-conferences-ateliers/

Introduction par les leaders du GIC Nettoyage

par Lauriane ZUCHUAT, CORDEN PHARMA & Pierre DEVAUX, THERAXEL

Les membres du GIC vous présentent pour la 3^{ème} fois leurs travaux sur la Maîtrise du risque chimique et biologique. Nettoyage et Désinfection : Quel sens donner à ces termes ?

Procédé de nettoyage : naviguer entre les BPF Annexe 1 et annexe 15

par Julie RACAUD, LABORATOIRES AGUETTANT & Thomas ROHAUT, AKTEHOM

L'Annexe 15 évoque la mise sous contrôle de la contamination croisée par la validation de nettoyage des équipements de production. L'Annexe 1, quant à elle, présente la maîtrise du risque autour de l'environnement du produit et le nettoyage comme un processus essentiel pour retirer les résidus et permettre une décontamination des surfaces.

Comment contrôler la contamination et s'assurer de la maîtrise du risque ? Des études de cas sont présentées avec des outils d'aide à la maîtrise du risque, notamment pour les cas spécifiques.

Maîtrise de la Décontamination des surfaces pour les Technologies Barrières (Isolateur et RABS) : Approches communes et spécificités

par Audrey FOURCADE LABELLE, LFB & Audrey THIERY, DELPHARM & Elodie PASTRE, ISOTEC'XEL

Préalablement : Prendre en compte l'ensemble des risques de contamination sur les lignes de répartition. 2 cas pratiques sont présentés sur un RABS et un isolateur avec identification des risques et des moyens de maîtrise des risques sur des lignes existantes. Quelles surfaces doivent être prises en compte ? Quel moyen de maîtrise de la contamination sur les surfaces en contact indirect ?

Séchage : un process à part entière !

par Guillaume BONNEAU, NOVO NORDISK

Aucun doute sur le procédé de séchage à part entière conformément aux exigences notamment de l'Annexe 1 ! Pourquoi ? Etape à part entière du processus de nettoyage il convient d'assurer l'efficacité du contrôle visuel sur une surface sèche et un meilleur contrôle des temps de stockage propre (Clean Holding Time) des équipements.

De la conception des équipements, leurs fonctionnalités et pour finir par la recette de nettoyage, tous ces éléments doivent participer à la maîtrise du procédé de séchage !

Taux de recouvrement en contrôle microbiologique environnemental, est-ce bien raisonnable ?

par Solenn JANVIER, PIERRE FABRE & Philippe TAILLIEZ, ACM PHARMA

Comment faire pour réaliser ce taux de recouvrement ? Est-ce que le temps d'exposition est basé sur une validation ? Le facteur de correction est-il nécessaire ? Quelle méthodologie appliquer ?

Beaucoup de pratiques différentes sur les sites pharmaceutiques : incubations, matériel, fournisseur, surface... Cette présentation présente toutes les sources d'incertitude possible à considérer et des études faites en essais inter laboratoires avec des paramètres variables.

Développement et validation des méthodes analytiques pour la validation de nettoyage : trucs et astuces

par Solenn JANVIER, PIERRE FABRE

Après évaluation du risque, la stratégie de contrôle doit être adaptée : méthode spécifique ou non spécifique ? Comment choisir le type de méthode à utiliser ? Exemple d'une méthode d'analyse rapide spécifique comme l'UPLC.

Après développement, selon l'Annexe 1 (§9.1), une validation doit être faite selon l'ICH Q2 (R2) en tenant compte des spécificités liées à la détection des résidus de produit notamment la validation des taux de recouvrements.

Prise en compte du DHT et des tailles de campagnes dans l'approche pire-cas en validation des procédés de nettoyage

par Agnès FRANCO, VIRBAC & David UGOLINI, UPS CONSULTANTS

Quelle stratégie de validation appliquer pour les campagnes ? Plusieurs cas pratiques présentés avec les points de vigilance pour la détermination des validations de nettoyage durant les campagnes.

Comment considérer l'approche pire-cas dans la validation de nettoyage pour la détermination du "Dirty Holding Time" (DHT) ? Impact sur la nettoyabilité, la solubilité, la toxicité/activité dans la validation initiale et le DHT pour des différents types de forme pharmaceutique.

Les clés : une bonne connaissance du procédé de nettoyage, des contrôles environnementaux et des autres phénomènes et paramètres qui peuvent avoir une influence sur le DHT (risque microbiologique, dégradation API, conditions opérationnelles, ...).

Validation de l'efficacité des désinfectants : méthodologie, étude de cas et conseils

par Denis STREITT, LABORATOIRES ANIOS & Nicolas PALLUET, CONTEC EUROPE

Quelles sont les normes applicables (Biocidal Products Regulation (BPR)) ?

Présentation des Tests selon EN 13697, EN 16615 (avec action mécanique). Des conseils pour choisir un laboratoire tiers afin d'effectuer les validations. Choisissez vos critères d'acceptation en fonction de la qualité des salles blanches et des données de surveillance environnementale. Une évaluation minutieuse doit être effectuée en fonction du type de surface et des organismes sélectionnés.

Faut-il réviser les PDEs ?

par Stéphane PIERRE, CEHTRA

Rappel sur la PDE (Permitted Daily Exposure) : dose journalière en dessous de laquelle si un individu est exposé, il n'y a aucun risque pour sa santé (également appelée ADI Acceptable Daily Intake).

Valeur requise dans les critères d'acceptation pour calcul de la MACO (ou MSC Maximum Safe Carryover) selon les BPF.

La voie d'administration du produit B est importante à prendre en compte ainsi que la population cible du médicament.

A l'issue du sondage réalisé auprès de l'audience, 50% des laboratoires présents n'ont pas envisagé une mise à jour de leurs valeurs PDE. Des propositions de stratégie sont présentées en fonction de la connaissance de la substance et des études cliniques et toxicologiques en cours. Présentation de cas concrets de valeurs PDE à différentes phases de développement d'un produit pharmaceutique.

Quelle approche pour des contraintes multiples ? Comment appréhender le nettoyage d'un box de fabrication en classe A/B

par Marie-Bénédicte TESSIER, VETOQUINOL

Le nettoyage fait parti de la production, étape importante dans le cadre de la maîtrise de la contamination. Comment optimiser le nettoyage en intégrant cette opération dans les routines de production ? Ces étapes doivent être intégrées au planning de production, tout en tenant compte des impacts environnementaux (déchets et consommation d'eau) et l'impact financier, tout en impliquant l'ensemble du personnel.

Stratégie de nettoyage des surfaces en contact indirect dans un isolateur de remplissage

par Nicolas TAILLIERE, PHARMACIE CENTRALE DES ARMEES & Ségolène LEBRUN CHARRAT, COPHACLEAN

L'objectif est de construire une stratégie de bionettoyage, prenant en compte le niveau de risque grâce à l'approche basée sur les risques. Identification des risques et des sources de contaminants sur chaque partie de l'isolateur de remplissage : type de contaminant pris en compte (chimique, microbien et particulaire).

Accessibilité de la surface et le niveau de contact indirect pour ajuster le bionettoyage.

Maîtrise de la contamination croisée et validation de nettoyage : Cas des lyophilisateurs

par Cecilia LA ROCCA, SYNERLAB LYOFAL & Christophe GAMBLIN, THERAXEL

Démarche d'optimisation prenant en compte l'environnement actuel du site. Que faut-il considérer dans l'optimisation du processus de nettoyage ?

Développement de la recette de nettoyage après identification des contaminants et proposition de mise en œuvre d'une périodicité basée sur la capacité du processus de nettoyage.

Améliorations en termes de productivité, de planification et de répétabilité des pratiques (mise en place d'un programme de formation).

Les lyophilisateurs doivent être considérés comme des équipements à risque de contamination croisée mais attention à l'impact de l'intégration de la surface des étagères sur les critères d'acceptation. L'efficacité des systèmes de nettoyage doit être dimensionnée et évaluée avant l'installation. Le design doit être amélioré pour éviter les zones cachées ou inaccessibles par les fabricants.



GIC A3P

Performance environnementale



PROGRAMMES & INSCRIPTION

CCS Analytique
Cosmétique
Biotech Biothérapie
HVAC Single APS visuelle
Congrès Visual Lyo CCS Use Forum
Water exposition ateliers sessions
Inspection conférences Systems
Upstream Microbiologie



The pharmaceutical industry, although essential for global health, faces considerable environmental challenges. These challenges stem from the complex processes of sourcing, manufacturing, distributing, and using medicines, which have a significant impact on the environment.

Among the concerns of the pharmaceutical industry, we can underline:

- **Greenhouse Gas Emissions:** Activities in the pharmaceutical industry, such as transporting raw materials, production, distribution of medicines, and waste disposal, Generate Greenhouse gas Emissions. These emissions contribute to climate change and its consequences.
- **Water Consumption:** Pharmaceutical manufacturing processes require a significant quantity of water for production, cleaning, and many other operations. Overconsumption of water can lead to pressures on local water resources and contribute to the degradation of water quality.
- **Energy use:** Pharmaceutical facilities require energy to maintain appropriate production conditions, such as controlled temperature, humidity, particles and microbiological contamination. Dependence on fossil fuels can increase the industry's carbon footprint and compromise its long-term sustainability.
- **Waste Management:** Indeed, the production of medicines generates a huge amount of waste, including chemicals, packaging, and potentially hazardous substances. The effective management of this waste poses a major challenge for the pharmaceutical industry, due to the need to prevent pollution and promote recycling.

Faced with these pressing challenges, the pharmaceutical industry recognizes the urgency of adopting more sustainable and responsible practices. In this context, a major event has recently marked the activity of our Association A3P: the launch of a working group "CIG" dedicated to this vital cause. The CIG Sustainability gathers 22 members, experts or simply concerned in their daily activities, coming from several countries (Italy, Switzerland, Canada, Morocco, and France). The diversity of this group, divided into four specialized sub-groups, promises a holistic and comprehensive approach to addressing the complex environmental challenges facing our industry.

Each sub-group is tasked with exploring specific aspects of environmental performance in the pharmaceutical context.

- The first sub-group will explore ways to reduce Greenhouse Gas Emissions throughout the pharmaceutical supply chain. To achieve this goal, a carbon emissions assessment of the entire value chain will be necessary.
- The second sub-group focuses on water consumption and explores strategies for enhancing resource efficiency in water utilization.
- The third sub-group will review energy consumption, identify solutions for optimizing consumption, and explore opportunities to integrate renewable energy sources into pharmaceutical production processes.
- The final group is dedicated to waste reduction and the adoption of innovative recycling practices.

NAME	First name	Company
BALANDREAU	Vincent	FAREVA EXCELVISION
BALDOIN	Nadia	FAMAR
BLOQUEL	Fabrice	ASPEN
BOVEE	Jean Pierre	AXYS-NETWORK
COLLAUDIN	Didier	LAB'CONSEILS
DUCHATTEL	Laure	LAPORTE SUISSE
FORMET	Mickael	VETOQUINOL
GAYOT	Stephanie	EXPLEO
GENTY	Guillaume	SYNEXIN STERIGENE
KHADIR	Abdel	EKOPE
KHALIL	Nabila	AFRICPHAR
MARCANDELLI	Céline	LFB
MARTIN CURRAN	Marina	HALEON
MATHON	Paul Adrien	AQE
MOINARD	Yves	HUMANIM
MOREL	Fabrice	FORTIL
NOIRJEAN	Yann	INCYTE BIOSCIENCES
REMEZY	Marie-Laure	EAU-DI-C
RINGA	Samah	VEOLIA
RIOUX	Bernard	V3IE

www.a3p.org/en/gic-common-interest-groups/

To facilitate the best practices sharing and ideas, a workshop on the subject is planned at the next annual congress in Biarritz in October. This event will provide a great opportunity for members of the CIG to share their progress, discuss challenges encountered and opportunities to be seized, and engage in constructive dialogue with the pharmaceutical community.

So, we look forward to seeing many of you there!



www.a3p.org

Rejoignez la communauté A3P [LinkedIn](#)

A3P Microbiologie

Venez rejoindre les professionnels du secteur pharmaceutique ainsi que les autorités réglementaires, pour partager et échanger sur les meilleures pratiques, l'évolution de la réglementation, et le développement, la validation et l'implémentation des technologies innovantes, alternatives et automatisées. Le programme est conçu autour de l'échange et du partage d'expérience, comprenant 14 conférences, une exposition des fournisseurs clés du secteur, ainsi que des ateliers animés par nos partenaires. Les principaux thèmes abordés incluent **la réglementation européenne et américaine** liée aux méthodes alternatives, mettant en avant les changements et les nouveaux textes avec la participation de représentants de la pharmacopée européenne et américaine. De plus, des discussions approfondies sur **les méthodes incontournables d'identification microbienne**, en réponse aux exigences de la nouvelle **Annexe 1**, seront également au programme. L'événement explorera également les succès d'implémentation et les dernières innovations à venir dans le domaine des **méthodes alternatives** en microbiologie. Pour finir, un focus particulier sera mis sur les méthodes automatisées en microbiologie analytique, ainsi qu'une mise à jour sur les nouvelles approches d'évaluation des **endotoxines bactériennes et de la pyrogénicité**. Alors inscrivez-vous, on vous attend nombreux !

Conférences

Aperçu du programme ...

🔗 Incubation mono-température pour les contrôles d'environnement en ZAC. Retour d'implémentation et perspectives
Guillaume PINON, SERVIER

🔗 Early detection, counting and identification of microorganisms on standard Petri dish using holographic imaging and artificial intelligence / Yvan CASPAR, CHU GRENOBLE

🔗 Considerations when introducing Automated Environment Monitoring system regarding Single Temperature Incubation
Niels VISSCHERS, MSD

🔗 European Pharmacopoeia strategy for phasing out the Rabbit Pyrogen Test
Emmanuelle CHARTON, EDQM & Ingo SPREITZER, PEI

🔗 Roadmap de Sanofi pour le test endotoxines : de l'évaluation à l'automatisation du test rFC
Thierry BONNEVAY, SANOFI

🔗 La détection des mycoplasmes en méthodes NAT
Aline LE TIEC, NOVARTIS

🔗 Validation d'un test de stérilité rapide et approche avec les autorités. Exemple de la société GUERBET
Guillaume GUIBERT & Imen BARNAT, GUERBET

🔗 Feasibility of Solid Phase Cytometry for Rapid Bioburden Testing
Sophie DRINKWATER, ASTRAZENECA

🔗 Update on European Pharmacopoeia texts related to Microbiology
Emmanuelle CHARTON, EDQM

🔗 Update & Future looking statements from United States Pharmacopoeia USP Microbiology Expert Committee
Liliana GAMBOA, SANOFI & Expert USP

🔗 Annexe 1 & exigences en termes d'identification microbiologiques pour aller à l'espèce
Arnaud CARLOTTI, EUROFINIS

🔗 Challenges with the inclusion of local environment isolates in the Growth Promotion Test
Isabelle HOENEN, LILLY

🔗 Challenges de la sous-traitance des contrôles microbiologiques chez de multiples CDMOs
Jérôme LAPORTE, MODERNA

🔗 Limiter les risques liés à l'intégrité des données au laboratoire de microbiologie
Jean-Louis JOUVE, COETIC

A3P Microbiologie



Sessions Partenaires



ALLIANCE BIO EXPERTISE



- Automatisation of Bacterial Endotoxin Test / Andrew+ Robot automated Liquid Handling Platform
- How to Implement Recombinant Reagent Pyrosmart Next Gen in routine



- Pourquoi ne pas adopter une seule température d'incubation pour les milieux de contrôle des environnements pharmaceutiques ?
- Introductions aux avantages des solutions automatisées pour le contrôle des environnements pharmaceutiques
- Conformité sans compromis pour le dosage des endotoxines? C'est possible: automatisation, Data integrity et innovation
- VITEK MS PRIME : une solution de spectrométrie de masse pour répondre aux exigences de l'annexe 1 des GMP

charles river CHARLES RIVER



- Does my Isolator comply with Annex 1?



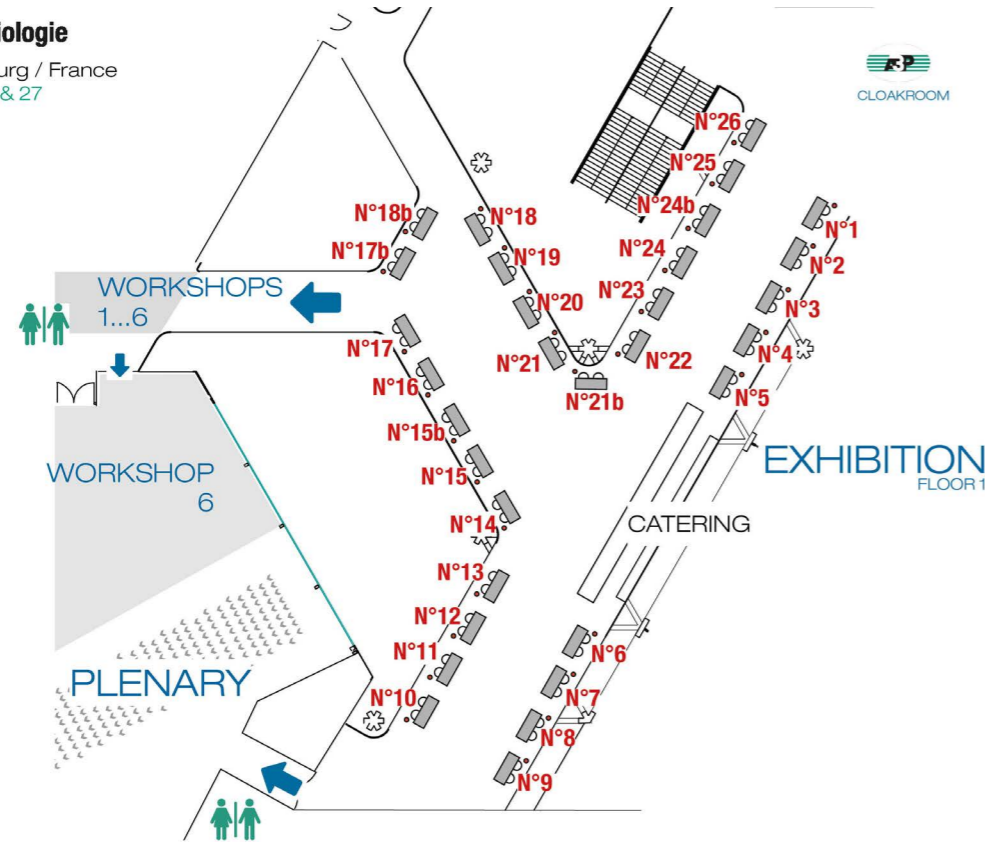
- Problematic microorganisms in the cleanroom
- Disinfectant testing and test methods
- Supplier vs end-user disinfectant qualification
- Implementing a disinfectant program for atmp manufacturing

Programme complet & inscription
www.a3p.org



A3P Microbiologie

MicroBiologie
Strasbourg / France
June 26 & 27



ALLIANCE BIO EXPERTISE	21	HEX + SAFYR	17
ASSOCIATES OF CAPE COD	14	INTERSCIENCE	13
BALBHADES	10	JCE BIOTECHNOLOGY	4
BBRUKER FRANCE	6	MERCK	7
BD	18B	MESALABS	21
BIOMÉRIEUX	18	MICROCOAT BIOTECHNOLOGIE	3
CARSO LSEHL	8	PLAIR	12
CHARLES RIVER	22	RAPID MICRO BIOSYSTEMS	15B
DEVEA	23	REALCO	25
ECOLAB	20	REDBERRY	24
ELSCOLAB	19	SKAN	15
EREA	24B	STAXS	26
EUROFINS BIOPHARMA PRODUCT TESTING	16	STERIS	5
EUROFINS BIOTECH GERMANDE	2	SYMBIOSE ENVIRONNEMENT	17B
GETINGE	1	TERANGA GROUPE	11
GROUPE ICARE	9		

CONGRÈS A3P 2024 Biarritz



Assistez à la prochaine édition de l'incontournable Congrès International A3P du 8 au 10 octobre à Biarritz.
3 jours, 1 ville, près de 20 conférences, 16 ateliers, plus de 120 exposants du Propre & Stérile

Découvrez le programme !



Programme complet & inscription
www.a3p.org





regulatory intelligence guard

A few examples of the latest indexed docs

- FDA - Data Integrity for In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies
- FDA - Artificial Intelligence & Medical Products: How CBER, CDER, CDRH, and OCP are Working Together
- FDA - Handling and Retention of BA and BE Testing Samples
- EMA - Appendix 3: Enhanced Ames Test Conditions for N-nitrosamines
- EMA - Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials
- ...

1. Log in

with your A3P ID in the top right-hand corner. If you can't find your login details, use the "Forgotten password" link



3. Build your database

with the star icon

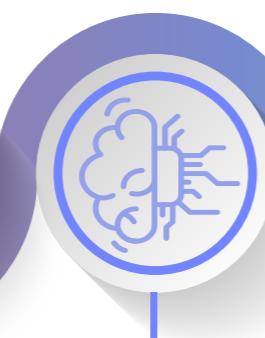


2. Launch a search in bar

The system scans indexed documents: Human drugs: ANSM, Eudralex, EMA, ICH, PIC/S, FDA, WHO ... Display of the most relevant documents based on a concordance score

5. Manage your favorites & topics of interest

in your profile at top right. E-mail notifications of new publications & updates of enforceable texts according to your selection



4. Easy-to-read PDF document or activate help via AI

AI analysis support in your language & completes answers with references to the relevant chapters and pages



www.a3p.org/ring/

Sous-traitance de la bioproduction des biomédicaments en France.

Par Nicolas GROUX, Geoffrey RICHARD & Gavin VUDDAMALAY, MabDesign

La bioproduction... un vaste sujet qui mérite de s'y pencher avec précision. Mise en lumière par la crise sanitaire liée à la pandémie du Covid-19, l'importance stratégique pour un pays de bénéficier de capacités de production sur son sol a été remise au centre du jeu par chaque pays du monde. Mais qu'entendons-nous par bioproduction ? Est-ce le même processus que de produire un anticorps thérapeutique, une thérapie cellulaire, une thérapie génique ou un vaccin. Malheureusement... non.

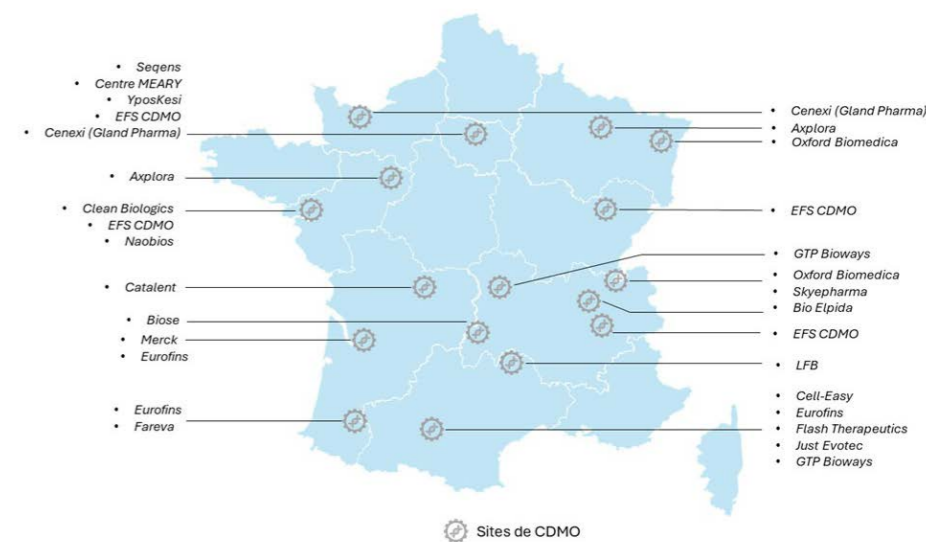


Figure 1 : Carte de France des bioproducteurs*

*Sont incluses dans le scope : les sociétés de service type CDMO produisant pour des tiers et les sociétés réalisant les étapes d'upstream (USP) et de downstream (DSP) pour des produits pharmaceutiques. Sont exclues de l'analyse : les sociétés ne réalisant que du Fill & Finish, les sociétés de production non GMP type CRO, les sociétés de produit GMP en matière première & consommables biologiques et les sociétés pharmaceutiques produisant en propre.

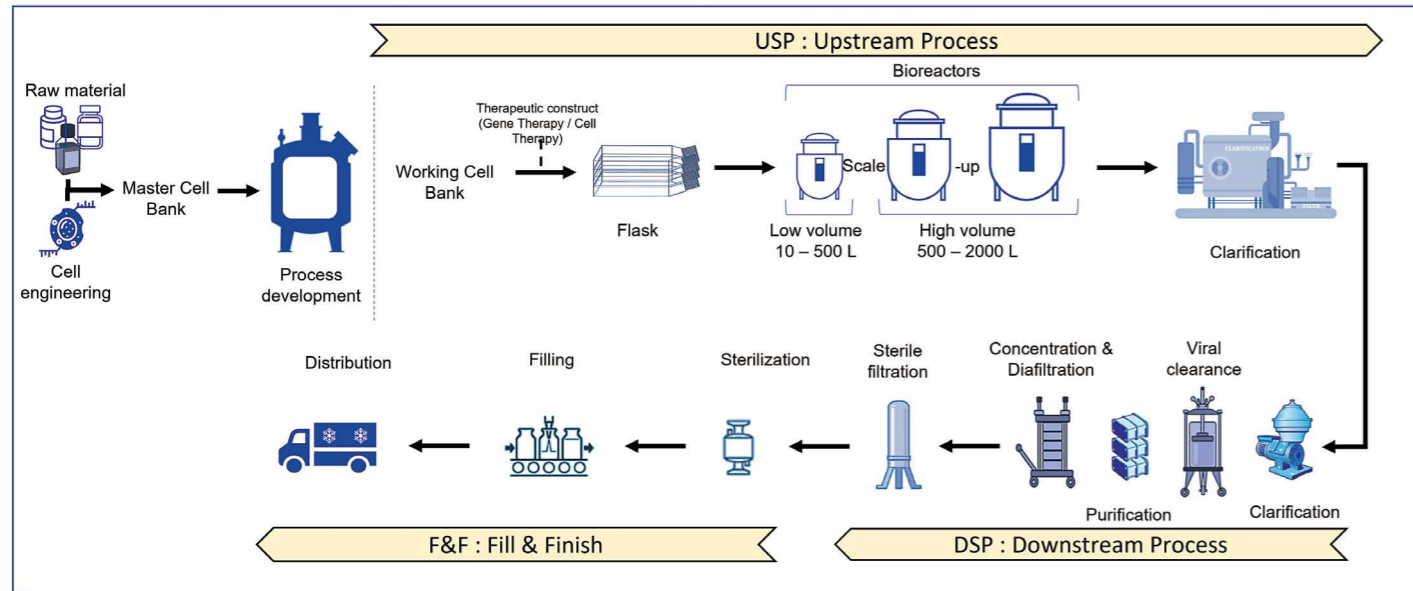
1. Commençons par le commencement

Pour conserver, voir reconquérir son indépendance sanitaire, il est indispensable de raisonner sur l'ensemble de la chaîne, depuis les phases de R&D d'un biomédicament jusqu'à sa bioproduction. En effet, un biomédicament est très souvent bioproduit dans le pays dans lequel il a été développé, dans la mesure où celui-ci dispose des capacités adéquates. La France possède deux atouts clés. Notre pays est en effet très performant, avec 898 projets de biomédicaments thérapeutiques en développement, fruits de la force historique et pérenne de notre filière académique. D'autre part, la filière française des sociétés de services innovants, permet de supporter les phases de développement d'un candidat médicament sur l'ensemble de la chaîne de valeur.

Nous disposons donc du terrain indispensable pour boucler cette chaîne avec des bioproducteurs capables de produire pour eux sur des sites propriétaires, mais également des sites "en propre", en ce qui nous concerne ici, des CDMO (Contract Development and Manufacturing Organizations) capables de produire pour les autres en tant que prestataire de service !

Mais parler de bioproduction serait réducteur car il n'y a pas une bioproduction mais bien "des bioproductions". En effet, produire un anticorps thérapeutique ciblant une large population dans des cuves de 20 000 L, avec un processus de production globalement très cadré, n'a pas

Les grandes étapes de la bioproduction d'un biomédicament



grand-chose à voir avec le fait de produire une thérapie cellulaire ou une thérapie génique ciblant une population le plus souvent restreinte. Choisir c'est renoncer comme on dit, et pourtant la France doit investir, avec ses partenaires européens, pour se doter de capacités sur chacun de ces différents biomédicaments aux processus de production très différents. Mais réjouissons-nous, l'Etat a pris conscience des enjeux et des AAP spécifiques ont été créés pour aider nos champions tricolores, qui jouent pleinement le jeu et investissent pour se développer et nous doter des capacités de bioproduction qui nous manquent. Ainsi, depuis 2023, les CDMO et autres acteurs de la bioproduction ont annoncé plusieurs accroissements de capacités parmi lesquels : le LFB et Yposkesi qui doublent respectivement leurs capacités de production d'anticorps et de vecteurs viraux, GTP Bioways qui renforce ses capacités de production en système microbien, R&D Biotech qui a inauguré sa nouvelle unité de production de plasmides et Just Evotec qui, lui aussi, doit lancer prochainement son nouveau site de production. Ajoutez à cela des sociétés développant des innovations pour optimiser la bioproduction et le constat que la France veut reprendre la place qui était la sienne en matière de production de médicaments ne fait plus de doute. Mais si les besoins sont importants et que la France veut se positionner, la concurrence est belle et bien présente, et l'Asie arrive en force depuis quelques années. Samsung Biologics ou WuXi Biologics pour ne citer qu'eux gagnent inlassablement des parts de marché et font souffrir bon nombre de CDMO françaises et européennes (le Sénat Américain a d'ailleurs récemment pris des mesures visant notamment WuXi, afin de limiter la dépendance Américaine à ce nouvel acteur fort). Les rachats et fusions en cours en sont une preuve flagrante. La filière doit s'organiser, se structurer tout en restant agile afin d'absorber les baisses de volumes quand les temps sont durs, et de prendre en compte les spécificités toujours plus complexes des biomédicaments à produire. Elle doit également investir sur l'avenir en créant des plateformes en capacité de développer les processus souhaités par leurs clients.

1. État des lieux de la filière française des CDMO

L'article L5121-1 CSP de la législation professionnelle de l'industrie du médicament (cadre juridique de l'Union Européen) définit un biomédicament comme "tout médicament dont la substance active est produite à partir d'une source biologique ou en est extraite et dont la caractérisation et la détermination de la qualité

nécessitent une combinaison d'essais physiques, chimiques et biologiques ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son contrôle" Les biomédicaments englobent ainsi une gamme diverse de substances, comme des protéines humaines modifiées, des anticorps monoclonaux, des facteurs de croissance, des vaccins, des enzymes, des organelles, des virus et des cellules ou tissus vivants. Etant donné la complexité intrinsèque de toute source biologique qu'elle soit cellulaire ou acellulaire, la (bio)production des biomédicaments nécessite un environnement hautement contrôlé, une stricte conformité réglementaire et des procédures de contrôle de la qualité lourdes, afin de garantir l'innocuité et l'efficacité du produit final.

La bioproduction des biomédicaments peut être divisée en 3 grandes étapes clés : UPS, DSP et F&F.

USP (ou Upstream Process)

L'objectif lors de l'USP est d'optimiser la croissance de la source biologique et la production du biomédicament. Cette étape implique la préparation et la culture du matériel biologique, tel que des cellules de mammifères ou des microorganismes, nécessaires à la production du biomédicament. Elle comprend des étapes comme la culture cellulaire, la fermentation et le développement d'inoculum. Des stades supplémentaires de génie génétique impliquant des modifications du génome sont également positionnés en USP. La culture cellulaire ou microbienne se fait en volume croissant (scale-up) dans des bioréacteurs à usage unique (single-use) ou à multi-usage (multi-use). Plusieurs modes de culture sont maintenant utilisés en bioproduction avec une culture à volume constant sans perfusion (Batch culture), une culture avec ajout de milieu (Feed Batch Culture) et une culture à volume constant avec perfusion en continue (Continuous culture). Indépendamment du mode de culture, le contrôle et la régulation des différents paramètres critiques du milieu sont essentiels. En fin d'étape, le milieu sera saturé avec le produit d'intérêt, mais également avec des débris et des déchets de culture.

DSP (ou Down Stream Process)

L'objectif en DSP est d'une part d'éliminer les impuretés issues de la culture en bioréacteur et d'autre part de concentrer le produit biomédicament d'intérêt. Le traitement post-USP consiste à séparer et à purifier le produit du "bouillon" de fermentation ou de la culture

cellulaire. La récolte (Harvest) va permettre la séparation des cellules ou du micro-organisme du milieu de culture, afin d'obtenir uniquement le surnageant ou la biomasse. Par la suite, un enchaînement de filtrations, de centrifugations, de chromatographies et d'autres techniques de séparation vont permettre d'isoler le produit et éliminer les impuretés. En ce qui concerne la filtration, deux techniques sont utilisées pour purifier et concentrer les produits. La filtration à flux direct (Direct Flow Filtration) qui implique le passage direct du liquide à travers un filtre, retenant les impuretés tandis que le produit désiré est collecté. La filtration à flux tangentiel (Tangential Flow Filtration), quant à elle, fait circuler le liquide tangentiellement à la surface d'une membrane, permettant au produit de passer à travers tout en retenant les impuretés. Les étapes de chromatographie sont spécifiques à chaque type de biomédicament. En fin de DSP, des stades supplémentaires de modification du produit peuvent également avoir lieu comme la bio-conjugaison des anticorps monoclonaux pour donner des immuno-conjugués.

F&F (ou Fill & Finish)

À cette étape, le produit purifié est formulé sous sa forme posologique finale, qui peut inclure des formulations liquides ou des poudres lyophilisées. Le produit peut également être conditionné selon son mode d'administration dans des flacons, des poches de perfusion ou des seringues. De plus, toutes les étapes finales de traitement nécessaires, telles que la stérilisation ou l'emballage, sont réalisées pour préparer le produit à la distribution et à l'utilisation.

2. Critères de choix d'une CDMO

Les sociétés type CDMO jouent un rôle crucial dans l'industrie pharmaceutique en fournissant une large gamme de services aux entreprises biotechnologiques et pharmaceutiques. Elles sont apparues pour répondre aux besoins croissants des développeurs de biomédicaments en expertise spécialisée, flexibilité opérationnelle, réduction des coûts, accélération du développement et gestion des risques.

Le choix d'un partenaire CDMO est décisif dans le développement d'un projet et peut grandement impacter le succès ou l'échec. Le processus de sélection est donc complexe, long et dépendant de la stratégie de la société qui développe le biomédicament (mise sur le marché, licensing, vente...). Étant donné l'ampleur du processus de sélection d'une CDMO, nous suggérons de résumer les critères principaux généralement utilisés pour ce choix.

Les principaux critères de choix sont donc :

Expertise & Expérience

Les CDMO sont uniques avec des forces et des spécialités différentes, se distinguant principalement par leur expertise technique et leur expérience pratique. Les critères de sélection incluent l'expérience GxP pour répondre aux exigences réglementaires, la familiarité avec les types cellulaires requis, l'accès aux matériaux cellulaires appropriés, les outils de biologie cellulaire, moléculaire, biochimique pour assurer le développement et la production.

Qualité & Conformité

La qualité est fondamentale dans la fabrication pharmaceutique. Une CDMO doit respecter les normes de contrôle qualité strictes, comme les BPF, et avoir des certifications telles que ISO, FDA, EMA. Il est important d'évaluer leurs systèmes qualité, leur historique d'inspections réglementaires, et leurs capacités analytiques et de transfert de technologie. Les études de stabilité et la conformité aux BPF sont également des facteurs déterminants pour garantir le succès du projet. Votre partenaire de fabrication doit avoir de l'expérience dans la préparation des dossiers IND ou disposer d'un soutien juridique. La CDMO doit proposer un soutien pour naviguer dans des paysages réglementaires complexes, avec une expertise étendue en matière de conformité réglementaire.

Relation client

Une communication efficace est nécessaire pour établir une relation de confiance et favoriser la collaboration et la transparence tout au long du processus de développement d'un médicament. Il est important d'évaluer l'approche en gestion de projet de la CDMO, notamment la désignation de chefs de projet dédiés, la définition des délais et des jalons. De plus, il est essentiel de comprendre leurs protocoles de communication, la fréquence des rapports et l'accès aux mises à jour en temps réel. Il convient également de vérifier si leur style de communication est en adéquation avec vos attentes et s'ils sont en mesure de fournir des mises à jour transparentes, opportunes et proactives sur l'avancement du projet.

Capacité de production

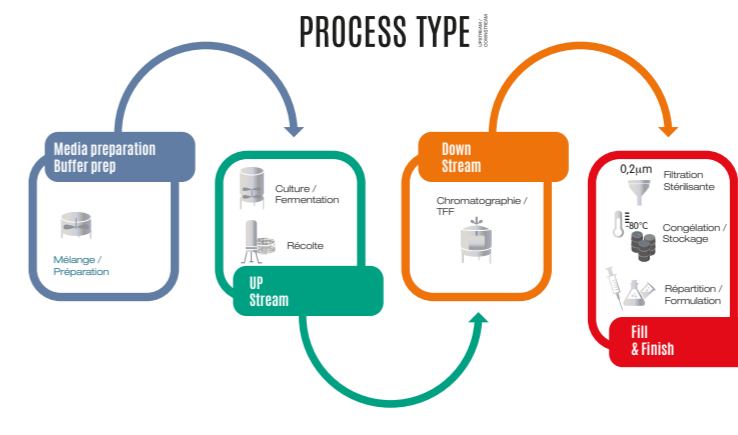
Lors du choix d'une CDMO, il est crucial de considérer leur capacité à augmenter la production à mesure que votre projet progresse dans les différentes étapes de développement et potentiellement de commercialisation. Évaluez la capacité de leurs installations, leurs ressources disponibles et leur flexibilité pour répondre à ces besoins croissants pour éviter les goulots d'étranglement.

Flexibilité & Adaptabilité

Pour soutenir efficacement les programmes clients à long terme sans compromettre la qualité, la flexibilité doit être intégrée dans le processus opérationnel et la culture de la CDMO. Il est essentiel de choisir un partenaire réactif et agile, capable de gérer des programmes cliniques complexes tout en ayant les capacités d'expansion nécessaires.

Rentabilité

Choisir la CDMO le moins cher peut sembler attrayant, mais une analyse détaillée est nécessaire pour éviter des problèmes futurs. Externaliser permet de réduire les frais généraux et d'allouer les ressources de manière plus efficace, favorisant une planification financière plus prévisible. Cependant, il est crucial de mener une due-diligence approfondie avant de sélectionner un partenaire CDMO pour éviter les retards et les coûts supplémentaires. Prioriser les économies de coûts au niveau des tâches peut parfois compromettre la qualité et



le soutien technique de la CDMO, entraînant des retards et des coûts supplémentaires à long terme. Il est donc indispensable de considérer l'ensemble des facteurs lors de la sélection d'une CDMO pour éviter les retards et les risques.

3. Caractéristiques spécifiques de la bioproduction selon le type de biomédicament

L'hétérogénéité, la complexité et la maturité variable des biomédicaments font que les enjeux et les forces de la chaîne de valeur de leur bioproduction respective diffèrent selon le type de protéine thérapeutique, le vecteur viral, le type de cellule ou les populations de cellules à produire.

L'anticorps thérapeutique a pour avantage d'avoir maintenant fait ses preuves... Depuis le premier anticorps commercialisé en 1985 (muromonab), pas moins de 170 anticorps sont arrivés sur le marché pour apporter des solutions époustouflantes sur bon nombre de pathologies alors en échecs thérapeutiques. Visant souvent des larges populations en oncologie ou en inflammation (ex. le pembrolizumab qui est en essai clinique dans 1407 essais en parallèle), le processus de production est maintenant connu et maîtrisé dans sa globalité. S'il existe certes toujours des axes d'amélioration pour produire avec un meilleur rendement et pour moins cher, le coût d'une poche d'anticorps se compte en quelques milliers d'euros... Ayant montré leur efficacité, certains anticorps arrivant en fin de protection, ont été "copiés" et des biosimilaires sont arrivés sur le marché avec des prix pouvant tomber à quelques centaines voire quelques dizaines d'euros. Le prix de ces biosimilaires démontre à lui seul que le coût de production, avec un effet volume certain, peut être maîtrisé et maintenu à un niveau acceptable pour les systèmes de santé.

La thérapie génique offre des avantages majeurs, notamment le traitement direct des maladies génétiques et une correction durable des gènes défectueux. Elle ouvre également la voie à de nouvelles approches thérapeutiques et à des traitements pour un large éventail de maladies. La thérapie cellulaire permet, quant à elle, un traitement précis et ciblé, la capacité de régénération tissulaire, une toxicité réduite, et des perspectives de traitement pour des maladies jusqu'ici incurables. Elle permet également une personnalisation des traitements, des effets durables, et une réduction de la charge thérapeutique. Cependant la fabrication à grande échelle de ces thérapies doit prendre en compte l'hétérogénéité des types de vecteurs et des types de cellules à produire.

En l'absence de normes établies, de gold standard, dans la bioproduction de ce type de thérapie, il est devenu d'usage de dire que le process (de production) est le produit (thérapie) les deux étant tellement indissociable et spécifique.

De plus, les capacités de production de certaines cellules thérapeutiques restent limitées compliquant la montée en échelle et altérant la reproductibilité du process. En ce qui concerne les vecteurs viraux, leur rendement de production reste à améliorer. A ces verrous technologiques, il faut également ajouter une réglementation lourde avec des contrôles de qualité stricts. L'utilisation de produits autologues dont le matériel de départ est prélevé du patient pour être ensuite administré à ce même patient post-bioproduction, vient ajouter une complexité logistique supplémentaire à la chaîne

de valeur. L'ensemble de ces éléments impacte significativement le coût de production des thérapies cellulaires et géniques et autres médicaments de thérapies innovantes (MTI). Et c'est ce coût de production élevé qui va en majeure partie, et dans la plupart des cas, impacter le prix du produit thérapeutique.

Aux Etats-Unis, le prix d'un traitement autologue à base CAR-T, thérapie à base de cellules modifiées génétiquement et utilisées exclusivement en oncologie coûte aux alentours de 400,000\$ alors que le seul traitement de thérapie génique pour l'hémophilie B culmine actuellement à 3.5 millions de dollars. Du fait d'une politique d'accès aux marchés différente entre les Etats-Unis et l'Europe, certains produits de thérapie cellulaire ou génique ne sont toujours pas disponibles en France ou ont été enlevés du marché. L'avènement des thérapies allogéniques dont le matériel de départ provient de donneurs sains, des solutions d'automatisation et des nouvelles technologies innovantes en DSP et USP devront permettre d'améliorer la bioproduction de ces thérapies.

4. Deals récents dans le domaine de la bioproduction

Le dynamisme du domaine de la bioproduction se traduit notamment à travers des opérations financières récentes de fusion et d'acquisition chiffrées à plusieurs millions d'euros voire plusieurs milliards d'euros. En effet, début 2023, Sartorius, par le biais de sa filiale française Sartorius Stedim Biotech, a conclu un accord pour acquérir la société strasbourgeoise Polyplus proposant entre autres des solutions de transfection, pour environ 2,4 milliards d'euros. Polyplus avaient eux-mêmes acquis la CDMO française Bio-Elpida et la CRO belge Xpress Biologics l'année précédente. L'autre acquisition notable dans le paysage français sur cette même période, est celle d'ABL Europe, une CDMO française et filiale de l'Institut Mérieux, par le britannique Oxford Biomedica pour 15 millions d'euros qui devra permettre à ces derniers d'élargir leurs capacités de production en vecteurs viraux. Plus récemment, c'est le géant Danois de l'investissement Novo Holdings qui contrôle également Novo Nordisk, a qui annoncé en début de 2024, l'acquisition de Catalent, l'un des plus grands CDMO américains, pour 16,5 milliards de dollars. Novo Holdings prévoit de finaliser l'acquisition d'ici la fin de 2024 pour ensuite céder au moins 3 sites de production à Novo Nordisk pour 11 milliards de dollars avec comme objectif de booster la production de son nouveau blockbooster, le Wegovy. En ce début d'année, deux autres CDMO ont annoncé leur rapprochement. Le Finlandais Biovian s'est associé à l'espagnol 3P Biopharmaceuticals, pour former 3PBIOVIAN. Cette fusion stratégique vise à offrir des services de développement et de fabrication 'End to End' pour les systèmes d'expression protéique et les vecteurs viraux, couvrant les phases précliniques à commerciales.

5. Conclusion

En tenant compte de la diversité du type biomédicament qui peut être produit en France, du nombre de sites de production et du nombre croissant de deals financiers, nous assistons à une véritable révolution au sein de la filière nationale de la bioproduction. Cette expansion promet non seulement un impact positif sur l'économie nationale, mais également sur la santé publique et la souveraineté sanitaire.

BWT FRANCE, NOUVEAU MEMBRE FONDATEUR DE LA FONDATION PHILIPPE-MAUPAS

Conscientes du besoin de soutenir la filière des biotechnologies (biomédicaments et bioactifs cosmétiques), les équipes Pharma & Biotech de BWT France s'impliquent depuis de nombreuses années dans la formation et l'accompagnement des professionnels de la bioproduction de demain. En devenant partenaire fondateur de la Fondation Philippe-Maupas, BWT franchit un nouveau cap et participe à faire du secteur une véritable filière d'excellence française. Explications avec Bernard Boudot, Délégué de la Fondation Philippe-Maupas, et Pierre Cullmann, Responsable Marché Pharma & Biotech chez BWT France.



Bernard BOUDOT
Délégué de la Fondation
Philippe-Maupas



Pierre CULLMANN
Responsable du marché
Pharma Biotech

Plus de 10 ans après sa création en 2013, quel bilan tirez-vous des activités de la Fondation Philippe-Maupas ?

Bernard BOUDOT : Dès son origine, la Fondation partenariale, créée par l'Université de Tours, avait pour ambition de contribuer au développement et à la production de biomédicaments et de bioactifs cosmétiques. Une ambition qui s'inscrit dans une longue tradition de recherche et développement en matière de biomédicaments en région Centre-Val de Loire. Depuis 10 ans, la Fondation travaille ainsi à identifier et animer des synergies en termes de recherche, d'enseignement supérieur, de tissu industriel et de financement public, au sein de la région et au niveau national. Parmi nos missions fondamentales, le développement du Bio³ Institute, centre unique de formation, de ressources et d'expertise en bioproduction et en biomédicaments et de son plateau technologique de 2 500 m² conçu comme une mini-usine de bioproduction, constitue sans aucun doute l'une des réalisations les plus tangibles de nos activités.

Quelles ambitions pour les 10 ans à venir ?

Bernard BOUDOT : Prorogée pour 5 ans, comme le veut la réglementation en la matière, en 2023, la Fondation Philippe-Maupas maintient le cap sur ses objectifs originels, à savoir poursuivre le financement d'équipements nécessaires aux formations et aux projets de recherche et développement du Bio³ Institute. En complément, la feuille de route 2023-2028 prévoit d'accélérer notre soutien à l'émergence de projets, qu'ils soient académiques ou issus de la R&D de nos fondateurs. Plus généralement, nous nous inscrivons en droite ligne des ambitions du programme France 2030 qui prévoit, parmi la dizaine de priorités identifiées par le gouvernement, le soutien au développement d'une filière d'excellence dans les biotechnologies en général, et dans le développement de biomédicaments en particulier.

Pour BWT France, quels sont les objectifs de ce partenariat ?

Pierre CULLMANN : Ce partenariat, matérialisé aujourd'hui par l'intégration de BWT France parmi les membres fondateurs, trouve son origine dans une relation instaurée depuis une dizaine d'années avec le Bio³ Institute, avec lequel nous partageons la volonté de promouvoir la filière, au travers de technologies de pointe et le développement de compétences de qualité. En rejoignant la Fondation, BWT France affirme ainsi sa volonté d'accompagner la montée en compétences et l'expertise en traitement des eaux, des étudiants du Bio³ Institute bien sûr, mais aussi et surtout des autres membres et partenaires de la fondation, et plus globalement de l'ensemble de la filière des biotechnologies. Une implication forte qui se concrétisera par la formation des étudiants et la sensibilisation avancée des professionnels aux enjeux de l'eau (traitements, qualité, préservation) et à son lien direct avec la performance industrielle. Outre des valeurs partagées et une

participation à l'institut via le versement annuel de la taxe d'apprentissage (Groupe IMT), nous avons par exemple équipé le centre de formation d'une installation de traitement des eaux, permettant aux étudiants de disposer d'une qualité d'eau optimale, et conforme aux réglementations de la filière. Aujourd'hui, le partenariat avec la Fondation n'est que le prolongement logique d'un engagement de plus de 10 ans auprès du Bio³ Institute.

Au-delà d'un financement, ce partenariat est avant tout collaboratif ?

Pierre CULLMANN : Absolument, et notamment à destination des étudiants. Notre rôle, dans ce contexte, est aussi de rapprocher les apprenants avec le secteur industriel, auquel BWT appartient, afin qu'ils puissent identifier l'ensemble des éléments de la chaîne de valeur en matière de bioproduction. Pour les équipes de BWT, résolument tournées vers l'innovation, l'excellence et la performance, ce partenariat est aussi l'occasion d'intégrer un écosystème enthousiaste, porteur de projets d'avenir pour le territoire français, et à portée internationale.

À ce propos, quelles sont les grandes réalisations auxquelles la Fondation a participé, et quels projets futurs ?

Bernard BOUDOT : Au travers de ses soutiens à l'écosystème, la Fondation a notamment participé au développement de la spectroscopie Raman en ligne, dont le but est d'améliorer la productivité de la bioproduction. Elle a soutenu également les premières étapes de développement du premier vaccin nasal anti-Covid-19 en France. Au quotidien et à l'avenir, la Fondation souhaite maintenir ses efforts de soutien et d'accompagnement de cet écosystème innovant, et participer au financement de projets dont l'ambition est de mieux soigner, plus de patients, et à coûts raisonnables.

LE BIO³ INSTITUTE, UN CENTRE DE FORMATION BIOTECHNOLOGIQUE UNIQUE EN EUROPE

Plateforme d'apprentissage au service de la filière biotechnologie-bioproduction, le Bio³ Institute a été imaginé par ses concepteurs, l'Université de Tours et le Groupe IMT, comme une mini-usine de bioproduction en industrie pharmaceutique.

- Plateau de 2 500 m² entièrement équipé.
- Plus de 350 personnes formées chaque année (en formation initiale du bac +2 au bac +5 ou en formation continue).
- Une série de parcours pédagogiques digitaux en réalité mixte : la cellule usine, enjeux réglementaires, vaccin ARN messenger, etc.

VOTRE CONTACT

Pierre CULLMANN – Pharma & Biotech Market Manager – pierre.cullmann@bwt.fr

BWT-PHARMA.COM

Externalisation des audits fournisseurs : Les clés de la réussite.

Par Soria CATHERINE, Intertek

Les audits fournisseurs sont essentiels à la gestion du risque qualité et à la maîtrise de la chaîne d'approvisionnement. En tant que secteur fortement réglementé, l'industrie pharmaceutique doit s'assurer que ses fournisseurs respectent les exigences requises en matière de qualité, de sécurité et de conformité. Ces audits sont donc essentiels pour garantir la qualité des médicaments fabriqués, protéger la sécurité des patients, réduire les risques liés à la chaîne d'approvisionnement et bien sûr maintenir la conformité réglementaire.



L'externalisation des audits auprès d'un partenaire d'audit est souvent appelée audit par un tiers. Le partenaire d'audit externe est complètement indépendant de la relation client-fournisseur et contribue à fournir un point de vue neutre et impartial en dehors de toute considération commerciale, facilitant la réalisation de l'audit dans sa plus grande objectivité. Une collaboration réussie et durable entre un partenaire d'audit externe et une organisation cliente repose notamment sur la confiance et la fiabilité. Les prestations fournies par un partenaire d'audit qualifié améliorent considérablement le succès d'une entreprise dans la gestion de ses fournisseurs.

1. Pourquoi externaliser les audits ?

Les avantages de l'externalisation d'un audit sont multiples. Tout d'abord, le client peut se concentrer sur ses missions intrinsèques sachant que ses besoins en audit peuvent être sous-traités à une organisation professionnelle spécialisée. Certains aspects de l'audit sont chronophages et nécessitent des ressources et de l'énergie. La planification de l'audit, en particulier, peut être fastidieuse, se heurtant parfois à l'absence de réponse des sites ou à leur manque de disponibilité. À cela vient s'ajouter la difficulté de faire coïncider les calendriers des uns et des autres, ou encore la nécessité de re-planifier un audit suite à un imprévu. La planification d'un audit, comme toute planification d'événement impliquant plusieurs acteurs, peut rencontrer certaines difficultés qu'un prestataire d'audit spécialisé a l'habitude d'appréhender et saura gérer de façon efficace.

- **Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF)**
- **Bonnes Pratiques de Distribution (BPD)**
- **Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)**
- **Bonnes Pratiques Cliniques (BPC),**
- **Bonnes Pratiques de Pharmacovigilance (BPV),**
- **Lignes directrices de l'IPEC pour les excipients pharmaceutiques,**
- **ISO 15378 pour les matériaux d'emballage primaires,**
- **ISO 9001**

Figure 1 : Principaux référentiels qualité applicables aux fournisseurs des industries pharmaceutiques

Deuxièmement, la multiplication du nombre de fournisseurs critiques et de leurs activités variées nécessite un spectre de compétences qui ne peut être couvert que par plusieurs auditeurs. Si on ajoute à cela la localisation étendue des sites, il est parfois difficile pour une entreprise de réaliser tous ses audits fournisseurs avec uniquement ses ressources internes. Un prestataire d'audit spécialisé dispose d'un pool d'auditeurs ayant des compétences diverses, localisés dans le monde entier.

Troisièmement, dans certains cas, les organisations clientes peuvent rencontrer des difficultés pour accéder aux sites des fournisseurs (cas des "petits" clients par exemple) ou pour obtenir une date d'audit. Un partenaire d'audit externe reconnu peut jouer un rôle crucial pour surmonter ces difficultés en facilitant l'organisation des audits et en mettant en œuvre des solutions d'audit appropriées. Par exemple, alors que les fournisseurs font face à une augmentation croissante des demandes d'audit, leur préférence va de plus en plus vers l'audit partagé. Certains fournisseurs optent exclusivement pour cette approche plutôt que pour des audits individuels. Pour les fournisseurs, cette solution représente une réelle optimisation des jours d'audit et des ressources associées. Le challenge pour le prestataire d'audit est alors de fournir une prestation d'audit de qualité répondant au besoin de tous les clients, même si celui-ci est mutualisé.

2. L'optimisation des audits fournisseurs

Les avantages de l'externalisation des audits reposent sur la nécessité de disposer de solutions d'audit flexibles.

Il existe de nombreuses solutions d'audit qui peuvent être déployées le plus efficacement possible en fonction du contexte, de la criticité des fournisseurs, des résultats de leur évaluation et des exigences de l'organisation cliente. Parmi les solutions d'audits se trouvent les audits individuels ou privés, les audits partagés, l'achat d'un rapport d'audit, les audits à distance ou encore les audits par questionnaire qualité.

2.1 Audits privés/individuels

Les audits privés/individuels pourraient être considérés comme la solution d'audit "conventionnelle", dans laquelle un audit est réalisé

pour le compte d'une organisation cliente, avec un agenda d'audit entièrement axé sur ses besoins spécifiques. Ce type d'audit est idéal lorsque le client a des besoins qui lui sont propres, en lien avec un projet particulier par exemple, ou liés à certaines problématiques du fournisseur ou encore dans le cadre d'un audit pour cause. Ces audits individuels peuvent également permettre à des clients qui le souhaitent de se joindre à l'audit pour avoir une meilleure connaissance de leur fournisseur.

2.2 Audits partagés

Un audit partagé est un audit qui est réalisé par un partenaire d'audit externe auprès d'un fournisseur pour le compte de plusieurs entreprises commanditaires. En regroupant diverses demandes de clients en un seul audit, les objectifs communs sont examinés une seule fois, ce qui accroît l'efficacité de l'audit. Ces audits peuvent s'appliquer à un large éventail de référentiels en fonction du fournisseur et du produit fourni, allant des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), des Bonnes Pratiques de Distribution (BPD) aux normes ISO (figure 1). Selon le référentiel et le champ d'audit, les parties mutualisées de l'audit peuvent être variables. À minima, l'audit du système qualité peut toujours être partagé, car, sauf cas particulier, les fournisseurs disposent d'un seul système qualité. Un partenaire d'audit externe fiable veille à ce que les intérêts et les observations spécifiques de chaque client soient pris en compte dans des rapports d'audit personnalisés et confidentiels.

Le choix d'un audit partagé avec une tierce partie offre plusieurs avantages qui vont au-delà de la simple réduction des coûts, bien qu'ils réduisent automatiquement les dépenses par rapport aux audits individuels. Les audits partagés peuvent faciliter le processus général d'audit, en particulier dans le cadre d'une surveillance de routine des fournisseurs. Cela permet de gagner du temps et d'économiser des ressources tant pour les fournisseurs que pour les clients participants à l'audit partagé, ce qui en fait une solution mutuellement bénéfique. La réussite des audits partagés n'est possible qu'avec une plateforme dédiée qui permet aux clients d'étudier la liste des audits disponibles, d'y participer aux côtés d'autres clients, en toute confidentialité. Seuls, le fournisseur, le prestataire d'audit et l'auditeur auront toutes les informations concernant les clients représentés lors de l'audit partagé.

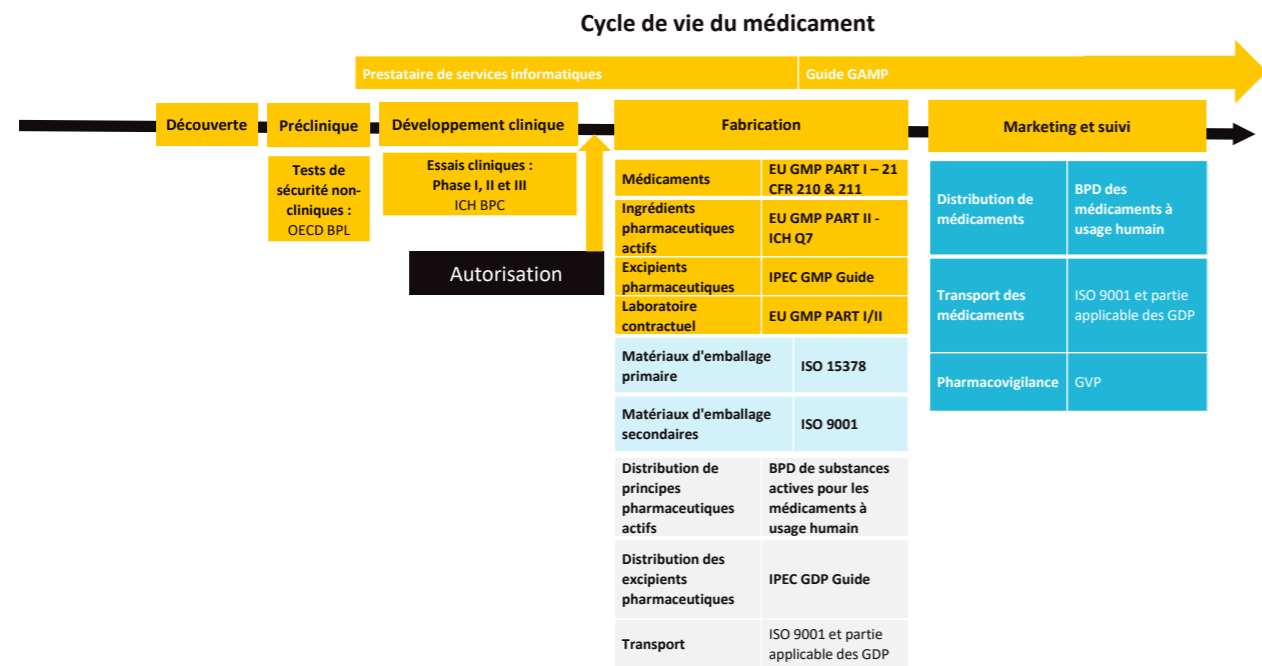


Figure 2 : Sélection de référentiels d'audit types applicables à l'ensemble du cycle de vie d'un produit pharmaceutique

Un audit partagé réalisé par un partenaire externe expérimenté permet une évaluation complète du fournisseur tout en garantissant un rapport d'audit pertinent pour le client. En outre, les audits partagés favorisent la durabilité environnementale en minimisant les déplacements et en réduisant les émissions de CO₂. Si l'audit partagé est une solution de premier choix pour les évaluations de routine ou encore la sélection de fournisseurs potentiels, une combinaison d'audits individuels et partagés peut s'avérer appropriée en fonction des besoins spécifiques.

2.3 Achat d'un rapport d'audit

L'achat d'un rapport d'audit d'un fournisseur peut se présenter comme la meilleure solution d'audit dans certaines circonstances. Les contraintes de ressources, de planification, et de délais jouent un rôle dans cette décision. Cette option est particulièrement avantageuse pour un client lorsque celui-ci a besoin d'informations sur un de ses fournisseurs qu'il n'a pas pu auditer récemment. Il est ainsi possible d'obtenir des renseignements sur le statut de conformité actuel du fournisseur ou sur ses performances, et cela plus rapidement qu'en procédant à un nouvel audit.

Cela peut aussi être le cas lorsqu'un client envisage de collaborer avec un nouveau fournisseur. Dans ce cas, l'obtention d'un rapport d'audit permet d'avoir une idée de son niveau de qualité et d'envisager un partenariat possible.

Si l'entreprise a besoin d'une évaluation rapide, l'achat d'un rapport d'audit existant peut constituer une solution pratique, éventuellement suivie d'un audit privé adapté spécifiquement à ses besoins, par exemple dans le cas d'une préoccupation particulière.

2.4. Audit à distance

La coordination des audits en personne peut poser des problèmes, en particulier lorsque les parties prenantes sont dispersées sur différents fuseaux horaires. Des complications peuvent également survenir en raison de restrictions de voyage, telles que celles imposées lors de la pandémie de COVID-19. Par ailleurs, certains fournisseurs sont également situés dans des zones à risques comme des pays en guerre par exemple.

En réponse à des événements mondiaux tels que la pandémie de COVID-19, les professionnels de l'audit ont dû rapidement adapter leur approche. Confrontés à des fermetures soudaines et à des restrictions de voyage, les prestataires d'audit ont dû innover et trouver des solutions alternatives pour soutenir les programmes d'audit de leurs clients.

L'une de ces solutions s'est imposée : l'audit à distance. Les audits à distance constituent une option viable lorsqu'il n'est pas possible ou sûr pour les auditeurs de se rendre à certains endroits. Bien que les audits à distance fournissent des informations précieuses sur les performances des fournisseurs, ils présentent tout de même certaines limites.

Par exemple, la visite des installations à distance à l'aide de caméras ou d'images n'offre pas le même niveau de détail qu'une visite en personne. Cependant, les audits à distance restent une alternative préférable à l'absence d'audit.

Dans certains cas, les audits à distance sont particulièrement bien adaptés, comme par exemple pour les audits de pharmacovigilance qui ne nécessitent pas d'inspection physique des installations. Ils peuvent donc être menés efficacement à distance, permettant de garantir le respect des normes de conformité et de qualité tout au long de la vie du médicament.

2.5. Audit par questionnaire

L'utilisation d'un audit par questionnaire peut se présenter comme une option favorable, en particulier pour les fournisseurs non critiques, ayant souvent des activités peu complexes et des exigences moins strictes. En optant pour une approche basée sur un questionnaire, les organisations peuvent simplifier le processus d'audit, économiser du temps et des ressources tout en garantissant le respect des normes essentielles. Cette méthode permet une collecte et une évaluation efficaces des données, donnant un aperçu des pratiques des fournisseurs sans qu'il soit nécessaire d'effectuer un audit sur site.

2.6 Audits internes

Outre les audits des fournisseurs, les audits internes peuvent également constituer un défi, en particulier si l'équipe qualité d'une entreprise est restreinte et ne dispose pas des ressources suffisantes pour mener des audits en interne. Il est essentiel de remettre périodiquement en question le système qualité afin d'assurer une amélioration continue. Un partenaire d'audit peut apporter le support nécessaire permettant de mener à bien un programme d'audit interne.

Les sociétés d'audit externe apportent une perspective impartiale au processus d'audit interne. Leur indépendance leur permet de fournir une évaluation objective des performances du fabricant sur le plan de la qualité interne. Cette objectivité peut permettre de découvrir des angles morts ou des domaines d'amélioration qui pourraient être négligés par les équipes internes qui sont plus étroitement impliquées dans les opérations quotidiennes.

L'alignement du référentiel d'audit avec le champ d'audit

La réussite d'un audit passe entre autres par l'alignement du référentiel d'audit avec le champ d'audit. Cet alignement n'est pas toujours simple, et un partenaire d'audit externe peut apporter du support et de la valeur ajoutée grâce à son expertise. En effet, les chaînes d'approvisionnement pharmaceutiques sont parfois complexes regroupant un ensemble diversifié de fournisseurs, de prestataires de services et de sous-traitants.

Il s'agit notamment de fabricants sous contrat, de fournisseurs de matières premières (principes actifs ou excipients), de fournisseurs d'emballages, de prestataires d'analyse sous contrat, de sous-traitants de transport/logistique, de prestataires de services informatiques et bien plus encore.

Tous ne pouvant être audités selon le même référentiel, il est essentiel d'aligner référentiel et champs d'audit pour une meilleure efficacité des audits incluant l'acceptation des écarts éventuels par les fournisseurs et la mise en place d'action corrective en conséquence. Aujourd'hui, certains sites n'hésitent pas à refuser d'être audités selon un référentiel qualité qui ne leur est pas propre et l'utilisation du contrat qualité signé entre les 2 parties comme référentiel d'audit peut s'avérer être le meilleur choix dans certains cas.

Le choix du référentiel d'audit est essentiel pour mener un audit efficace et obtenir des résultats satisfaisants. Si les actions correctives ne sont pas perçues comme pertinentes pour l'organisation du fournisseur, il est peu probable qu'elles soient mises en œuvre. L'utilisation d'un référentiel inapproprié peut conduire à des conclusions trompeuses. Par exemple, si un audit conclut à une conformité insatisfaisante sur la base d'un référentiel non pertinent, l'évaluation ne représentera pas fidèlement le niveau de qualité fournisseur. Cela peut potentiellement conduire à une rupture de la relation client/fournisseur, voire poser des risques économiques et réglementaires pour les activités de l'entreprise. Pour un audit réussi, il est impératif de définir clairement le champ d'application et le référentiel d'audit et, de cette manière, optimiser les résultats de l'audit.

3. Choisir le bon partenaire d'audit externe

Un véritable partenariat entre le prestataire d'audit externe et le client repose sur une relation de confiance et de communication qui permet de comprendre en profondeur les besoins spécifiques de chaque entreprise. Il est évident que le partenaire d'audit externe doit être performant et qu'il doit démontrer qu'il dispose d'un système qualité robuste.

Plusieurs facteurs doivent être pris en compte lors du choix d'un partenaire d'audit externe : le prestataire de services a-t-il la portée internationale requise, en lien avec la localisation des sites fournisseurs ?

Le prestataire d'audit dispose-t-il d'une méthodologie clairement définie, inscrite dans un système qualité robuste ? Le prestataire dispose-t-il des compétences nécessaires en matière de planification, coordination des audits ? Sans oublier, le prestataire dispose-t-il d'un pool d'auditeurs expérimentés et qualifiés ?

Existe-t-il une méthodologie d'audit clairement définie ?

Une méthodologie d'audit bien définie constitue la base d'un processus d'audit efficace, en fournissant un cadre structuré pour la préparation, la réalisation et les activités postérieures à l'audit. Avant l'audit, des informations clés sont communiquées au fournisseur et au partenaire, notamment l'objectif de l'audit, le champ, le référentiel, le nombre d'auditeurs et la durée de l'audit. Au cours de la phase de préparation, des échanges avec le partenaire d'audit permettent d'identifier les questions spécifiques éventuelles et les points d'attention à privilégier s'il y en a. Cela va conduire à l'élaboration d'un agenda d'audit, qui est communiqué dans un premier temps au client pour approbation avant d'être transmis au fournisseur. En parallèle, un questionnaire est envoyé au fournisseur afin de faciliter la préparation de l'audit par l'auditeur.

Après l'audit et dans l'attente du rapport d'audit formalisé, une première restitution écrite et synthétique est faite auprès du client. Dans le cas où un écart critique aurait été identifié pendant l'audit, le client est alerté très rapidement. Un rapport d'audit est ensuite préparé par l'auditeur, revu par le partenaire d'audit puis envoyé au client pour approbation. Ce dernier a bien sûr la possibilité de poser des questions ou de demander des précisions si nécessaire. Dans certains cas, un échange téléphonique avec l'auditeur peut s'avérer utile. Une fois approuvé, le rapport d'audit est envoyé à l'entité auditée et un plan d'action en réponse aux écarts lui est demandé. Ces écarts ne sont pas une surprise pour le fournisseur, car ceux-ci ont été au préalable notifiés, expliqués et acceptés en réunion de clôture de l'audit.

À réception du plan d'action, celui-ci est évalué par l'auditeur qui prend en compte la pertinence des actions proposées et les délais définis pour mettre en place ces actions. Si nécessaire des compléments de réponses peuvent être demandés par l'auditeur. L'acceptation du plan d'action conduit à la clôture de l'audit. Suivant le résultat de l'audit et le plan d'action proposé par le fournisseur, un suivi de l'état d'avancement du plan d'action sera réalisé pour s'assurer du bon déploiement de ce dernier.

Une méthodologie d'audit clairement définie est la pierre angulaire d'un processus d'audit efficace. Elle définit le cadre de la préparation, de la réalisation et des activités postérieures à l'audit. Le partenaire d'audit externe doit faire preuve d'une méthodologie solide qui rationalisera le processus d'audit et garantira des évaluations complètes. Cette méthodologie d'audit doit s'inscrire dans un système qualité robuste permettant de garantir un niveau de qualité élevé des prestations réalisées.

Quelles sont les compétences de l'équipe back-office du prestataire d'audit ?

Il est essentiel de vérifier que le partenaire d'audit dispose d'une équipe interne qualifiée. La formation continue en complément de la formation de base permet de garantir que les membres de l'équipe restent au fait des réglementations et qu'ils sont en mesure d'engager des discussions et de répondre aux questions de manière efficace. Il est également essentiel d'établir un contact clé, car cela permet de simplifier les canaux de communication. Ce contact clé peut être un commercial ou des représentants désignés de différentes équipes, en fonction de la structure du partenaire d'audit. Pour une collaboration réussie, il est essentiel de savoir à qui s'adresser pour toute demande.

En outre, l'équipe interne doit posséder les qualifications nécessaires permettant une vérification technique de tous les livrables, incluant bien sûr les rapports d'audit. Il s'agit notamment de s'assurer de l'exactitude et du bon alignement avec le champ d'application et le référentiel de l'audit. La possibilité de fournir un retour d'information sur les rapports d'audit et d'engager des discussions, soit avec l'auditeur, soit avec l'équipe technique interne, renforce le niveau de confiance et garantit que toute préoccupation ou clarification peut être traitée rapidement et efficacement.

[Le réseau d'auditeurs qualifiés du partenaire a-t-il une portée mondiale ?](#)

La portée mondiale des chaînes d'approvisionnement pharmaceutiques nécessite un réseau d'auditeurs dans différentes régions du globe. Un partenaire d'audit disposant d'un réseau d'auditeurs qualifiés répartis stratégiquement dans le monde entier garantit une accessibilité et une expertise adaptées aux différents sites des fournisseurs.

Il est essentiel de connaître le nombre et la localisation des auditeurs du partenaire. Par exemple, si une grande partie des fournisseurs est située en Asie, mais que les auditeurs du partenaire sont basés uniquement en Europe, il est évident que des problèmes logistiques se posent. Par ailleurs, les barrières linguistiques peuvent empêcher une communication efficace, car les auditeurs peuvent rencontrer des difficultés à exploiter des documents rédigés dans la langue locale ou à échanger avec les fournisseurs dans leur langue maternelle. Il est donc impératif dans la mesure du possible d'utiliser des auditeurs locaux.

L'efficacité des audits repose sur le fait que les auditeurs possèdent les qualifications, l'indépendance et les compétences linguistiques requises pour garantir des évaluations complètes, justes et impartiales. Il est essentiel d'avoir un aperçu des qualifications d'un auditeur, généralement fournies par son CV, pour s'assurer de ses compétences à la fois techniques et en matière d'audit. En outre, l'indépendance de l'auditeur est primordiale, ce qui nécessite l'absence d'affiliation avec les fournisseurs examinés. Un code de déontologie signé par les auditeurs permet de réaffirmer leur engagement en matière d'impartialité et d'indépendance, garantissant que les résultats de l'audit sont basés uniquement sur des constatations observées.

L'expérience d'un partenaire d'audit avec divers types de fournisseurs est avantageuse, car elle inspire confiance dans sa capacité à gérer efficacement les complexités des différents environnements de la chaîne d'approvisionnement. Cette vaste expérience renforce la capacité du partenaire d'audit à aligner le champ de l'audit au référentiel le plus pertinent, à adapter les méthodologies et les approches pour tenir compte de l'environnement spécifique des différents fournisseurs, ce qui aboutit en fin de compte à des résultats d'audit plus fiables et plus pertinents.

[Existe-t-il un réseau de sites fournisseurs bien établi ?](#)

Un réseau étendu de sites de fournisseurs ne peut qu'améliorer l'accessibilité à des dates d'audit et la flexibilité du calendrier. Le fait de disposer d'un contact établi avec un vaste réseau de sites fournisseurs permet d'établir de bons canaux de communication entre l'audit et le prestataire d'audit, ce qui renforce l'alignement sur les exigences des clients tout en aidant à surmonter les obstacles liés à la planification de l'audit. Par ailleurs, une communication efficace avec les sites fournisseurs est primordiale dans le cadre d'audits partagés, où une bonne coordination joue un rôle essentiel au bon déroulement de l'audit, à la fois pour les sites, les clients et l'auditeur.

[Le partenaire d'audit se projette-t-il sur le long terme ?](#)

Il est important de travailler avec un partenaire d'audit qui a une approche tournée vers l'avenir. Un partenaire d'audit compétent doit aider activement ses clients à clôturer leur programme d'audit. Il va ainsi l'inviter à participer à des audits partagés en lien avec son programme et à anticiper ses besoins en matière d'audit en fonction de l'historique dont dispose le partenaire. Un partenaire compétent doit aider à surmonter tous les obstacles potentiels qui empêchent un client de mener à bien son programme d'audit.

Il est impératif que le partenaire d'audit dispose d'une solide équipe d'auditeurs qualifiés, facilitant les déplacements sur les sites des fournisseurs pour les audits. En outre, il doit contribuer aux efforts d'assurance qualité du client et soutenir ses initiatives d'amélioration continue, afin de garantir un renforcement constant des normes de qualité année après année.

Un échange régulier entre le partenaire d'audit et son client est essentiel, la fréquence étant dictée par l'ampleur des audits réalisés et par les besoins spécifiques de ce dernier. Une communication sans faille est essentielle, facilitant un suivi et des discussions sans heurts afin d'aborder les questions émergentes ou les possibilités d'amélioration.

La **durabilité environnementale** est une préoccupation qui prend une place de plus en plus importante dans l'esprit de tous, mais aussi dans l'industrie et doit être prise en considération dans les différents process.

L'impact environnemental des déplacements à des fins d'audit ne peut pas être sous-estimé. Cet impact peut être réduit par l'utilisation d'auditeurs locaux situés au plus près des sites et par les solutions d'audits partagés. Ces derniers offrent une excellente occasion de réduire les émissions de carbone liées aux déplacements, ce qui permet d'atteindre les objectifs de durabilité sans impacter les résultats de l'audit. Lors de la sélection d'un prestataire d'audit, il est essentiel de tenir compte également de son engagement en faveur de pratiques respectueuses de l'environnement et de sa volonté d'adopter des approches d'audit innovantes qui accordent la priorité à la durabilité. En intégrant des considérations environnementales dans les stratégies d'audit, les organisations peuvent contribuer à un avenir plus durable tout en garantissant la conformité et l'excellence opérationnelle.

4. Conclusion

Chaque organisation cliente aura ses propres exigences et considérations à prendre en compte pour déterminer l'approche la plus appropriée pour ses audits de fournisseurs. Toutefois, l'externalisation des audits fournisseurs offre incontestablement de nombreux avantages, notamment la possibilité de se concentrer sur son cœur de métier, d'accéder à une expertise spécialisée et de surmonter les difficultés liées à l'accessibilité des sites des fournisseurs et à la coordination des audits.

En tirant parti d'une gamme diversifiée de solutions d'audit, incluant les audits à distance, les audits par questionnaire, les audits individuels et les audits partagés, les organisations peuvent adapter leur approche pour répondre efficacement à l'évolution des exigences réglementaires et des besoins opérationnels. Il n'existe pas de solution d'audit unique, chaque projet doit être abordé avec une stratégie à multiples facettes qui répond au mieux aux besoins du client.

En conclusion, le partenariat avec un prestataire d'audit externe reconnu, tourné vers l'avenir et proposant les solutions d'audit les mieux adaptées, est essentiel pour permettre aux organisations clientes d'améliorer la gestion des fournisseurs, de favoriser l'amélioration continue et de réduire les risques liés à la chaîne d'approvisionnement dans un environnement réglementaire de plus en plus complexe.

Selecting container closure components with confidence: A data-driven approach to CCI.

By Bettine BOLTRES, Glass Systems at West

There are few signs that momentum in the biologics market is set to slow down. Strong pipeline growth and a dominant share of drug approvals by the US Food & Drug Administration (FDA) in recent years points to the sector's sustained potential for years to come.

Bringing a new drug to market can undoubtedly deliver great rewards for patients and patent-holders alike, but whether in the case of biologics or small molecules, it is an undertaking that also carries well-documented risks.



With development costs typically in the billions of dollars⁽¹⁾, an average timeframe of ten years between first patent filing and market availability⁽²⁾, and only an estimated 10% of drugs in clinical trials receiving regulatory approval⁽³⁾, the pathway to return on investment is far from straightforward. In order to get there as quickly as possible, companies must blend agility, knowledge and resources in the right combination to meet development deadlines and answer the demands of regulatory agencies.

One major potential point of friction on this approval journey is the need to specify and verify a compatible packaging combination for your drug product. Container Closure Integrity (CCI) is a critical aspect of drug development, and one that demands attention and investment early in the process to avoid complications and possible harm further down the line. This point is underlined by FDA data, which reveals that around a third (34%) of injectable product recalls in recent years can be linked to particulates or a lack of sterility attributable to the container closure combination⁽⁴⁾.

Containment issues during the development phase can also prove costly, with reworking of the system resulting in delays and additional costs. For resource-limited emerging companies, which are the major driving force behind innovation in the biologics market, such challenges add to the already high burden they face in achieving regulatory approval. Indeed, such companies take an average of two years longer to get to market compared with their more established counterparts and, since 2019, they have also consistently received Complete Response Letters (CRLs) at a higher rate⁽⁵⁾.

Particularly in the case of emerging companies then, containment can be seen as a key concern. Failure to manage the issue effectively within the development phase has the potential to derail pre-approval progress, while it also has the potential to become a major disrupting factor following regulatory approval if containment failings trigger a product recall. In this article, we discuss how West is supporting pharmaceutical partners in this critical area through an efficient, data-driven process that employs innovative methods to accelerate the selection of a closure containment system that meets the requirements of the modern regulatory landscape.

1. The changing challenge of containment

There is little doubt that drug containment has become a more complex undertaking in recent years. The days are gone when a vial, stopper and seal might have been specified independently and then combined into a unified system. A combination of advances in materials science, modern manufacturing technologies and more stringent requirements from regulatory authorities puts us in a position today where drug containment is thankfully far more advanced and, as a result, recognisably better.

In recent years, regulators and standard setting organizations have published an increasing number of documents governing various aspects of containment with a view to continually improving the conditions under which a drug is packaged. Ultimately, these changes are introduced under the dual overarching ambitions of maintaining drug efficacy and enhancing patient safety. An example is the addition of USP <1207> in 2017, which goes into 40 pages of detail on the different measurement methods for container closure integrity (CCI). Another example is USP <382>, which was published in 2018 as an entirely new chapter and covers many more tests than the known functionality tests relating to fragmentation, self-sealing and penetrability for vials and cartridge seals included within USP <381>. Today, this has been extended into a 13-page document that essentially covers the functional suitability of all elastomer components in the context of parenteral product packaging and delivery systems, with a scope that encompasses everything from bottles, vials and syringes to Blow-Fill-Seal (BFS) containers and infusion bags.

Aside from the clear drive for improved quality, a key takeaway is that the focus of regulatory thinking is gravitating away from components in isolation and towards a more systems-level view. When considering the specific potential risk presented by endotoxins, particles or leachables, for example, it makes logical sense for pharmaceutical and biopharmaceutical companies to address these issues from a patient perspective, reflecting on how such issues might manifest themselves within the drug delivery systems that patients will themselves experience in real-world situations.

At a deeper level, regulators have also raised expectations around the rationale behind drug containment choices. Here, there is an expectation for strategies to be validated not just by rhetoric but by extensive dossiers of facts, evidence and data. This can be seen in the revised EU GMP Annex 1 on the manufacture of sterile medicinal products, which came into force in August 2023 and stipulates the requirement for a documented Contamination Control Strategy (CCS) and an integrity-testing regime linked to “knowledge and experience of the container and closure systems being used”. Furthermore, USP <1207> talks of how the integrity of the final packaged product is directly influenced by the “critical dimensional tolerances” of each component, their material properties, how they are assembled, and how they combine to form the closed package.

With this shift towards a data-driven, systems-view of drug containment, it is important to zero-in on the specific parameters that can influence the performance of components in combination, and to test them in a way that mirrors the context of real-world performance.

For example, fragmentation test data for a stopper based on a 28-gauge needle might demonstrate technical compliance, but this evidence holds less validity if it is to be used with a spike in the final system. Furthermore, the risk of delamination, which is a process of the interaction between drug product and vial, cannot be gauged through assessment of the vial alone.

Selecting the right combination of container-closure elements from all the available choices on the market can therefore be seen to be a challenging and complex task. Aspects such as dimensional fit are clearly critical, but there are many other tests to be conducted and many more levels of data to be gathered to demonstrate, document and verify CCI. Confidently arriving at a final decision demands both time and resources, but these are factors that can impact on costs and impair time-to-market, which can in turn compromise a drug product’s commercial potential.

At West, we are in an ideal position to address this challenge, bringing together experience of container closure systems with extensive knowledge of regulatory requirements. We have combined this expertise into a three-stage process to support companies embarking on such a decision, with a clear aim to introduce greater levels of efficiency, saving precious development time while also meeting the highest levels of compliance with the very latest regulatory standards.

2. Three-stage selection process

The first step in any such process is to conduct a paper-based theoretical assessment of the specified components. This stage will incorporate testing of Interference Fit and Stack-Up analysis to narrow down a large number of potential candidate components into a more selective number of compatible options. At the end of the theoretical assessment, modelling approaches are then used to arrive at a shortlist capable of advancing to the final third stage where component choices are tested for CCI to assess their suitability.

The use of modelling and simulation in the second step of the component selection process is a critical factor in accelerating development time and securing important cost savings. These benefits are down to the fact that analysis is carried out within highly accurate virtual environments that replicate real-world scenarios. This avoids the resource-and-time-intensive methods associated with more traditional pathways, where extensive iterations to prototypes are required to assess and control performance variables. It is important to note that analysis to identify optimisation of fit between components should be carried out before a system can progress to testing, since the purpose of the final step is to verify choices whose validity has already been deemed satisfactory.

Modelling might be considered a relatively novel approach, but it is one supported by regulators across the world. In the US, the FDA has a model-informed drug development program designed to “accelerate access to safe and effective products.”⁽⁶⁾ The European Medicines Agency (EMA) has also endorsed this approach, as demonstrated through its Modelling and Simulation Working Party. Echoing the language of the FDA, the EMA describes this approach as a “powerful tool” in facilitating the regulatory assessment of medicines.⁽⁷⁾

To explain more about how modelling works in practice, here we provide an example of the three-stage process in action, reflecting on how this process supports the validation of the chosen components at each point. In the example we will discuss here, the system is comprised of a European blowback type Corning® Valor® glass vial in conjunction with a West NovaPure® stopper and a West Flip-Off® CCS seal. Dimensions for all elements are based on the according ISO 8362 standards.

Stage 1: Theoretical Assessment

In the theoretical assessment stage, the first task is to prove dimensional compatibility. This can be achieved through an assessment of Interference Fit, which gauges the interface between stopper and vial based on the physical dimensions for each component. The values for these dimensions are drawn from the technical specification of the components and, as such, there is acknowledgement that the precise fit will vary marginally according to manufacturing tolerances in both vial and stopper. The extent of this theoretical variance, and therefore the dimensional compatibility of the components, is reflected in the Interference Fit (IF) range, which is calculated using reference measurements for the vial neck and the stopper diameter.

In this particular example, the stopper plug has an outer diameter of 7.45mm (±0.15mm), and the vial neck has an inner diameter of 7.0mm (±0.2mm). Using the maximum and minimum possible measurements within these tolerances will elicit a low-end IF figure at one extreme where the smallest plug diameter is employed in conjunction with the largest vial neck inner diameter. Conversely, there will also be an upper-end or high IF figure where the largest plug diameter is used in conjunction with the smallest vial neck diameter. Within this range, components that conform to the typical dimensional specification provide a nominal IF figure, which can be regarded as the expected norm. Here, the variances result in a nominal IF of 6%, which sits squarely in the middle of the generally accepted industry standard Interference Fit range of between 2% and 10%, proving that the components deliver a strong dimensional fit.

The next aspect of dimensional compatibility to be assessed is how much of the seal skirt will be left to be crimped under the seal crown. This can be understood by performing Stack-Up Analysis, which is calculated by combining measurements for the height of the vial crown and the height of the stopper flange when seated in the vial. This total figure is then subtracted from the total length of the seal skirt to reveal the seal-skirt overhang length (SSOL), which will dictate how much excess will be crimped under the crown.

The SSOL will, again, not be an absolute figure because of minor component-to-component variations. As such, the analysis will result in a spectrum of values that allow us to arrive at a nominal, mid-range figure. It is also important to note that the analysis assumes that the rubber is exposed to a compression percentage of 35%, which is based on typical measurements from real-world fill-finish operations. In this example, the nominal SSOL is calculated to be 1.24mm, which sits within the estimated industry range of 0.76mm to 1.3mm. Having therefore proved dimensional compatibility between components, the process can move to the second stage where further analysis can be carried out using modelling techniques.

Stage 2: Modelling Approaches

There are three approaches employed here: Finite Element Analysis; computerised tomography (CT) scanning; and DeltaCube™, a modelling platform developed by West to accelerate the Stack-up Analysis already discussed above.

The first of these, Finite Element Analysis (FEA), is a method typically used in structural engineering applications within the built environment to evaluate how the various forces acting on a specific material, such as pressure or temperature, affect its physical properties. It is based on the principle of dividing complex shapes into finite elements, which are then subjected to desired impacts to reveal the physical parameters at play.

Here, the parameters analysed for the vial, stopper and seal were: the coefficient of thermal expansion (CTE), which tells us how much shrinkage or expansion occurs when materials are heated and cooled; Young’s Modulus, which is related to a material’s stiffness and reveals

how much stretching and deformation occurs when tensile stress is applied; and Poisson’s Ratio, which tells us how the materials’ physical properties change on the plane that is perpendicular to the applied force. All of these differential calculations were carried out at low, medium and high levels of compression, with the two-dimensional axisymmetric model providing a close-up visualisation of the chosen closure combination.

The decisive area for maintaining CCI is the land seal, and maximum contact pressure between the vial and the stopper at low compression was recorded at 0.91 MPa and around 1.4 MPa at high compression. The model revealed that force was evenly distributed with no gaps observed between the surfaces. It also highlighted how much more of the seal is crimped underneath the vial neck under higher compression forces. Overall, the results are seen to be consistent with a secure seal.

In the next step, the closure combination was subject to a CT scan, which echoed the findings of the FEA model and underlined the fact that higher pressure correlates to more compression of the rubber and, therefore, the seal being crimped further under the rim. It also confirmed there were no visible gaps between the vial and the rubber surface.

The final step in the Modelling Approaches stage is to subject the chosen components to DeltaCube™ modelling platform analysis. This modelling platform uses actual dimensions for vial, stopper and seal as inputs rather than taking measurements from technical drawings, as was the case for the Stack-Up Analysis in the previous stage. It also allows for the compression percentage on the stopper to be defined along with minimum and maximum acceptable values for seal-skirt length, with acknowledgement of the fact that both over-crimped and under-crimped vials can be markers of poor CCI.

With inputs and parameters established, the DeltaCube™ modelling platform calculates the probability distribution of over-crimping and under-crimping, referred to in terms of P. This is based on the percentage of possible stack-up combinations that fall outside the desired seal-skirt overhang length (SSOL) range according to the specified compression level and the supplied dimensional data. In our example, at low compression of 15%, the results are at the low end of the acceptable range and the overhang length with the highest probability of occurrence is 0.7mm. At high compression of 45%, the results sit in the middle of the range and the overhang length with the highest probability of occurrence is around 1.3mm. In both compression modes, therefore, P tends towards zero, further indicating strong dimensional fit and allowing the chosen combination to progress to the final testing stage.

Stage 3: Experimental Verification

With confidence in dimensional fit provided by theoretical analysis and modelling approaches, helium leak testing can be applied to assess the closure system’s CCI. In this case, the study was conducted at low, medium and high compression for non-stored samples at ambient temperature. In addition, to test CCI over time, samples under medium compression were evaluated after accelerated ageing of 6 months, 12 months and 24 months under elevated temperature, and also after 6 months of real-time ageing under ambient temperature. All samples fell well below the Kirsch limit of low probability for microbial ingress and can, therefore, be considered to safely maintain integrity under a range of storage conditions.

3. Data-rich approach to validating closure choices

On reaching the end of this three-stage process, we are able to reflect on the fact that the chosen components – Valor® glass vial, NovaPure® stopper, and Flip-Off® CCS seal – together form a secure closure combination. This conclusion is evidenced by extensive data,

....→

....→

including theoretical assessment of Interference Fit and Stack-Up; confirmation of dimensional fit using the modelling approaches of Finite Element Analysis (FEA), CT scanning and DeltaCube™ modelling platform calculations; and CCI validation through helium leak testing.

Furthermore, these methods have allowed such a conclusion to be reached in an accelerated timeframe by employing efficient methods. This not only minimises direct testing costs, but it also contributes to a reduction in overall development costs and supports companies in their efforts of getting to market as quickly as possible with a patient-safe containment system available from a single source of supply.

With speed of operational deployment in mind, West can introduce further efficiencies by making components available in Ready Pack™, a ready-to-use sterile containment solution that smooths the pathway to fill-finish operations, removing the need for additional sterilisation processes. We also understand the importance of supporting companies in their scale-up journey, which is why components can be supplied in quantities that support both early-stage pilots and commercial scale production.

References

1. L Based on data from Tufts Center for the Study of Drug Development
2. Emerging Biopharma's Contribution to Innovation, June 2022, IQVIA
3. Biotechnology Innovation Organization: Clinical Development Success Rates
4. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/drug-recalls> (Accessed July 31, 2023) and <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/recalls-biologics> (Accessed July 31, 2023)
5. Emerging Biopharma's Contribution to Innovation, June 2022, IQVIA
6. [https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/cder-conversation-model-informed-drug-development#:~:text=Model%2Dinformed%20drug%20development%20\(MIDD,drug%20development%20and%20decision%2Dmaking.](https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/cder-conversation-model-informed-drug-development#:~:text=Model%2Dinformed%20drug%20development%20(MIDD,drug%20development%20and%20decision%2Dmaking.) (accessed July 31, 2023)
7. <https://www.ema.europa.eu/en/committees/working-parties-other-groups/chmp/methodology-working-party> (accessed July 31, 2023)



JCE BIOTECHNOLOGY

CONFIGURE YOUR OWN STERILITY TEST ISOLATOR

for safe applications

Built to meet your requirements (gloves, airlocks, airflow...)
 Customized and ergonomic internal layout : pump position, hanging bar...
 Integrated H₂O₂ bio-decontamination cycles with recipes
 Solid and liquid waste evacuation via secure RTP ports
 Integrated environmental monitoring



Secure & automated



User friendly



Modular design

ZA Bioparc - Rue Michel Renaud - 03270 Hauterive - France
 Tel. : +33 (0)4 70 59 51 40
 contact@jcebiotechnology.com



L'art de comprendre le langage : l'évolution du traitement automatique du langage.

Par Virginie BRIFFAUD, Enrico PERSPICACE & Mehdi Olivier DOUBIANI, EFOR

Le traitement automatique du langage ou Natural Language Processing (NLP) est une discipline qui a pour objectif de donner la capacité aux machines de comprendre et d'utiliser le langage humain sous toutes ses formes. Cet objectif est extrêmement difficile à atteindre du fait de la complexité du langage humain qui se caractérise non seulement par les mots utilisés mais également par le contexte dans lequel ils sont utilisés ou l'intonation employée. Il faut donc que les machines soient capables d'avoir une compréhension des raisonnements spatiaux, des actions et de leurs effets, des émotions, des intentions et des conventions sociales pour identifier, par exemple, des homonymes ("vers" une direction, "vers" de poésie, "vers" de terre).



Le NLP est au croisement de plusieurs domaines : la linguistique, l'informatique et l'intelligence artificielle. Il comprend plusieurs sous-ensembles : le NLU (Natural Language Understanding) pour ce qui concerne la compréhension du langage humain (écrit ou parlé) par la machine et le NLG (Natural Language Generation) pour ce qui concerne la génération de langage par les machines.

Challenge du NLP : ambiguïté, connaissances communes, créativité, diversité des langages⁽¹⁾.

1. Importance du NLP dans notre vie quotidienne

Dans notre vie quotidienne, le NLP est omniprésent que ce soit avec les assistants vocaux de smartphones, l'identification des emails comme étant des spams, l'écriture intuitive pour la rédaction de messages ou d'emails, les traducteurs mais aussi les chatbots avec à présent les modèles génératifs tel que ChatGPT. Le NLP est également utilisé par Google pour améliorer les résultats de son moteur de recherche ou par Facebook pour détecter et filtrer les contenus haineux⁽²⁾.

2. Historique du NLP

Après la seconde guerre mondiale, l'enjeu fut de développer une machine permettant de traduire automatiquement le russe en anglais. En 1954, les chercheurs de Georgetown ont conçu une machine utilisant six règles grammaticales et 250 éléments lexicaux.

Cependant, cette approche basée sur des règles était limitée et manquait de flexibilité, comme illustré par une traduction inattendue de *'the spirit is willing, but the flesh is weak'* en *'the vodka is agreeable, but the meat is spoiled'*.

Pendant les années 1950, Alan Turing proposa le concept d'une "machine universelle" imitant l'intelligence humaine, introduisant le test de Turing⁽³⁾. Des chercheurs, tels que Noam Chomsky, remirent en question l'approche du NLP basée sur des règles, incitant à développer la théorie du langage formel pour expliquer la syntaxe et la sémantique du langage naturel⁽⁴⁾.

Dans les années 60-70, le NLP se concentra sur des systèmes basés sur des règles plus concrètes (permettant de capturer des aspects spécifiques du langage naturel), appelées NLP symbolique⁽⁵⁾, conduisant au développement des premiers algorithmes d'analyse syntaxique. Entre autres, Joseph Weizenbaum créa ELIZA, un chatbot basé sur des règles simulant une conversation avec un psychologue⁽⁶⁾.

Entre 1980 et 1990, les travaux de Levesque contribuèrent au développement du NLP, créant des systèmes capturant les relations entre les concepts en langage naturel et développant des ontologies (représentations formelles des connaissances du domaine). Des modèles statistiques probabilistes émergèrent, profitant des avancées informatiques pour apprendre automatiquement des règles linguistiques, améliorant la reconnaissance d'entités et l'analyse des sentiments (repérage des éléments subjectifs dans un texte afin de dégager l'opinion exprimée par l'auteur).

Le développement d'Internet et des moteurs de recherche, notamment Google dans les années 1990-2000, améliora considérablement les performances des algorithmes. L'approche de ces moteurs de recherches était de combiner les modèles statistiques tels que la classification naïve bayésienne ou le Support Vector Machine avec des règles ou "feature functions" (petits programmes aidant à détecter certaines caractéristiques : mots-clés, motifs linguistiques, structure syntaxique, entités nommées, etc.) que les ingénieurs de Google mettaient à jour régulièrement afin d'améliorer la pertinence des résultats. Durant cette période, des outils de programmation tels que NLTK (Natural Language Toolkit) et spaCy émergèrent, permettant le développement de modèles de NLP plus performants.

Depuis les années 2000, les modèles de deep learning font leur apparition, utilisant des réseaux de neurones artificiels (fonctionnement similaire au cerveau humain) pour créer des représentations vectorielles des mots appelées "embeddings"⁽⁸⁾. À partir de 2010, le NLP connaît des avancées rapides avec le développement du deep learning. Des LLM (Large Language Models) basés sur différentes architectures, tels que les réseaux de neurones récurrents (RNN)⁽⁹⁾, convolutifs (CNN)⁽¹⁰⁾, ou récurrents (RvNN)⁽¹¹⁾, sont utilisés pour des tâches de compréhension et de génération de langage humain.

Les réseaux de neurones récurrents (RNN) sont spécialement conçus pour le traitement séquentiel nécessaire lors du traitement du langage et garder en mémoire ce qui a été préalablement traité. Ce type de modèle est performant dans de nombreuses tâches de NLP telles que la classification de texte ou la traduction⁽¹²⁾ mais n'est pas adapté lorsque le texte d'entrée est long. Pour pallier ce défaut, il est possible d'utiliser les modèles LSTM (Long – Short Term Memory) qui ont la particularité de ne garder en mémoire que les informations importantes pour résoudre la tâche. Des mécanismes d'attention sont introduits dans les modèles⁽¹³⁾ ce qui permet d'améliorer significativement les performances pour la traduction et le résumé de textes.

Dans l'article *'Attention is all you need'* écrit par Vaswani et al.⁽¹⁴⁾, les auteurs décrivent deux avancées majeures :

- l'importance des mécanismes d'attention qui permettent de focaliser de manière sélective sur différentes parties d'une séquence,
- les modèles de types Transformers⁽¹⁵⁾ encore très utilisés aujourd'hui (modèles de traitement de séquence à séquence faisant intervenir des mécanismes d'attention pour apprendre les relations entre les mots et les phrases).

Dès sa sortie, le modèle Transformer a obtenu des performances supérieures aux modèles précédents sur une variété de tâches de NLP.

En 2018, Google propose le modèle BERT (Bidirectional Encoder Representations from Transformers), un modèle bidirectionnel pré-entraîné qui a depuis été adapté à la langue française avec CamemBERT et FlauBERT. Depuis 2018, de nombreux modèles de deep learning ont été développés, certains surpassant les précédents en termes de traduction, correction grammaticale, etc. Des acteurs tels qu'OpenAI ont émergé avec des modèles comme Ada (2020), Curie (2021), Davinci (2022), et plus récemment Chat GPT. Actuellement, de nouveaux modèles sont régulièrement introduits dans ce domaine dirigé par des géants de l'intelligence artificielle.

3. Techniques de base du NLP

3.1 La compréhension du langage naturel

Comme mentionné dans l'introduction, le NLP fait également intervenir de la linguistique. En effet, cette dernière est importante pour la compréhension du langage naturel notamment pour comprendre la structure du langage. Le langage humain est composé de quatre éléments principaux : les phonèmes, les morphèmes et lexèmes, la syntaxe et le contexte.

Les phonèmes correspondent à la plus petite unité de son dans un langage. L'étude phonologique est particulièrement importante pour les tâches de NLP impliquant la compréhension de la parole, la transcription de la parole en texte ou la représentation du texte en parole.

L'analyse morphologique ou lexicale correspond à l'étude de la formation et de la structure interne des mots. Elle est à la base de la tokenisation et de la normalisation du texte. Le lexique d'une langue est l'ensemble des mots et des phrases de cette langue. Un morphème est la plus petite unité de langage possédant une signification.

L'analyse syntaxique correspond à l'étude de la formation et de la structure interne des phrases et attribue une fonction aux mots (verbe, sujet...). En utilisant l'analyse syntaxique, les phrases sont séparées en ses constituants grammaticaux et prend en compte des relations entre les mots selon des règles précises. Il y a une différenciation entre le sujet et l'objet de la phrase.

Le quatrième élément fondamental du langage humain est **le contexte** qui va permettre de donner un sens particulier à une phrase. Le contexte fait intervenir une analyse sémantique et une analyse pragmatique. **L'analyse sémantique** correspond à l'étude de la signification du texte basée sur la structure logique de la phrase et les règles grammaticales en dehors du contexte. **L'analyse pragmatique** quant à elle étudie le sens qui est communiqué dans un contexte particulier.

3.2 Techniques de base du NLP

À la base du NLP, plusieurs techniques sont fondamentales aussi bien pour les méthodes traditionnelles que pour les méthodes basées sur du deep learning. Nous pouvons différencier les techniques de traitement de texte brut et les techniques de représentation de texte.

Parmi **les techniques de préparation du texte brut**, nous pouvons citer :

- **La segmentation** qui fait référence à des techniques de séparation de texte écrit en unités ayant du sens telles que les mots, les phrases ou les sujets. C'est une étape essentielle dans beaucoup de tâches de NLP comme faire des résumés, la traduction, l'analyse de sentiments (enthousiasme, apathie, mécontent, etc.).

Actuellement, plusieurs méthodes de segmentation peuvent être utilisées, basées sur des règles (par exemple la présence de ponctuation), avec des méthodes statistiques ou de deep learning.

- **La tokenisation** qui est une étape fondamentale pour le traitement du langage consistant à séparer le texte en petites unités appelées tokens. Les tokens peuvent être soit des mots, des sous-mots ou des caractères. Les tokens sont utilisés pour préparer le vocabulaire du texte c'est-à-dire à un set de tokens unique. Ce vocabulaire sera utilisé pour les approches **bag-of-word** et **TF-IDF** que nous verrons plus tard.

La tokenisation en mots est couramment utilisée. Selon les séparateurs, différents tokens sont formés. Une limitation majeure est le 'out of vocabulary' lorsque de nouveaux mots ne sont pas dans le vocabulaire. Après la tokenisation, le texte peut être nettoyé avant d'être utilisé dans les algorithmes de machine learning. Une étape de nettoyage inclut la suppression des stopwords, comme "le" et "la", qui n'ont pas de valeur informative mais sont fréquents. **La suppression des stopwords** permet aux algorithmes de se concentrer sur les mots définissant la signification du texte. Pour certaines applications comme la traduction, les stopwords ne sont pas supprimés.

Ensuite, le texte peut être normalisé avec des techniques de **stemming** ou de **lemmatisation**. Le stemming conserve la racine du mot en supprimant préfixes et suffixes, mais ne considère pas les relations sémantiques. Par exemple, "université" et "universitaire" deviennent "univers". La lemmatisation représente les mots sous leur forme canonique, en utilisant un dictionnaire pour correspondre à des mots réels. Ces étapes de nettoyage sont utiles dans certains cas (allègent le texte, accélèrent les calculs comme la détection de spams), mais pour certaines applications, les stopwords sont conservés pour mieux comprendre la signification des phrases.

3.3 Les techniques de représentation de texte

Une fois le texte préparé en utilisant les étapes précédemment décrites, le texte a besoin d'être transformé dans une représentation numérique compréhensible par les machines. Au cours du temps, différentes méthodes ont été développées afin de créer ces représentations de textes. Ces représentations correspondent à des vecteurs qui vont plus ou moins réussir à capturer les propriétés linguistiques du texte qu'ils représentent.

Dès 1957, la technique du **"bag of words"** (sac de mots) a fait son apparition dans le contexte de la recherche d'informations. Elle est basée sur le comptage des mots ou fréquence des tokens. Avec cette méthode, chaque document est représenté par un vecteur de la taille du vocabulaire présent dans le document et l'occurrence de chaque mot est notée. Le texte est représenté par une matrice de taille NxN où N est le nombre de tokens unique dans le texte. Comme cette matrice contient majoritairement des zéros, nous parlons de matrices creuses (sparse matrix). La taille du vocabulaire déterminant la taille de la matrice, cette méthode nécessite des grosses capacités de mémoire lorsque les documents contiennent un vocabulaire riche. De plus, si un document contenant un token non présenté lors de l'entraînement est soumis au modèle, ce token n'est pas reconnu (problème du "out of vocabulary"). Un autre désavantage de cette approche est que le sens sémantique du texte n'est pas capturé⁽¹⁶⁾.

En 1972, Karen Spärck Jones introduit une nouvelle approche qui consiste à pondérer le poids du token en utilisant l'inverse de sa fréquence (idf – inverse document frequency) au sein du document ⁽¹⁷⁾. La combinaison de l'approche bag-of-words, qui considère la fréquence des tokens (tf), avec l'approche idf correspond à la méthode **Tf-idf** (Term-frequency inverse document frequency) utilisée depuis 1998 en machine learning ⁽¹⁸⁾. Cette approche permet donc de mesurer la pertinence des tokens dans un document et améliore considérablement les performances obtenues. En revanche, elle ne permet toujours pas de capturer la signification sémantique des mots ou de comprendre le contexte.

Une autre façon de représenter le texte est de considérer un mot et les mots qui l'accompagne comme l'avait mentionné John Rupert Firth en 1977 ⁽¹⁹⁾. Pour cela, le premier modèle développé a été celui du modèle de langage **n-gram**. Un n-gram est une séquence de n mots et le modèle va prédire la probabilité d'un mot en fonction du mot qui précède. Ce modèle prend donc en compte le contexte et permet de traiter chaque mot comme une probabilité d'apparition en fonction du texte qui précède.

A partir des années 2000, une nouvelle famille de techniques appelée **embedding** a émergé pour créer des représentations numériques distribuées du texte⁽²⁰⁾. A présent, les mots sont représentés dans un espace probabiliste dans lequel leur sens les rapproche en termes de distances statistiques. Avec ces techniques, les mots sont représentés par des vecteurs denses de taille fixe dans un espace de hautes-dimensions (plusieurs composantes). Le vecteur associé à chaque mot prend en compte le contexte dans lequel il est apparu dans le texte, fournissant ainsi une représentation tenant compte des propriétés grammaticales et sémantiques des mots.

Le premier modèle utilisé pour l'embedding est Word2Vec. Développé par des chercheurs de Google, Word2vec a été entraîné avec près de 100 milliards de mots présents dans les Google news. Word2Vec fut rapidement suivi par Glove développé par des chercheurs de Stanford (Pennington et al.) ⁽²¹⁾ et FastText développé par des chercheurs de Facebook (Bojanowski et al.) ⁽²²⁾, tous deux entraînés notamment avec des articles Wikipédia. Parmi les modèles d'embedding, nous pouvons également citer ELMo (Embeddings from Language Models) ⁽²³⁾. Dans ce cas, les vecteurs représentant les mots sont calculés par un modèle de langage bidirectionnel à deux couches (biLM).

3.4 Applications du NLP

Ci-dessous, quelques applications du NLP :

- **La traduction automatique** : les systèmes de traduction automatique, tels que Google Translate ou DeepL, utilisent le NLP pour traduire des textes d'une langue à une autre. Certains traducteurs sont également capables de détecter automatiquement la langue du texte d'entrée.
- **La génération de texte automatique** : les Large Language Models (LLMs) peuvent générer un texte cohérent et contextuellement pertinent en fonction d'une invite donnée, ouvrant des possibilités pour l'écriture créative, le contenu des blogs, etc. La génération de texte est également utilisée dans les assistants virtuels et les chatbots.
- **L'analyse des sentiments** : il s'agit d'un processus de classification de l'intention émotionnelle d'un texte. Généralement, l'entrée d'un modèle de classification des sentiments est un morceau de texte, et la sortie est la probabilité que le sentiment exprimé soit positif, négatif ou neutre. L'analyse des sentiments est utilisée pour classer les commentaires des clients sur diverses plateformes en ligne par exemple.
- **Le topic modeling** : il s'agit d'une technique d'analyse de texte utilisée pour découvrir des motifs ou des thèmes latents dans un corpus de documents. L'objectif du topic modeling est d'extraire automatiquement des sujets ou des thèmes à partir de grands ensembles de textes non étiquetés, sans qu'un être humain n'ait à spécifier préalablement ces thèmes. Cela permet notamment la recommandation de documents à partir d'un document initial et d'aider à détecter les tendances.
- **La classification de texte** : le cas d'usage le plus courant est la détection de spams. Il s'agit d'un problème de classification binaire très répandu dans le domaine du NLP, dont l'objectif est de classer les courriels en tant que spams ou non. Les détecteurs de spam prennent en entrée le texte d'un courrier électronique ainsi que divers autres sous-textes tels que le titre et le nom de l'expéditeur. Ils visent à déterminer la probabilité que l'e-mail soit un spam. Les fournisseurs de services de messagerie électronique, comme Gmail, utilisent de tels modèles pour améliorer l'expérience des utilisateurs en détectant les courriels non sollicités et indésirables et en les déplaçant vers un dossier de spam désigné.
- **La correction grammaticale** : les modèles de correction d'erreurs grammaticales codent des règles grammaticales pour corriger la grammaire d'un texte. Il s'agit principalement d'une tâche de séquence à séquence, dans laquelle un modèle est entraîné sur une phrase non grammaticale en entrée et une phrase correcte en sortie. Les correcteurs grammaticaux en ligne comme Grammarly et les systèmes de traitement de texte comme Microsoft Word utilisent ces systèmes pour offrir une meilleure expérience d'écriture à leurs clients.
- **Le résumé de texte** : cela consiste à raccourcir un texte pour en faire ressortir les informations les plus pertinentes.
- **La reconnaissance vocale** : il s'agit d'algorithmes pouvant identifier la voix de l'orateur, convertir les mots prononcés en texte et interpréter le sens qui les sous-tend. Siri d'Apple et Alexa d'Amazon sont des outils qui utilisent le NLP pour écouter les demandes des utilisateurs et trouver des réponses. Aussi, de nombreuses sociétés intègrent ces modèles dans leur Customer Relationship Management (CRM) afin d'améliorer l'expérience client.

4. Les défis du NLP

Parmi les défis du NLP, il y a :

- **La complexité** : les langues naturelles sont intrinsèquement ambiguës. Un même mot ou une même phrase peut avoir plusieurs sens ou interprétations en fonction du contexte.
- **La variabilité** : les langues évoluent constamment. De nouveaux mots, expressions et usages apparaissent régulièrement.
- **Jeux de mots** : les jeux de mots, les métaphores et les expressions idiomatiques peuvent être difficilement interprétables par des modèles de NLP.
- **Erreurs humaines** : les textes écrits par des humains peuvent contenir des erreurs de grammaire, d'orthographe, de ponctuation, etc.
- **Connotation et émotion** : les mots et les phrases peuvent avoir des connotations émotionnelles ou culturelles, ce qui nécessite une compréhension subtile de la signification et de l'impact du langage.
- **Abstraction** : les textes peuvent contenir des abstractions, des généralisations et des concepts complexes qui nécessitent une compréhension profonde et contextuelle.
- **Longueur et cohérence** : les documents peuvent être de différentes longueurs, allant de quelques mots à de longs paragraphes ou des textes complexes. Les modèles NLP doivent être capables de maintenir la cohérence et la compréhension sur des échelles variées.
- **Ethique** : nécessité d'atténuer les biais, de garantir la transparence et de prévenir les conséquences néfastes, tout en assurant une utilisation responsable et équitable de la technologie.

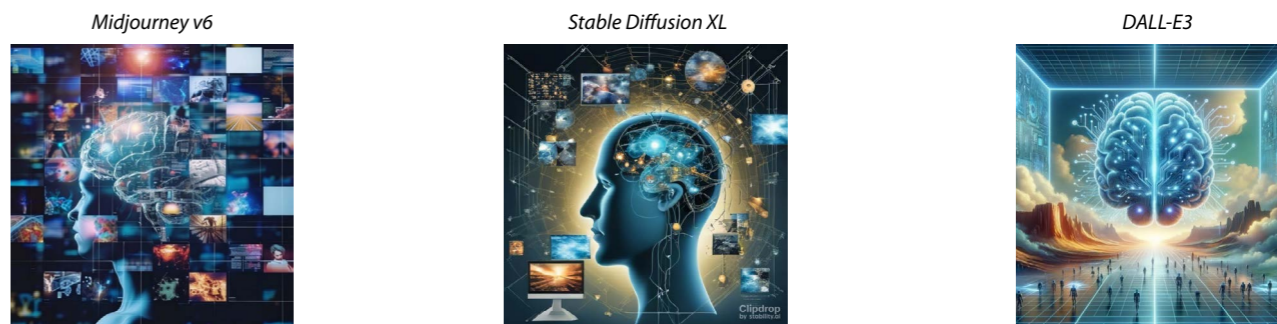
5. L'avenir du NLP

5.1 Les développements récents et futurs du NLP

Le GPT-4, développé par OpenAI⁽²⁴⁾, 1.7 trilliards de paramètres en entrée (modèle qui accepte des tokens en entrée pour être traités dans le réseau) et a été un modèle de langage particulièrement important car il a été le premier modèle de langage de grande taille, ce qui lui a permis d'effectuer des tâches encore plus avancées telles que la programmation et la résolution de problèmes mathématiques de niveau lycée. La dernière version, appelée InstructGPT, a été affinée par des humains pour générer des réponses beaucoup plus conformes aux valeurs humaines et aux intentions de l'utilisateur. Enfin, le dernier modèle de Google Gemini⁽²⁵⁾ présente de nouvelles avancées impressionnantes en matière de langage et de raisonnement.

L'outil Codex, basé sur le modèle GPT-4, sert entre autres comme assistant aux programmeurs en générant du code à partir d'entrées en langage naturel. Il alimente déjà des produits tels que Copilot pour GitHub, la filiale de Microsoft, et il est capable de créer un jeu vidéo de base simplement en tapant des instructions. Le dernier né du laboratoire d'IA DeepMind de Google, par exemple, démontre les capacités de réflexion critique et de logique nécessaires pour surpasser la plupart des humains dans les compétitions de programmation.

Les modèles tels que le GPT-4 peuvent même être entraînés sur plusieurs formes de données en même temps. Par exemple DALL-E 3 d'OpenAI est entraîné sur le langage et les images pour générer des rendus haute résolution de scènes ou d'objets imaginaires simplement à partir d'invites textuelles. D'autres concurrents comme Midjourney v6⁽²⁶⁾ et Stable diffusion XL⁽²⁷⁾ ont également été créés et mis à disposition de la communauté des outils digitaux similaires.



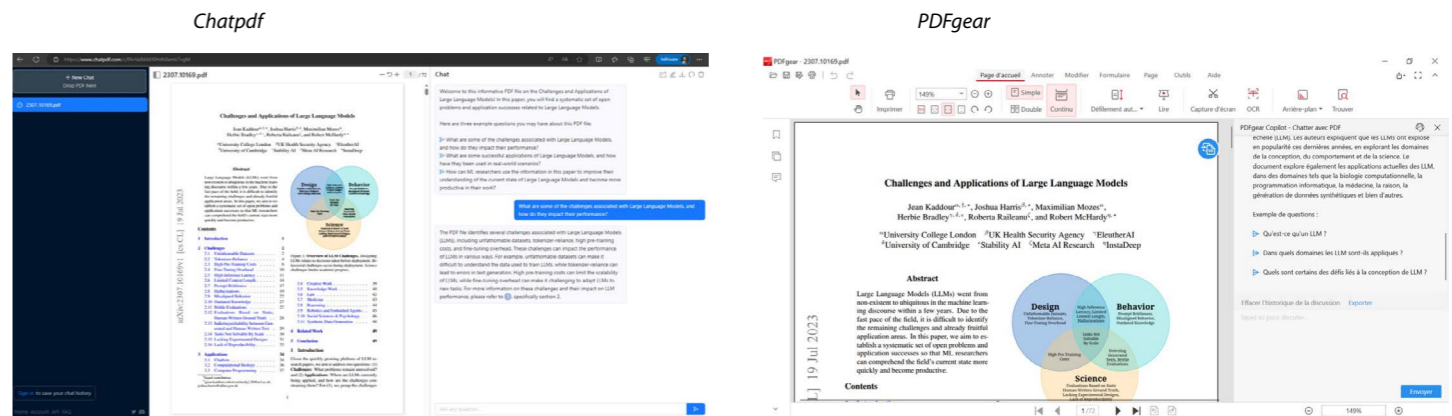
Figures : le résultat de l'instruction suivante avec différents algorithmes : "Imaginez une scène capturant l'essence de l'IA et de la créativité pour un article sur les avancées du NLP. Mettez en scène un cerveau digital avec des réseaux neuronaux, entouré d'un écran affichant des images variées, allant du surréalisme aux paysages futuristes, reflétant le potentiel créatif de <nom du modèle>. Utilisez un fond qui évoque une matrice numérique, symbolisant la technologie sous-jacente".

5.2 Les nouvelles applications possibles du NLP

De nouvelles applications apparaissent pour analyser des documents de type pdf. L'outil **chatpdf** ⁽²⁸⁾ permet par exemple de télécharger un fichier pdf et de chatter avec le document. Cet outil est utilisé par exemple pour parcourir des documents scientifiques, des articles académiques et des livres pour obtenir les informations de manière rapide. Un autre outil assez similaire mais qui peut être lancé en local sur son ordinateur est **PDFgear**.

Il existe également des outils qui facilitent la recherche bibliographique. Parmi ces outils, nous retrouvons :

- **Consensus**⁽³⁰⁾ : une IA utilisée pour analyser les recherches évaluées par les pairs et extraire les principales conclusions de chacune d'entre elles.
- **Scite**⁽³¹⁾ : il s'agit d'une IA qui permet aux utilisateurs de trouver les bonnes sources pour la rédaction d'articles scientifiques.
- **Elicit**⁽³²⁾ : c'est un outil qui est capable de localiser des articles pertinents et extraire des informations sans que la correspondance dans la requête soit réalisée avec des mots clés spécifiques. Cette IA peut aider à réaliser différents exercices d'exploration, notamment la conceptualisation, la synthèse et la mise en ordre du texte, ainsi que la synthèse des questions centrales pour la réalisation d'un rapport.



- **ResearchRabbit**⁽³³⁾ : appelé par ses fondateurs "le Spotify de la recherche", Research Rabbit permet d'ajouter des articles académiques à des "collections". Ces collections permettent au logiciel de connaître les centres d'intérêt de l'utilisateur, ce qui donne lieu à de nouvelles recommandations pertinentes. ResearchRabbit permet également de visualiser le réseau d'articles des auteurs et des coauteurs sous forme de graphiques, afin que les utilisateurs puissent suivre le travail d'un seul sujet ou d'un seul auteur et se plonger plus profondément dans leur recherche.
- **Scholarcy**⁽³⁴⁾ ou **PaperDigest**⁽³⁵⁾ : ce sont des outils similaires qui résument les articles académiques et mettent en évidence les parties les plus importantes pour le lecteur. Ils permettent également de déterminer rapidement et facilement si un article est pertinent ou non.

De plus, de nouvelles applications émergent comme les multi agents : il s'agit d'un ensemble d'agents autonomes interagissant entre eux pour atteindre des objectifs spécifiques. Chaque agent dans un système multi-agent est une entité autonome dotée de sa propre capacité de perception, de prise de décision et d'action.

Il existe à l'heure actuelle plusieurs IA de ce type dont :

- **Autogen de Microsoft**⁽³⁶⁾ : c'est une IA qui simplifie l'orchestration, l'optimisation et l'automatisation des flux de travail des LLM. Il offre des agents personnalisables et conversationnels qui exploitent les capacités les plus fortes des LLM et les plus avancées, comme GPT-4, tout en répondant à leurs limites en s'intégrant aux humains et aux outils et en ayant des conversations entre plusieurs agents via un chat automatisé.
- **Mixtral (sparse mixture-of-expert)**⁽³⁷⁾ : il s'agit d'un modèle basé uniquement sur la partie décodeur où à chaque couche, pour chaque token, un routeur choisit deux des huit groupes de paramètres disponibles (nommés les "experts") afin de procéder à l'analyse du token et de combiner les résultats. Cette technique permet de réduire le nombre de paramètres d'un modèle tout en contrôlant le coût et la latence. En effet, ce type de modèle n'utilise qu'une fraction du total des paramètres définis par token. Par exemple, Mixtral a 46.7 milliards de paramètres totaux et n'utilise que 12.9 milliards de paramètres par token. Aussi, des modèles de type multimodal apparaissent. Il s'agit par exemple de GPT-4 et Gemini Pro. Ce sont des IA qui sont capables de comprendre, traiter et intégrer plusieurs types de données ou signaux d'entrée (texte, audio, image, vidéo, code informatique).

Parmi les cas d'usage, il y a par exemple le :

- "text to image" : à partir d'un texte, l'IA est capable de générer une image
- "text to music" : à partir d'un texte, l'IA est capable de générer de la musique
- "image to text" : à partir d'une image, l'IA donne une description des éléments qui y sont représentés

Enfin, des modèles NLP sont développés pour des domaines spécifiques (juridique, réglementaire, médicale, scientifique, etc). Il existe des sites internet qui répertorient l'ensemble de ces variants de modèles comme HuggingFace⁽³⁸⁾ ou très récemment GPTStore⁽³⁹⁾.

Pour finir, des entreprises comme Meta, souhaitent développer des IA génératives fiables et responsables (Purple Llama)⁽⁴⁰⁾. Ces IA sont testées par des équipes afin de s'assurer qu'elles ne produisent pas par exemple du texte à caractère haineux ou non éthique.

6. Conclusion

Cet article met en lumière un domaine fascinant de l'intelligence artificielle : le traitement du langage naturel (NLP). Nous plongeons dans l'histoire du NLP, de ses débuts dans les années 50 jusqu'à son état actuel, en suivant l'évolution constante des concepts et des technologies qui ont façonné les modèles actuels les plus sophistiqués. Tout au long de cette évolution, une panoplie de techniques de représentation et d'analyse textuelle ont été méticuleusement développées.

Aujourd'hui, le NLP imprègne divers secteurs avec des applications aussi variées que l'analyse et la synthèse de texte, la traduction, la recherche d'informations dans les documents, la classification, et même la génération de contenu. Cette ascension fulgurante trouve son élan dans l'évolution parallèle des outils matériels dédiés à l'apprentissage des modèles en exploitant les nouvelles technologies.

Les futurs développements se profilent vers des systèmes multimodaux qui ne se limitent pas au texte, mais englobent également la génération d'images, de sons et de vidéos. Enfin, les toutes dernières avancées se concentrent sur des modèles plus économes en ressources et sans compromettre les performances. Une ère passionnante s'ouvre dans le domaine du NLP, avec des horizons toujours plus vastes et des possibilités innovantes à explorer.

References

- S. Vajjala, B. Majumder, A. Gupta & H. Surana. « Practical Natural Language Processing: A Comprehensive Guide to Building Real-World NLP Systems », 2020, O'Reilly & Associates Inc, ISBN-10 : 1492054054.
- « A complete guide to Natural Language Processing », DeepLearning.AI, <https://www.deeplearning.ai/resources/natural-language-processing/>
- A. M. Turing, « Computing Machinery and Intelligence », 1950, Mind 49: 433-460.
- Jacob Eisenstein, « Introduction to natural language processing », 2019, Adaptive Computation and Machine Learning series, ISBN : 9780262042840.
- « A brief history of NLP », World Wide Technology, <https://www.wvt.com/blog/a-brief-history-of-nlp>
- A. Grechanyuk, « A short explanation of the history of the natural language models », 2023, <https://www.linkedin.com/pulse/short-explanation-history-natural-language-models-anton-grechanyuk/>
- R. Brachman, H. Levesque, « Readings in Knowledge Representation », 1985, Los Altos, Calif. : M. Kaufmann Publishers
- Y. LeCun, Y. Bengio & G. Hinton, « Deep learning », Nature, 2015, 521, 436-444
- K. Cho, B. van Merriënboer, C. Gulcehre, D. Bahdanau, F. Bougares, H. Schwenk & Y. Bengio, « Learning Phrase Representations using RNN Encoder-Decoder for Statistical Machine Translation », 2014, <https://arxiv.org/abs/1406.1078>
- Y. Xiao, K. Cho, « Efficient Character-level Document Classification by Combining Convolution and Recurrent Layers », 2016, <https://arxiv.org/abs/1602.00367>
- A. Sperduti & A. Starita, « Supervised neural networks for the classification of structures », 1997, IEEE Transactions on Neural Networks, 8, 714-725, doi: 10.1109/72.572108
- A. Kapanth, « The Unreasonable Effectiveness of Recurrent Neural Networks », 2015, <https://karpathy.github.io/2015/05/21/rnn-effectiveness/>
- D. Bahdanau, K. Cho, Y. Bengio, « Neural Machine Translation by Jointly Learning to Align and Translate », 2014, <https://arxiv.org/abs/1409.0473>
- A. Vaswani, N. Shazeer, N. Parmar, J. Uszkoreit, L. Jones, A. N. Gomez, L. Kaiser, I. Polosukhin, « Attention Is All You Need », 2017, <https://arxiv.org/abs/1706.03762>
- J. Devlin, M.-W. Chang, K. Lee, K. Toutanova, « BERT: Pre-training of Deep Bidirectional Transformers for Language Understanding », 2018, <https://arxiv.org/abs/1810.04805>
- I. Sharaf, « Introduction to Natural Language Processing (NLP) », 2019, <https://towardsdatascience.com/introduction-to-natural-language-processing-nlp-323cc007df3d>
- R. Spärck Jones, « A statistical interpretation of term specificity and its application in retrieval », 1972, Journal of Documentation, 28, 11-21
- T. Joachims, « Text categorization with Support Vector Machines: Learning with many relevant features ». In: Nédellec, C., Rouveiro, C. (eds) Machine Learning: ECML-98. ECML 1998. Lecture Notes in Computer Science, 1998, 1398, 137-142
- J. Firth, « A Synopsis of Linguistic Theory, 1930-55 », 1957, Linguistics
- T. Mikolov, K. Chen, G. Corrado & J. Dean, « Efficient Estimation of Word Representations in Vector Space », 2013, <https://arxiv.org/abs/1301.3781>
- J. Pennington, R. Socher, C. D. Manning, « GloVe: Global Vectors for Word Representation », <https://nlp.stanford.edu/pubs/glove.pdf>
- A. Joulin, E. Grave, P. Bojanowski, M. Douze, H. Jégou & T. Mikolov, « FastText.zip: Compressing text classification models », 2016, <https://arxiv.org/abs/1612.03651>
- M. E. Peters, M. Neumann, M. Iyyer, M. Gardner, C. Clark, K. Lee & L. Zettlemoyer, « Deep contextualized word representations », 2018, <https://arxiv.org/abs/1802.05365>
- GPT-4, <https://openai.com/chatgpt>
- Google Gemini, <https://openai.com/chatgpt>
- Midjourney v6, <https://mid-journey.ai/midjourney-v6-release/>
- StableDiffusion XL, <https://stablediffusionweb.com/StableDiffusionXL>
- Chatpdf, <https://www.chatpdf.com/>
- PDFGear, <https://www.pdfgear.com/fr/>
- Consensus, <https://consensus.app/>
- Scite, <https://scite.ai/>
- Elicit, <https://elicit.com/>
- ResearchRabbit, <https://www.researchrabbit.ai/>
- Scholarcy, <https://www.scholarcy.com/>
- PaperDigest, <https://www.paperdigest.org/>
- « AutoGen: Enabling next-generation large language model applications », 2023, <https://www.microsoft.com/en-us/research/blog/autogen-enabling-next-generation-large-language-model-applications/>
- Mixtral, <https://www.microsoft.com/en-us/research/blog/autogen-enabling-next-generation-large-language-model-applications/>
- HuggingFace, <https://huggingface.com/>
- GPTStore, <https://gptstore.ai/plugins>
- Purple Llama, <https://ai.meta.com/llama/purple-llama/>

Microbial Monitoring RABS Gloves: Unravelling the Implications of Directional Use.

By Walid EL AZAB, QP Pro Services

The industry has placed significant emphasis on testing the integrity and frequency of Isolator and RABS gloves⁽³⁻⁶⁾ since the recent revision of the EU GMP Annex 1 and associated PIC/s guideline^(1,2). However, glove management involves more than just integrity testing. This article addresses the Environmental Monitoring of Isolator and RABS gloves surfaces as an essential aspect of glove management.



Barrier systems such as RABS or isolators typically feature glove ports. These ports are used for installing gloves after being washed and sterilized, if they are not purchased ready to use. Before installation, a visual inspection ensures packaging and glove integrity before unwrapping and installing the gloves in their respective RABS ports. After the installation, physical testing using a pressure decay machine is generally performed to ensure the glove's integrity before use. These gloves are then utilized for aseptic interventions like set-up, inherent or corrective intervention to maintain manufacturing continuity. At batch completion, gloves are sampled directly using contact plates or swabs. Glove integrity checks are conducted after each batch or periodically (weekly to monthly, depending on site protocols). While some barrier systems require gloves to be used in one direction (either right or left), specific gloves, like nitrile, PVC, neoprene, or Polyurethane ones, may allow for use in both directions, enabling operators to insert either hand for required activities.

We have all experienced the scrutinizing gaze of an inspector or external auditor at least once. Often, their inquiries leave us pondering, "How did I miss that?" Despite being the process owner or Subject Matter Expert (SME), unexpected questions can catch us off guard.

Picture this scenario: an auditor observes an aseptic activity through a window during an onsite tour, focusing on an aseptic operator engaged in a set-up or intervention within the Restricted Access Barrier System (RABS) or an isolator. The auditor poses a seemingly straightforward question: "Is the Isolator glove used in both directions?" Your confident response—"Yes, in both directions"—initiates a realization that this seemingly innocuous question marks the beginning of a challenging journey in isolator gloves microbial monitoring.



Before delving into the complexities, let's rewind to the moment of realization. Most Barrier Systems, whether RABS or Isolators, are equipped with gloves for operators to perform aseptic operations such as set-ups, inherent (also called routine) or corrective (also called non-routine) interventions during the manufacturing of medicinal products. The catch lies in the glove ports of some Barrier Systems, allowing gloves to be used interchangeably (left or right). This flexibility enables operators to insert either hand into the same glove port based on the type of intervention. However, not comprehending the implications of this flexibility can be a pitfall.

Returning to the auditor's query about using Isolator gloves in both directions, the implications become evident. Answering in the affirmative triggers a realization that interventions performed with the opposite side are often not sampled, as the logical side of the glove is typically selected for sampling based on the direction of the thumb of the barrier System drawing (P&ID).

Now that we realize the implication of the affirmative answer, it is time to draw an assessment of the impact of monitoring only one side of RABS gloves; this involves a holistic review of the gloves monitoring by:

1. Mapping the aseptic set-up and interventions to confirm which gloves are used interchangeably.
2. Reviewing procedures to identify instructions allowing the use of gloves in both directions and not specifying the operator's hand to be used.
3. Interviewing operators to confirm their use of both sides of the gloves or if they perform interventions with a single hand, specifying which hand.
4. Scrutinizing batch records to confirm using one or two gloves for each intervention and analyze trends in the data. In most cases, batch records will only document corrective interventions.
5. re-watching the smoke studies to endorse that gloves are not used in both directions.
6. Reviewing RABS gloves' microbial monitoring, ideally defining a probability of failure using historical data.
7. Evaluating Grade A Environmental Monitoring data against sample locations and surrounding areas where the gloves are used.

Compile this data and determine whether the lack of microbial monitoring on the other side of gloves could affect product sterility assurance. Your analysis should include Aseptic Process Simulation (APS) results in addition to product bioburden, sterility, and endotoxin results by providing a science-based justification to ensure product quality.

Based on your findings, two decisions can be considered and the Contamination Control Strategy (CCS) document will be revised depending on the chosen approach to reflect and justify the selected decision:

- If the decision is to designate the direction of each RABS glove, clear instructions and visuals should be provided at the glove ports indicating the appropriate hand or direction for glove use. The microbial monitoring sampling plan will remain unchanged.
- If the decision is to allow gloves to be used interchangeably (left or right), instructions and sampling plans should be updated accordingly. The Environmental Monitoring Risk Assessment should be revised to incorporate this flexibility, with identified controls such as sampling both sides of gloves or only the gloves used on both sides. Finally, other processes may be updated such as APS.

Conclusion

The scrutiny of RABS or Isolator gloves' microbial monitoring compared to their usage reveals a nuanced challenge with implications for aseptic operations. The seemingly straightforward question posed by the auditor—whether the Isolator gloves are used in both directions—unveils a complex web of considerations that demand meticulous attention.

Our exploration emphasizes the importance of a meticulous assessment. A holistic view emerges through mapping processes, reviewing procedures, interviewing operators, and analyzing monitoring data. The correlation between glove usage and environmental monitoring data highlights potential risks. Updating risk assessments, and protocols, refining monitoring practices, and aligning with historical data enhance these strategies. This article offers a blueprint for organizations to navigate directional Isolator or RABS glove challenges, fostering a culture of continual improvement in pharmaceutical manufacturing.

References

1. EudraLex The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Volume 4: EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products, (2008).
2. PIC/S – Pharmaceutical Inspection Convention / Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme, PI 014-1, Recommendations for Isolators used for Aseptic Processing and Sterility Testing, (2002).
3. Gessler A., Stärk A., Sigwarth V. and C. Moirandat, How Risky are Pinholes in Gloves? A rational Appeal for the Integrity of Gloves Isolators, PDA Journal, Vol. 65, No. 3, May-June 2011, Doi: 10.5731/Pdajpst.2011.00716
4. Corinna M., James L. D., Managing contamination risks in glove holes in barrier separation technology, European Pharmaceutical Review (2016); accessed on 21/02/2024: <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/45014/managing-contamination-risks-glove-holes-barrier-separation-technology/>
5. Microbiological study on the management of holes in gloves for isolators, A3P Lavague n°72, (2022); accessed on 21/02/2024: <https://www.a3p.org/en/microbiological-study-on-the-management-of-holes-in-gloves-for-isolators/>
6. Trichot S., Drinkwater J.L., Impact of Annex 1 revision on new vial filling line at Sanofi Pasteur Marcy-l'Étoile, A3P Lavague n°69 (2019); accessed on 24/02/2024: <https://www.a3p.org/en/impact-of-annex-1-revision-on-new-vial-filling-line-at-sanofi-pasteur-marcy-lettoile/>

General Considerations on Bacterial Endotoxins & USP Approach to Developing GC <86> Bacterial Endotoxins Test Using Recombinant Reagents.

By Stefano D'AMICO, USP

Bacterial Endotoxins, a component of the Gram-Negative Bacterial (GNB) cell wall, comprise most of the pyrogens found in parenteral manufacturing. Endotoxins are integral with the outer cell membrane of GNB. If GNB cannot grow, endotoxins cannot be generated. However, endotoxins may remain active in cell wall fragments after cells die so that a material may be sterile but may still contain quantifiable levels of endotoxins activity.



Bacterial endotoxins, when present in parenteral products (including biological products) or medical devices, indicate that the growth of GNB occurred at some point during the manufacturing steps. Endotoxins can be introduced into the process stream by pharmaceutical ingredients, including water, raw materials (particularly from natural sources), active pharmaceutical ingredients (API), drug product formulation excipients, and primary packaging materials.

The endotoxin testing industry has been exploring new technological advancements to complement traditional methods used in laboratories for endotoxin detection. Patient safety is of the utmost importance, and there is a lot of attention given to finding improvements without introducing new risks, while also ensuring ecological sustainability. In recent years, new techniques have emerged that do not involve animal derivatives or animals, such as the Monocyte Activation test and recombinant reagents, which include recombinant factor C (rFC) and recombinant cascade reagents (rCR). This paper provides an overview of techniques for controlling endotoxin levels and highlights the new USP General Chapter (GC) <86> Bacterial Endotoxins Test Using Recombinant Reagents which introduces the alternative approaches for detecting bacterial endotoxins.

1. Controlling the Level of Endotoxins

The Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) test is one of the ways of testing for the presence of endotoxins. This involves incubating a sample to be tested with the lysate of amoebocytes of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. This test is simple, rapid, relatively inexpensive, and very sensitive. It can detect pyrogens on the ng/ml level.

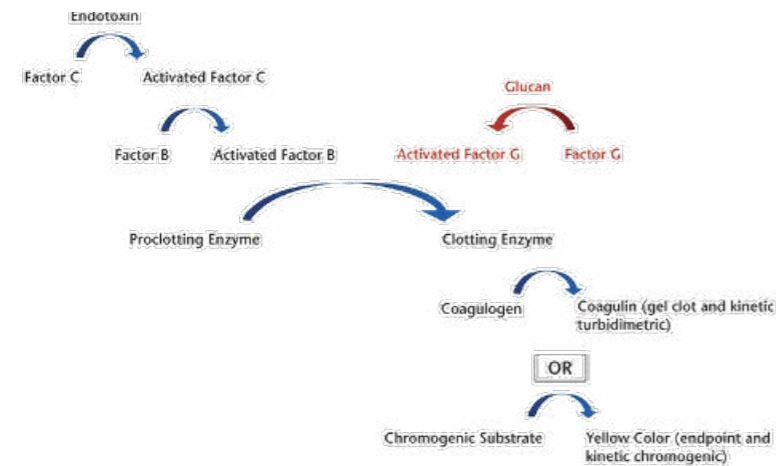


Figure 1: Natural lysate zymogen protease cascade

For the past 40 years, the LAL test described in the GC <85> *Bacterial Endotoxins Test* has been the primary method of evaluating parenteral products for the presence of bacterial endotoxins in vitro. The first version of *Bacterial Endotoxins Test <85>* appeared in *USP 20-NF 15* (1980). The chapter was subsequently harmonized with the *Japanese and European Pharmacopoeias* (JP 4.01, Eur. Ph. 2.6.14), and the first harmonized chapter appeared in *USP 25-NF 20* (2002). Since its first publication, the content has changed very little, but years of experience, increasing knowledge, and more complex parenteral formulations suggest that the basic methodologies described could benefit from additional supporting information. Bacterial endotoxin assays may encounter various interferences due to the physical and chemical characteristics of the test sample. If such interferences cannot be overcome or mitigated by accepted levels of sample dilution (i.e., Maximum Valid Dilution) or other validated methods of sample preparation, companies should use the Rabbit Pyrogen Test (RPT) as outlined in GC <151> *Pyrogen Tests*.

For certain biological products in the U.S., federal regulations still require RPT. The requirement may be waived if a method equivalent to the rabbit pyrogen test is demonstrated following the guidelines in 21 CFR 610.9¹. It is worth noting that some USP monographs still mandate a rabbit pyrogen test. However, if a company can demonstrate an equivalent pyrogen detection, they may choose to perform an endotoxins test or alternative cell-based test instead. Companies also have the option to use alternative methods and procedures if they provide better accuracy, sensitivity, precision, selectivity, or adaptability to automation or computerized data reduction in other particular circumstances. If such a choice is made, the alternative test for the detection of bacterial endotoxins must be fully validated to ensure that decisions made using the alternative methodology are equivalent to or better than decisions made using the validated USP methods and ultimately approved by the appropriate regulatory authority. Although endotoxin testing is not specifically cited, guidance on validation of alternative methods can be found in the General Chapters *Validation of Alternative Microbiological Methods <1223>* and *Validation of Compendial Procedures <1225>*. However, if test results are not conclusive, the referee test is the USP compendial method unless otherwise stated in the monograph for the product being tested. The FDA review division will evaluate the proposed changes on a case-by-case basis.

Concerning the EU, at its 170th session in June 2021, the *European Pharmacopoeia* (Ph. Eur.) Commission has decided to embark on a path that should lead to the complete replacement of the rabbit pyrogen test (RPT) within approximately five years. The Monocyte-activation test (MAT) was added to the Ph. Eur. in 2009, providing an in vitro alternative to the RPT capable of detecting both endotoxin and non-

endotoxin pyrogens. The publication of this chapter was a significant step forward in terms of animal welfare, in accordance with the Council of Europe's European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes². The advantage of the MAT is the capability to detect both endotoxins and non-endotoxin pyrogens. The FDA's "Guidance for Industry – Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers" mentions this method as an alternative to the Rabbit Pyrogen Test, which must be validated according to USP GC <1225>. Moreover, the USP <151> Pyrogen Test suggests that "A validated, equivalent in vitro pyrogen or bacterial endotoxin test may be used in place of the in vivo rabbit pyrogen test, where appropriate," and although the MAT is present as a compendial method in Eur. Ph., a complete GMP method validation must be conducted to comply with USP requirements.

2. Proposed General Chapter <86> Bacterial Endotoxin Test Using Recombinant Reagents

USP published GC <86> *Bacterial Endotoxin Test Using Recombinant Reagents* in Pharmacopeial Forum 49⁶, with a comment period from November 1, 2023 to January 31, 2024. The chapter describes a test method using recombinant reagents, such as recombinant Factor C (rFC) and recombinant Cascade Reagent (rCR), utilizing two detection techniques: the endpoint fluorescence technique and the chromogenic technique. These reagents are an animal-free alternative to the traditional LAL approach. In the horseshoe crab and in the in vitro lysate reaction, endotoxins bind to and convert Factor C to its active form, subsequently activating Factor B, which activates the proclotting enzyme. The activated proclotting enzyme then cleaves the targeted clotting protein, coagulogen, resulting in increased turbidity (kinetic turbidimetric assay) and, ultimately, a clot of the lysate sample mixture (gel clot test). The chromogenic assay is similar to the turbidimetric assay but, rather than cleaving coagulogen, the proclotting enzyme cleaves a chromophore from a colorless substrate, resulting in an increase in color intensity of the reaction mixture. The extent of turbidity or color is proportional to the level of endotoxins activity in the test solution that binds to Factor C, the first zymogen in the cascade (Figure 1).

Recombinant bacterial endotoxins test reagents proposed as alternatives to naturally sourced *Limulus* amoebocyte lysate (LAL) contain one or more recombinant zymogen protease(s) cloned from one or more constituent zymogen elements of the natural cascade. By design, recombinant reagents lack the alternative Factor G pathway where the presence of β-d-glucan can activate Factor G, which in turn can act as a non-endotoxin-specific activator of the proclotting enzyme. When a sample contains sufficient β-d-glucan, the presence of the Factor G pathway in natural lysate can result in an overestimation

of endotoxins activity.

Current recombinant Factor C (rFC) reagents contain only the rFC constituent of the clotting cascade. These tests require the use of a qualified and calibrated fluorometer for reading the signal. The rFC test is an endpoint assay and is performed in a manner consistent with GC <85>, Photometric Quantitative Techniques, Chromogenic Technique (Figure 2).

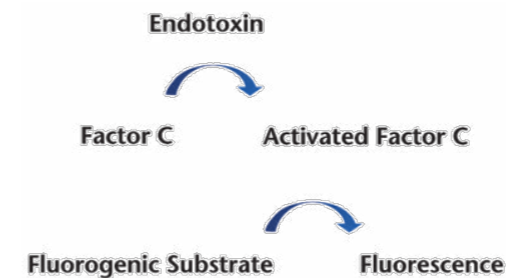


Figure 2: rFC cascade

Recombinant cascade reagents (rCR) include all three cloned zymogen proteases (Factor C, Factor B, and the proclotting enzyme) in their formulations as shown in Figure 3. The test methodology for using rCR is the same as the kinetic chromogenic method and is performed as described in GC <85>, Photometric Quantitative Techniques, Chromogenic Technique.

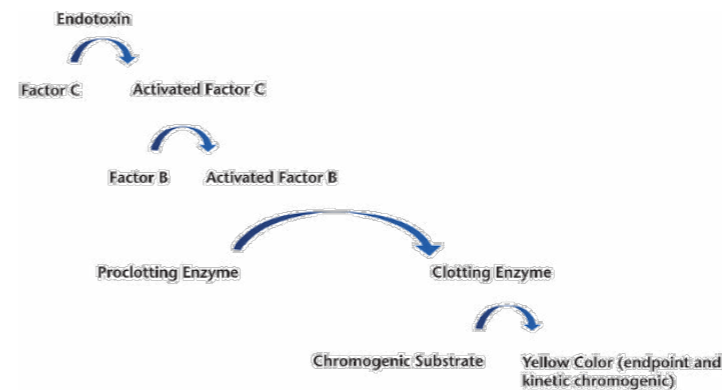


Figure 3: rFC cascade

The GC <86> highlights that these tests are considered alternative tests unless specified in an individual monograph and must meet the requirements in General Notices 6.30. This means that users should evaluate the primary validation package for the reagent provided by the vendor and prepare the suitability tests necessary to confirm the method verification for the specific product to which it will be applied. Manufacturers of existing products that choose to use GC <86> need to show comparability to GC <85>, and regulatory authorities may require validation and/or supplemental data. On the other hand, manufacturers of new biopharmaceuticals may be able to evaluate the use GC <86> without comparing to GC <85>. The USP Endotoxin Reference Standard is included and required in this test as in the GC <85>. Users are encouraged to consult each regulatory authority as

they may require supplemental data prior to acceptance. An example of supplemental data may include a comparative study of the material tested by techniques described in this chapter and those in GC <85>.

Comparability of recombinant reagents should demonstrate equivalency of results per General Notices 6.30. It is recommended to compare test results using products that contain known levels of measurable endotoxins activity from a source that could reasonably be expected to contaminate the product.

The following suggestions are provided to minimize variables that may affect the comparability protocol:

- Given that the recombinant factor C reagent, have no Factor G pathway, the use of a glucan blocker for the lysate reagent is recommended.
- Control standard endotoxins (CSE) are secondary calibration analytes that may be derived from different strains of *E. coli* and formulated differently among reagent suppliers. The use of one manufacturer's CSE with another's reagent may result in a different potency determination that could influence the comparability study outcome (USP GC <1085> Guidelines on Bacterial Endotoxins Test). It is suggested that comparability studies employ the USP Endotoxin Reference Standard for calibration curves and Positive Product Control (PPC) to eliminate any effects that an unmatched combination of reagent lot/CSE lot may have on the test result.

An example of acceptance criteria of measured endotoxins activity using recombinant and naturally derived lysates might be the following: The measured activity of a sample containing endotoxins using a recombinant reagent method should fall within 50%-200% of the measured activity in the same sample tested using natural lysate as described in GC <85>. A sample calculation is provided below for a single sample where endotoxins from autochthonous sources are measured at 4.7 EU/mL using the compendial lysate method and 5.3 EU/mL using the recombinant reagent.

$$\text{Relative Recovery} = [(5.3 \text{ EU/mL}) \div (4.7 \text{ EU/mL})] \times 100 = 113\% \text{ recovery}$$

The proposed method in USP-NF, GC <86> *Bacterial Endotoxins Test Using Recombinant Reagents* is in line with the approaches adopted by the *European and Japanese Pharmacopoeia*. In Addition, USP is proposing to include the rCR and its associated method (which is not present in the current EP chapter), given that multiple manufacturers have recently made it commercially available. (Table 1)

3. Conclusions

Recombinant factors are synthetic reagents that provide a sustainable alternative to LAL, which relies on lysate from horseshoe crab species that are endangered in some parts of the world. By using recombinant reagents (rFC and rCR), we can reduce our dependency on these animal resources. Technology providers, subject matter experts, and pharmaceutical companies have conducted comparability studies for several years to determine if the recombinant reagents for BET are as good as, or better than, LAL reagents. With a growing body of evidence and an increase in adopting sustainable alternatives within the life science industry, end-users are increasingly confident in using recombinant reagents as an alternative to LAL reagents to convert to sustainably produced reagents. Changes may be on the horizon, as all major producers of LAL now have their own recombinant versions, likely reflecting the interests of the markets and regulators to shift towards animal-free testing methods. Additionally, the Atlantic fisheries regulators are currently reviewing new harvest limits for horseshoe crabs. It may be necessary to find a sustainable solution to

ensure the safety of the horseshoe crab ecosystem as soon as possible. One effective approach could be for companies to use mixed strategies initially, by utilizing recombinant products for in-process testing during their manufacturing cycle. This way, Limulus Amebocyte Lysate (LAL) can be reserved solely for final release testing. Making policy decisions on complex scientific issues to adopt new technologies across diverse agencies is a challenging task, but it is finally underway.

Bacterial Spore Formers in Disinfectant Efficacy Testing.

By David SHIELDS & Jim POLARINE, STERIS

Table 1 : Comparison of the current proposals as they appear in the USP, European Pharmacopoeia, and Japanese Pharmacopoeia:

	USP	Pharmacopoeia European	Japanese Pharmacopoeia
Is it considered an Alternative Method?	Unless specified in an individual monograph or General Notices, the tests in this chapter are considered alternative tests, and users must meet the requirements in General Notices 6.30.	The replacement of an LAL based method prescribed in a monograph by an rFC-based method is considered as the use of an alternative method as described in the Ph. Eur. General Notices.	<G4-4-180> describes procedures and considerations in measurement when using recombinant protein reagents for endotoxin assay as alternative methods, in addition to lysate reagents and test methods in the Bacterial Endotoxins Test.
Should be a comparability / fitness for use be demonstrated?	A test for bacterial endotoxins using rFC or rCR can be used in the same way as LAL-based methods after demonstrating its fitness for use for the specific substance or product. Regulatory authorities may require supplemental data, and users are encouraged to discuss with each regulatory authority.	A test for bacterial endotoxins using rFC can be used in the same way as LAL-based methods after demonstrating its fitness for use in the specific substance or product.	If these reagents for endotoxin assay are used as an alternative method, confirm that accuracy, precision, sensitivity, specificity, etc., are equal or better compared to Bacterial Endotoxins Test <4.01> using lysate reagents.
Should users assess the vendor-provided reagent's primary validation package for suitability tests preparation?	To use recombinant reagents, supplier's primary validation data can be used.	The rFC can be used in the same way as LAL-based methods after it has been demonstrated to be fit for use with the specific substance or product.	The recombinant protein reagents for endotoxin assay are not identical to "an amoebocyte lysate prepared from blood corpuscle extracts of horseshoe crab" specified in Bacterial Endotoxins Test <4.01>.
Methods included	Includes methods for rFC and rCR.	Includes methods for rFC.	Includes methods for rFC and rCR.

Disinfectant efficacy testing is performed to qualify a wet contact time for disinfectants for use within classified areas of aseptic manufacturing facilities (e.g., Biopharma, Pharma, Medical Device, etc.). Disinfectant efficacy testing is a regulatory expectation and designing a disinfectant efficacy study can be complex, with many different potential study variables to consider.



Periodically, the question is raised when designing a disinfectant efficacy study: Should bacterial spore formers be tested against disinfectants that are not considered sporicidal agents? Considering this possibility, we will evaluate the question and provide a reasoned approach. Industry regulators are also interested in bacterial spore testing as noted in a recent FDA 483, "There was no analysis to determine if the microbial population used consisted of spores and/or dividing vegetative microorganisms."¹⁾

From a disinfectant efficacy testing regulatory guidance perspective, USP 43-NF38 <1072> *Disinfectants and Antiseptics* defines a chemical disinfectant as, "A chemical agent used on inanimate surfaces and objects to destroy infectious fungi, viruses, and bacteria, but not necessarily their spores..." USP 43-NF38 <1072> *Disinfectants and Antiseptics*, goes on to define a Sporidical Agent as, "An agent that destroys bacterial and fungal spores when used in sufficient concentration for a specified contact time. It is expected to kill all vegetative microorganisms." This demonstrates that a disinfectant that is not considered a sporicidal agent is not expected to exhibit efficacy against bacterial spores, which are one of the most challenging forms of microorganism to chemically inactivate. Table 1 demonstrates the challenge presented by bacterial spores.

Formulated chemical disinfectants are registered for marketing in a geographical area with the applicable regulatory authority, and should have label claims to support the expected range of microbicidal efficacy (e.g., bactericidal, fungicidal, sporicidal, etc.). Label claims for a chemical disinfectant should be reviewed and evaluated to help guide an end user to test against an appropriate range of microorganisms in a disinfectant efficacy study as well as

References

1. *Guidance for Industry: Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers* | FDA. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-pyrogen-and-endotoxins-testing-questions-and-answers>.
2. *European Pharmacopoeia to put an end to the rabbit pyrogen test* | ALTEX - Alternatives to animal experimentation. <https://altex.org/index.php/altex/announcement/view/321> <85> BACTERIAL ENDOTOXINS TEST DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M98830_02_01 <1085> GUIDELINES ON ENDOTOXINS TEST
3. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M2245_03_01
4. *Compendial Notices <86> Bacterial Endotoxins Test Using Recombinant Reagents* <https://www.uspnf.com/notices/86-bet-using-recombinant-tests-gen-annc-20230822>
5. *European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare Newsroom Recombinant factor C: new Ph. Eur. chapter available as of 1 July 2020* <https://www.edqm.eu/en/-/recombinant-factor-c-new-ph.-eur.-chapter-available-as-of-1-july-2020>
6. *Bacterial Endotoxins Test and alternative methods using recombinant protein reagents for endotoxin assay 001-1909* <https://www.pmda.go.jp/files/000231653.pdf>

Table 1. Theoretical Resistance Hierarchy (McDonnell 1999)

	Microorganism	Examples
More Resistant ↑ Less Resistant	Prions	Scrapie, Creutzfeldt-Jacob disease, Chronic wasting disease
	Bacterial Spores	<i>Bacillus</i> , <i>Geobacillus</i> , <i>Clostridium</i>
	Protozoal Oocysts	<i>Cryptosporidium</i>
	Helminth Eggs	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i>
	Mycobacteria	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. chelonae</i>
	Small, Non-Enveloped Viruses	Poliovirus, Parvoviruses, Papilloma viruses
	Protozoal Cysts	<i>Giardia</i> , <i>Acanthamoeba</i>
	Fungal Spores	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i>
	Gram negative bacteria	<i>Pseudomonas</i> , <i>Providencia</i> , <i>Escherichia</i>
	Vegetative Fungi and Algae	<i>Aspergillus</i> , <i>Trichophyton</i> , <i>Candida</i> , <i>Chlamydomonas</i>
	Vegetative Helminths and Protozoa	<i>Ascaris</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia</i>
	Large, non-enveloped viruses	Adenoviruses, Rotaviruses
	Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i>
	Enveloped viruses	HIV, Hepatitis B virus, Herpes Simplex virus

how to incorporate into the facility's contamination control program. For example, a use dilution of a phenolic or quaternary ammonium compound is not expected to exhibit efficacy against bacterial spores. Negative log₁₀ reductions can even be observed for non-sporicidal chemical disinfectants against bacterial spores in a disinfectant efficacy coupon study if the test coupons recover at a slightly higher value than the positive control coupons, due to standard error associated with cultural microbial recovery.

Attempting to test against a vegetative form of bacterial spore former is also not recommended for a litany of reasons. A bacterial spore presents a significantly greater challenge to disinfection than a bacterial spore-former vegetative cell. If efficacy data is generated against a suspension with a significant portion comprised of vegetative cells, the sporicidal efficacy of a product could be overestimated. Additionally, the spore form of a bacterial spore former is the most likely form to be present in a classified area since it may be present and can survive indefinitely on a variety of surfaces that may be introduced into a classified area. Vegetative cells of bacterial spore formers are typically associated with soil (dirt) or materials of organic origin that are not often a part of manufacturing processes. Vegetative cells do not survive indefinitely.

Vegetative cells become non-viable outside of the required environmental conditions, and even when under ideal conditions auto-lyse and release a spore, upon cell maturity.

A lack of sporulation cannot be accurately predicted within a culture. The mechanism for sporulation is highly complex with many genes and transcription factors being involved in the induction of sporulation to the degree that there are cell-specific transcription factors⁽²⁾. Sporulation typically will begin within an incubation period that is required to grow up a vegetative culture (18-24 hours) in a laboratory. The initiation of sporulation is known to occur at variable times amongst different species. For instance, *Bacillus cohnii* has been demonstrated to sporulate within three hours and achieve 98% sporulation by six hours⁽³⁾.

Figures 1 & 2 exhibit varying degrees of spore formation and release in 18-hour cultures of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis*, with arrows pointing to some examples of spores. Subpopulations within a culture sporulate at different times rather than sporulating in a synchronized manner. Sporulating quickly in a subpopulation of a culture is a sound survival strategy that allows the microorganism to survive. This strategy is important if extreme environmental conditions

occur that will result in the inactivation of the vegetative cells. This all demonstrates that creating a suspension comprised of only vegetative cells for a spore-forming bacteria is highly improbable.

When considering the viability of testing a vegetative bacterial spore-former culture in a disinfectant efficacy study, given the unpredictable nature of sporulation, any aliquot of a bacterial spore-former suspension may or may not contain spores. The absence or presence of spores cannot be verified through established laboratory techniques without compromising the aliquot of inoculum, rendering it unusable for the actual disinfectant test (e.g., spore staining). Therefore, any results generated with a suspension containing some unknown number of spores would not lead to results that are of value, as it would not be known if the results were based upon the presence or absence of spores for each individual test and positive control (water control) coupon. Having an inconsistent ratio of vegetative cells to spores on individual test and positive control coupons could also lead to differential levels of survival of the inoculum drying process on individual coupons within a single test parameter as spores are able to survive complete desiccation better than some vegetative cells. This would lead to variability in results attributable to a variable that is outside the scope of the study's evaluation.

Demonstrating an ability to effectively inactivate bacterial spores is a critical component of a disinfectant efficacy study and an organization's Contamination Control Strategy, verifying that the Contamination Control Program is able to maintain microbial control within the classified areas. However, if the study is not based upon a scientifically sound approach, specious conclusions can be made about the disinfectants in the Contamination Control Program, which could ultimately lead to an increased contamination risk for the product.

As demonstrated here, bacterial spore formers should only be tested in spore form, against sporicidal agents, when performing a disinfectant efficacy study. Testing bacterial spore formers against disinfectants that are not sporicidal and attempting to test bacterial spore formers in vegetative form does not lead to generating data that adds value to a disinfectant efficacy study but does take up valuable resources and time.

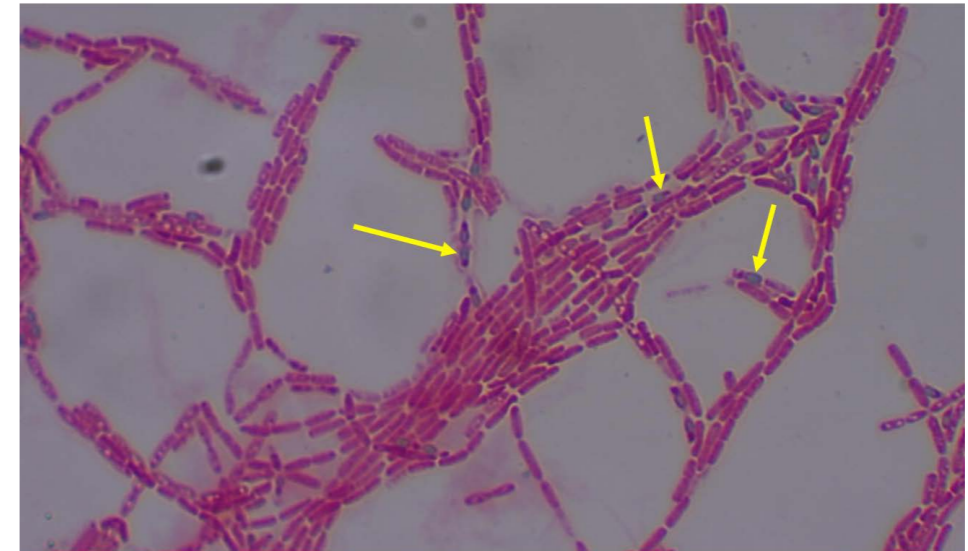


Figure 1. *Bacillus thuringiensis* 18-hour Culture Malachite Green Spore Stain

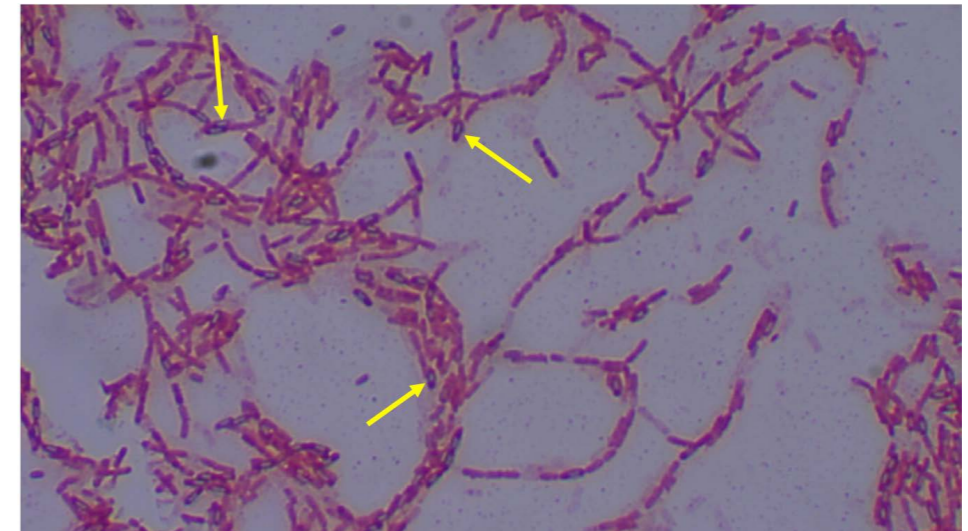


Figure 2. *Bacillus subtilis* 18-hour Culture Malachite Green Spore Stain

References

1. GMP Trends, September 15, 2021.
2. Errington, J. (2003) Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. *Nature Reviews Microbiology* 1, 117–126.
3. Sharma, T.K., Alazhari, M., Heath, A., Pine, K., and Cooper, R.M., (2017) Alkaliphilic *Bacillus* species show potential application in concrete crack repair by virtue of rapid spore production and germination then extracellular calcite formation. *Journal of Applied Microbiology*, 122: 1233-1244.
4. United States Pharmacopoeia USP 43 (2022). General Information Chapter <1072> Disinfectants and Antiseptics. United States Pharmacopoeial Convention/National Formulary, Rockville, MD.
5. McDonnell, G. and Russell A.D. (1999) Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 12 (1): 147-179.



Nettoyage et désinfection conformes à l'Annexe 1

Contec CyChlor

Désinfectant à action rapide pour un usage au quotidien sur un large spectre bactéricide et levuricide.

Contec ProChlor

Sporicide agissant selon plusieurs modes d'action en 1 min.

Contec PeridoxRTU

Sporicide à action rapide avec un temps de contact de 3 minutes.



Contec NeutraKlean

Détergent au pH neutre peu moussant. Idéal pour le nettoyage de toutes salles propres.

Contec 70% Alcohol

IPA et éthanol dénaturé, existe en version stériles et filtrées, à faible teneur en endotoxines.

Présentation de la gamme Contec de détergents et désinfectants pour salles propres.

Pour en savoir plus sur la gamme, demander un échantillon ou échanger avec l'un de nos experts, visitez notre site: emea.contecinc.com/annex-1-compliant-cleaning

SCANNEZ MOI

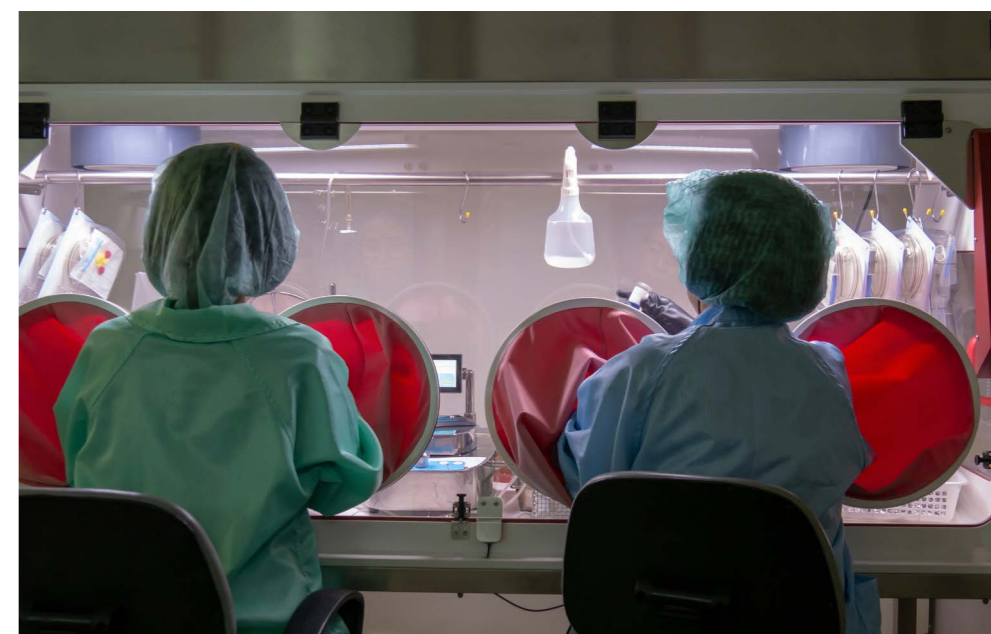


Quand le nettoyage est essentiel

Avoiding product oxidation by H₂O₂ in isolators. It all depends on the right analyses!

By Felix HEISE, Merck KGaA & Thomas KOSIAN, Syntegon Technology

Biopharmaceuticals have become an integral part of many therapeutic areas, and their application possibilities continue to increase. Accordingly, the need for protective measures for these parenteral products is also rising. Isolators are highly popular in aseptic manufacturing. But they also entail risks, for example through the effects of hydrogen peroxide (H₂O₂) which is used for decontamination. Thomas Kosian from Syntegon and Felix Heise from Merck (EMD Serono) explain how these risks can be counteracted with profound and targeted analyses.



Thanks to scientific and technical advances, groundbreaking developments are taking place in biotechnologically produced drugs, for example for the treatment of cancer, autoimmune diseases, or rare diseases affecting only a small patient population. However, these highly efficacious and sometimes very toxic drugs require special safety precautions and hermetically sealed production processes to protect humans and pharmaceuticals from each other. At the same time, especially newly developed drugs which are often produced in smaller batches require a high degree of flexibility and modularity. Integrated air management and optimized bio-decontamination play a fundamental role in the flexible integration of isolators into existing building and clean room concepts, while ensuring safe production processes.

1. H₂O₂ – safety and risk factor at the same time

Gassing with hydrogen peroxide (H₂O₂) has become a standard for the automated bio-decontamination of isolators. H₂O₂ is a rather stable liquid compound of hydrogen and oxygen – a strong oxidizing agent which is particularly suitable for decontamination due to its broad-spectrum effect. After the decontamination cycle, the remaining H₂O₂ is either decomposed by catalysts or flushed from the isolator by intense ventilation with fresh air to achieve an acceptable residual concentration. The rapid growth in the biotech sector has increased the requirements on filling machines and isolators, as many products are quite sensitive to residual H₂O₂. The aim is to attain a level inside the isolator typically below 0.5 ppm (parts per million) before filling can begin. However, the exact limit depends largely on the sensitivity of the products and can be much lower – even down to approx. 0.03 ppm.

Despite an extensive aeration phase, a part of the H₂O₂ remains in the isolator atmosphere and may even condense on surfaces such as isolator internal side or filling equipment. Once it gets into the liquid pharmaceutical, it might lead to oxidation. While a residual concentration of 0.5 ppm can be achieved in a standard isolator with an aeration time of about one hour, it can take several hours to reduce the residual concentration to 0.03 ppm for especially sensitive biopharmaceutical products. This leads to filling line downtimes which should be kept as short as possible, particularly in small batch applications with frequent product changes and/or manufacturing in campaign mode.

2. Biotherapeutics as a practical example

Biological molecules like hormones or antibodies are easily oxidizable. A modification of sensitive amino acid residues like methionine, tryptophan, and cysteine affects their physico-chemical properties and possibly also the secondary and tertiary structure of the protein with a potential impact on the product's efficacy and/or safety. The sensitivity of a drug product depends on many factors, such as the individual properties of the active ingredient, e.g. the type, number, and location of oxidizable amino acid residues and their specific impact on pharmacodynamics and/or pharmacokinetics. Formulation-related parameters like the concentration of the active ingredient and the presence of oxidation-sensitive or antioxidative excipients such as polysorbates and L-methionine, respectively, also have an impact. Moreover, the diameter of the container and particularly the (effective) size of its opening influence the diffusion of H₂O₂ into the product solution.

Besides these product-related factors, filling equipment, technology, and the process itself also play an important role. For example, close attention must be paid to the exposure time of open and partially stoppered products to residual H₂O₂ during filling, machine stops, or buffering of filled units inside the isolator before loading into the freeze dryer. Silicone tubing is known to absorb and slowly release H₂O₂ and might lead to relevant migration of H₂O₂ into the product solution, for instance during line stoppages. During filling, nitrogen flushing and overlay may help to reduce H₂O₂ residuals inside the container.

3. Analyses are crucial

What needs to be considered when decontaminating with H₂O₂? At first glance it seems reasonable to define a universal target according to the most sensitive product. Depending on the specific exposure situation, 0.03 ppm can already affect certain molecules. If there is no experience with this kind of products and risks, pharmaceutical manufacturers may want to remain on the safe side with this cautious approach – and usually end up far below the required concentration level. By implication, however, this leads to a longer than necessary aeration phase, which costs time and limits the system's availability.

The better and by far more efficient solution is to familiarize oneself with the most important parameters. How does the product react to H₂O₂? Which residual concentration is permissible while avoiding an oxidation risk? Unfortunately, only the "airborne" concentration can be determined during the ongoing process by means of online measuring systems, which continuously monitor the decontamination, aeration/venting, and production phases. In addition, sensors for routine

monitoring typically have a limited sensitivity of 0.1 ppm, which is not sufficient for very susceptible products. Here the decontamination and aeration cycle must be validated using special and very sensitive sensors which are typically not present on manufacturing equipment.



4. Many factors determine the residual concentration

On the other hand, the concentration of H₂O₂ in the product solution can only be determined by offline experiments and is difficult to track in ongoing production. Nevertheless, studies can establish a relation between concentration in the air and in the solution. Using a fixed airborne H₂O₂ concentration and a variable exposure duration, it is possible to determine the uptake into the product or a surrogate and to simulate the conditions on the machine. This enables pharmaceutical manufacturers and equipment providers to fine-tune the decontamination process of existing production lines. In the case of new lines, extensive product knowledge helps to adapt the isolator even more precisely to the specific requirements.

When designing or optimizing an isolator, it is important to know all relevant product, process, and equipment parameters. Once the acceptable H₂O₂ concentration has been determined for a specific product and process, it may not be exceeded in the qualified and validated decontamination process. Again, numerous factors play a role – from the type of container and its filling volume, the temperature inside the isolator, changes in air volume and H₂O₂ concentration over time, to the process duration and the exposure time of the stoppers and containers. Materials used for filling machines and isolators also offer optimization potential. For example, certain materials such as silicone tubes or seals are known to absorb H₂O₂. Since they only release it again very slowly, their use should be reduced to a minimum if very sensitive products are to be processed.

5. Detailed studies

The ideal situation, which is not available to every development laboratory, is the simulation of exposure to "airborne" H₂O₂ in a test isolator. Open products can be exposed to defined concentrations of H₂O₂ for different durations. Moreover, process parameters like time between filling and stoppering, line stoppages due to interventions, and buffering of partially stoppered containers when loading the

freeze-dryer can be considered. However, due to handling issues (mainly manual sample preparation), such a study often does not generate enough samples for a subsequent stability study. Hence, splitting the assessment into an uptake and a separate spiking study is the more feasible alternative.

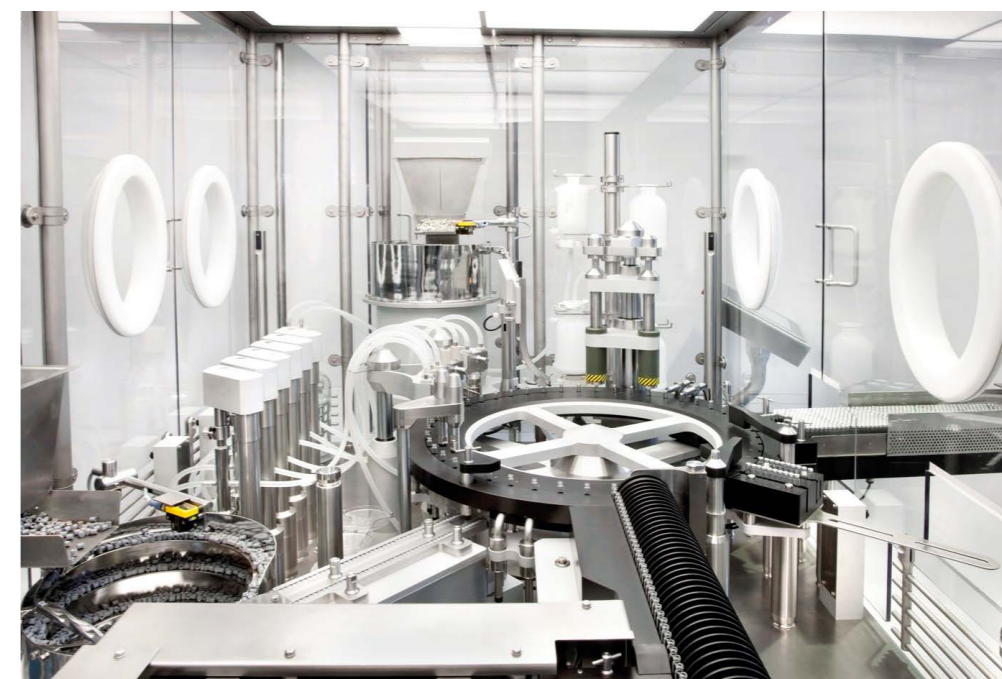
In this case the uptake study serves to determine the quantity of H₂O₂ absorbed by a surrogate liquid (typically water) under the same exposure conditions and in the same configuration (fill volume, container, partial stoppering) as the product in the test isolator. Only the concentration of dissolved H₂O₂ is quantified using a sensitive analytical assay, for example a peroxidase assay with a fluorogenic substrate. The data is then used to spike product solutions for the stability study with diluted H₂O₂ yielding the same final concentrations as measured in the surrogates. Since H₂O₂ can be consumed by the product rather quickly, a water control which is treated the same way as the product samples allows to check if the spiking procedure has been successful.

This split approach also allows pharmaceutical manufacturers to outsource uptake studies to their equipment supplier, provided the latter has the required process and analytical technology and expertise. In this case only the spiking and stability studies are performed in-house – an approach that Merck and Syntegon have successfully used for different projects.

6. Experience makes for the ideal process

Despite the high sensitivity of certain biopharmaceuticals, hydrogen peroxide remains the method of choice for decontaminating isolators. Based on experience and the appropriate studies, it is possible to determine very precisely how a particular filling line must be designed and operated to decontaminate it both safely and efficiently. Especially with new lines, decontamination, product oxidation, and the permissible residual concentration of H₂O₂ should be considered during the design and engineering phase to minimize its effects on cycle times.

The more biopharmaceuticals are brought to market, the more extensive the experience in dealing with these molecules and their challenges in the fill-finish process will become. Hence, working with a reliable partner with many years of experience in process and measurement technology, isolator design, and product testing helps to successfully master these challenges.



It's Easy To See



BET Sustainability

LAL Reagent Comparison Table	Conventional LAL Reagent	ACC's PyroSmart NextGen® (rCR) Reagent	First Generation Competitor (rFC) Reagent
Sustainable Reagent (animal free)	No	✓ Horseshoe Crab Blood Free	✓ Horseshoe Crab Blood Free
Kinetic Assay	Kinetic	✓ Kinetic	✗ No. Endpoint only
Assay Setup	Single step reconstitution	✓ Single step reconstitution	✗ No. rFC requires three reagents in a 1:4:5 ratio and a 10 min. pre-incubation step
Same Standard Plate Reader	Incubating plate or tube reader at 405 nm	✓ Yes. Incubating plate or tube reader at 405 nm	✗ No. Fluorescent reader required
Derived From <i>Limulus</i> Amebocyte Lysate (LAL)	LAL	✓ Yes. rCR is recombinant LAL	✗ No. Based on <i>Carcinoscorpius</i> or <i>Tachyplesus</i> Amebocyte Lysate (CAL/TAL)
Multi-step Cascade Pathway	Yes	✓ Yes	✗ No
Endotoxin Specific	No	✓ Endotoxin Specific	✓ Endotoxin Specific

