

ABONNÉ Expertise

# Eurofins Amatsi Analytics : Nitrosamines, plus que jamais d'actualité !

LA RÉDACTION D'INDUSTRIE PHARMA

Publié le 09/10/2020



© DR

**Bilan de 2 ans de réglementation en constante évolution et retour d'expérience analytique. Par Elodie Barrau, Site Manager - Eurofins Amatsi Analytics - Fontenilles Campus at Eurofins Biopharma Product Testing (France)**

## **Pourquoi les nitrosamines sont-elles soudain devenues un sujet d'actualité ?**

Les nitrosamines sont des composés organiques auxquels nous sommes exposés dans notre vie quotidienne : dans l'eau et les aliments, les viandes salées et grillées. Elles sont devenues un sujet d'actualité mi-2018, lorsqu'un fabricant d'actif en a détecté la présence dans du valsartan. Une fois qu'une contamination similaire a été identifiée dans différents médicaments (ranitidine, nizatidine, metformine ...), il est devenu clair que le problème ne se limitait pas à une courte liste de fabricants. Le risque cancérigène associé à ces composés et la couverture médiatique ont conduit à une large mobilisation de scientifiques et d'experts en réglementation pour l'industrie pharmaceutique.

## **Comment expliquer la présence de nitrosamines dans les médicaments ?**

En septembre 2019, l'EMA a publié un document de questions et réponses qui cite diverses sources potentielles de contamination : agents nitrosants, matières premières et/ou intermédiaires contaminées par des nitrosamines, dégradation de l'actif (ex : la ranitidine), dégradation des solvants (ex : diméthylformamide [DMF], diméthylamine [DMA], triéthylamine [TEA], N-méthylpyrrolidone [NMP]), utilisation de matériaux recyclés (par exemple, solvants, réactifs et catalyseurs), matériaux de départ contaminés (excipients, eau ...), contaminations croisées, dégradation pendant la formulation, préparation ou le stockage du produit fini, matériaux d'emballage.

### Qu'attendent les autorités aujourd'hui ?

La FDA, l'EMA et d'autres agences ont entamé une collaboration intense pour partager leurs données. Au début, les régulateurs ont dû soigneusement équilibrer les pénuries de médicaments possibles avec la nécessité de garantir la santé des patients. La commercialisation de médicaments contaminés avec une alternative clinique, telle que la ranitidine, a été suspendue.

Lorsque cette approche n'était pas réalisable, des limites temporaires strictes sur les niveaux de ces impuretés ont été introduites au cours d'une révision de la Ph. Eur. 2.4.36. et de l'USP <1469>.

Depuis septembre 2019 une analyse de risque est requise par l'EMA pour tous les médicaments à usage humain contenant des API synthétisés chimiquement. En juin 2020, l'agence complète la demande faite aux titulaires d'AMM pour inclure les médicaments biologiques. [1,2].

La FDA s'aligne pleinement sur l'Europe, avec une nouvelle publication en septembre 2020 et confirme les attentes des autorités de couvrir tous les médicaments commercialisés et nouvellement soumis[3].

### Quelles sont les étapes et le calendrier ?

L'EMA établit un processus en trois étapes pour les titulaires d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans un délai de 2 ans :

**Étape 1** : Effectuer une évaluation des risques pour identifier les substances actives et les produits finis à risque de formation de N-nitrosamine ou de contamination (croisée) et rendre compte des résultats d'ici : 31 mars 2021 pour les médicaments chimiques ; 1er juillet 2021 pour les médicaments biologiques. Si un risque est identifié pour une substance active, les titulaires d'autorisation de mise sur le marché doivent informer l'EMA et passer à l'étape 2.

**Étape 2** : Si un risque est identifié, les titulaires d'AMM doivent procéder à des tests de confirmation (à l'aide de méthode de screening et/ou dosages) afin d'attester ou réfuter la présence de nitrosamines.

**Étape 3** : si la présence de nitrosamine est confirmée, les titulaires d'AMM doivent supprimer les causes (changement des process ...) et les délais pour soumettre les variations sont les suivants : 26 septembre 2022 pour les médicaments chimiques ; 1er juillet 2023 pour les médicaments biologiques.

### En quoi consiste l'analyse de risque ou l'évaluation des risques toxicologiques ?

Elodie Saudrais, Experte Toxicologique Eurofins Biopharma Product Testing (BPT), nous décrit le processus : « Cette étape documentaire doit permettre d'évaluer le risque de présence de nitrosamines dans les produits finis. Après une collecte minutieuse de l'ensemble des données disponibles sur les matières premières (actif et excipients), et sur le procédé de fabrication, il faut identifier les risques potentiels. Il peut s'agir de l'utilisation d'un solvant recyclé, ou de la présence d'un groupement chimique particulier par exemple. Enfin, on va utiliser différents outils comme la méthode Failure Mode Effect Analysis (FMEA) pour scorer chaque risque identifié, ce qui requiert une bonne connaissance des nitrosamines. »

### Quels tests sont requis lors de l'étape 2 ?

Il est demandé aux entreprises pharmaceutiques de procéder à un screening expérimental de la teneur en nitrosamines des produits dans le cas où l'évaluation des risques anticipe leur présence éventuelle.

Bien que le screening ait été initialement axé sur la N-nitrosodiméthylamine (NDMA) et la N-nitrosodiéthylamine (NDEA), la liste qui doit être testée est étendue à d'autres nitrosamines communes ou spécifiques selon l'évaluation des risques.

Ainsi l'USP <1469> décrit une liste de 6 nitrosamines, et le dernier texte de l'EMA complète la liste initiale de 12 composés avec une liste finale de 16 nitrosamines potentiellement à rechercher [1].

Ces tests de screening peuvent être effectués, à l'aide d'essai limites soit par LC-MS/MS soit par GC-MS/MS, en utilisant une méthode générique de préparation et d'analyse des échantillons (voir un exemple de chromatogramme fig.1).

*« Ces procédures standardisées peuvent être légèrement adaptées en fonction de la forme galénique (poudre, comprimés, pilules, liquide, crème...), du produit fini ou des propriétés du médicament (polarité, solubilité). L'utilisation de la technique LC ou GC dépendra des nitrosamines qui doivent être criblées, et de la stabilité thermique de l'actif et de l'excipient », souligne Emmanuel Desmartins, Responsable du laboratoire MS (Spectrométrie de Masse) chez Eurofins BPT.*

En cas de résultat positif lors du screening d'une ou plusieurs nitrosamines, une méthode quantitative spécifique doit alors être mise au point et validée.

### **D'un point de vue analytique, quelle technique retenir ? Chromatographie liquide ou gazeuse ?**

Le principal avantage de l'utilisation de la GC-MSMS est une bonne sensibilité, par contre, la formation possible de nitrosamines in situ et des interférences avec la matrice pour les composés très solubles nécessite de vérifier les performances de cette méthode lors de son utilisation.

L'un des principaux avantages de la LC-MSMS est que les échantillons sont analysés à température ambiante. C'est pourquoi la LC doit être préférée lorsque des problèmes liés à la stabilité thermique sont identifiés.

Avant tout, les aspects techniques suivants nécessitent une attention particulière, souligne Elodie Barrau, Responsable du laboratoire Eurofins BPT : *« L'analyse des nitrosamines peut être difficile. Des niveaux très faibles de ces impuretés doivent être quantifiés dans des matrices diverses et complexes, c'est pour cela que nous utilisons des spectromètres de masse triple quadripôle. Une préparation appropriée des échantillons est une étape essentielle pour empêcher la perte ou la génération de nitrosamines en tant qu'artéfacts. »*

### **Conclusion**

Ces deux ans de recul ont permis aux titulaires d'AMM et aux experts analytiques de se structurer autour de cette problématique, et d'affiner les stratégies de contrôle, particulièrement complexes au regard du nombre de produits et de sites concernés, et qui doivent être régulièrement revues en fonction des requis réglementaires et des retours d'expérience. La mise en place d'équipes expérimentées et dédiées est un 'must' afin d'assurer la prise en charge de larges volumes d'échantillons, et la maîtrise de différentes techniques (LC-MSMS, LC-MSHR, GC-MSMS) s'avère indispensable pour appréhender tous les cas de figure.

[1] EMA-CHMP Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004 N

[2] EMA Questions and answers for marketing authorisation holders/applicant

<https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-14>

[3] FDA-CDER, Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs, SEP 2020 [h](#)

[4] Lessons learnt from presence of N-nitrosamine impurities in sartan med

<https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/lessons-learnt-presence-n-ni>

