

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

Université Saad Dahleb de Blida

Faculté de médecine

Département de pharmacie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Intitulé :

# IMMUNOGÉNÉCITÉ DES BIOSIMILAIRES

**Encadreur** : Pr. BOUDJELLA M.L.

**Co-encadreur** : Pr. BENAZIZ Ouarda.

**Devant le jury** :

**Président** : Dr. CHERGUELAINÉ Khaled.

**Membres** : Dr. SALAH Khadidja.

Dr. DERMOUCHE Imene.

**Présenté par** :

-BENDERRAH Djihad.

-BELKHIRI Hassiba.

*Année universitaire : 2021 –2022*



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

Université Saad Dahleb de Blida

Faculté de médecine

Département de pharmacie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Intitulé :

# IMMUNOGÉNÉCITÉ DES BIOSIMILAIRES

**Encadreur** : Pr. BOUDJELLA M.L.

**Co-encadreur** : Pr. BENAZIZ Ouarda.

**Devant le jury** :

**Président** : Dr. CHERGUELAINÉ Khaled.

**Membres** : Dr. SALAH Khadidja.

Dr. DERMOUCHE Imene.

**Présenté par** :

-BENDERRAH Djihad.

-BELKHIRI Hassiba.

*Année universitaire : 2021 –2022*

# Remerciement

En premier lieu nous tenons à remercier Allah, le tout Puissant, le miséricordieux, qui nous a donné la force et le courage de mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus vifs à notre encadreur Pr ML Boudjella, qui a su nous guider et nous aider dans ce travail avec beaucoup de tact et de gentillesse et qui nous a permis de découvrir un domaine très intéressant celui des biosimilaires. Qu'il trouve ici notre estime et notre profond respect.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres de jury : Pr O.BENAZIZ, Pr K.CHERGUELAINÉ, Dr Salah K, Dr Dermouche I pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Un grand hommage à tous nos enseignants et enseignantes qui nous ont encadrés durant tout notre cursus universitaire.

Sans oublier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# *Dédicaces :*

Je commence d'abord par remercier Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés et pour mener à bien ce travail.

A mes parents Mr BELKHIRI KHIRANI et Mme REMITHA SAADIA.

C'est à vous que je dois cette réussite, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, mon amour éternel, et ma considération pour les sacrifices que vous avez faits pour mon éducation et pour mes études. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez apporté depuis mon enfance. J'espère que vos bénédictions m'accompagneront toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, et le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A ma chère sœur WIDAD, qui m'a guidé durant toutes mes années d'études avec ces précieux conseils, et qui m'a toujours soutenu quand j'avais besoin d'encouragement.

A mes précieux frères : BELKHIR, Mohammed, et YUCEF, Les hommes de ma vie, pour la joie, la tendresse et le support que vous m'apportez chaque jour je vous remercie. Je vous souhaite un avenir plein de réussite.

Merci d'être toujours là pour moi

En fin à moi-même pour la personne que je suis devenue, pour la volonté et persévérance dont j'ai fait preuve et pour tout ce que j'ai pu réaliser jusqu'à ce jour. Ces six dernières années étaient longues et dures et aujourd'hui avec ce travail elles arrivent à leur fin mais pas la fin de mon combat.

*Hassiba*

# *Dédicace :*

*Au nom de Dieu Clément et Miséricordieux*

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes chers parents, qui ont consacré leur existence pour bâtir la mienne, pour leur patience et motivation dans mes études.

*A ma tendre Maman : kechida Hadjira*

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie*

*A mon cher papa :Benderrah Dassi*

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

*Djihad*

# SOMMAIRE:

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

## **Chapitre1 : Les biosimilaires**

1.Définition .....	03
1.1 la biotechnologie.....	03
1.2 Les biosimilaire.....	03
1.3 Les biomédicaments.....	04
2. les différences entre un biomédicament, un biosimilaire et un générique ..	05
2.1 Entre un biomédicament et un biosimilaire.....	05
2.2 Entre un biomédicament et un générique.....	06
3.Les différentes classes des médicaments biologiques.....	06
4. Les différentes classes des biosimilaires.....	12
5.Spécificité des biosimilaires.....	15
6.Production des médicaments .....	21
a. Biologiques.....	21

b. biosimilaires.....	34
7.La complexité des biosimilaires.....	36
8. circonstances des biosimilaires.....	43

## **Chapitre2 : Mécanisme d'apparition d'une réponse immunitaire**

1.Généralités.....	46
2.Définition.....	47
3.Les facteurs influencent l'immunogénicité.....	48
a. lié au patient.....	48
b. lié au traitement.....	49
c. lié au produit.....	51
4.Le mécanisme de l'immunogénicité.....	52
5.Les conséquences.....	58
6.Evaluation de l'immunogénicité.....	62
7.Réglementation des médicaments biosimilaires.....	67

## **Chapitre 3 : Exemples des biosimilaires**

A. Les antis corps monoclonaux : Rituximab.....	75
B. Insuline.....	78
Conclusion.....	84

Référence

---

---

## LISTE DES FIGURES

---

Figure 1 : caractéristique des biosimilaire	04
Figure 2 : STRUCTURE DE ANTICORPS MONOCLONALE	07
Figure 3 : STUCTURE D'UNE ENZYME	08
Figure 4 : Classifications des produits issus de la biotechnologie	12
Figure 5 : Production des protéines recombinantes	22
Figure 6 : Technologie de l'ADN recombinant	24
Figure 7. Système de banques cellulaires	26
Figure 8 : Bioréacteurs	27
Figure 9 : Le processus de fabrication des biomédicaments	31
Figure 10 : La méthode la production des anticorps monoclonaux	32
Figure11 : Les types d'anticorps monoclonaux	33
Figure 12 : complexité des médicaments biologique	37
Figure 13 : Les structures spatiales d'une protéine	39
Figure 14 : Mécanisme de la réponse immunitaire humorale	53
Figure 15 : La représentation de l'antigène-CMHII par les CPA	55
Figure 16 : Mécanisme de la réponse immunitaire humorale	56
Figure 17 : Comparaison des données requises par l'EMA pour l'approbation d'un biosimilaire versus un médicament biologique de référence	71
Figure 18 : Fréquence du développement des Ac anti-RTX	76
Figure 19 : Le développement des anticorps anti-insuline glargine chez les patients traités par le biosimilaire LY IGLar et le princeps IGLar	80

## ***LISTE DES TABLEAUX***

---

<b><i>Tableau 1</i></b> : la différence entre un biomédicament et un générique	06
<b><i>Tableau 2</i></b> : La classification des médicaments Biosimilaires selon leurs classes anatomiques, pharmacologiques et thérapeutiques.	12
<b><i>Tableau 3</i></b> : les risques de l'interchangeabilité des biosimilaires	21
<b><i>Tableau 4</i></b> : Choix du système hôte pour la production d'une protéine recombinante	25
<b><i>Tableau 5</i></b> : La différence du poids moléculaires entre une molécules chimique et biologique	37
<b><i>Tableau 6</i></b> : <i>les principaux tests de détection des ADA</i>	65
<b><i>Tableau 7</i></b> : <i>différences du dossier d'enregistrement d'AMM entre les génériques et biosimilaires</i>	70
<b><i>Tableau 8</i></b> : <i>Résumé sur les informations qui concernent les patients incriminés dans cette étude</i>	80
<b><i>Tableau 9</i></b> : <i>Variations moyennes des taux d'HbA1C</i>	82

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

<b>AA</b> : acide aminé	<b>CL</b> : Domaine constant chaîne légère
<b>AC</b> : anticorps d'Histocompatibilité	<b>CMH</b> : Complexe Majeur
<b>ADA</b> : anticorps anti médicament	<b>CR</b> : Recepteur du Complement
<b>ADN</b> : Acide Désoxyribo Nucléique	<b>DCI</b> : Dénomination Commune Internationale
<b>Ag</b> : Antigène Circulants	<b>ECLA</b> : Electro ChemiLuminescence Assay
<b>AMM</b> : Autorisation de Mise sur le Marché	<b>ELISA</b> : Enzyme-Linked Immuno Assay
<b>CMH</b> : Complexe Majeur	<b>EMA</b> : Agence Européenne du Médicament
<b>AMP</b> : Assistance Médicale à la procréation	<b>EPO</b> : Erythropoïétine
<b>ANSM</b> : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé	<b>EU</b> : Union Européenne
<b>APA</b> : Anticorps Anti-Produit	<b>Fab</b> : Fragment de reconnaissance de l'antigène
<b>ARN</b> : Acide Ribonucléique	<b>Fc</b> : Fagment Cristallisable
<b>ATA</b> : Anticorps Anti-Thérapeutique	<b>FcR</b> : Récepteur Fc
<b>ATB</b> : Antibiotique	<b>FDA</b> : Food and Drug Administration
<b>AVC</b> : Accident Vasculaire Cérébral	<b>FSH</b> : Follicle Stimulating Hormone
<b>BCR</b> : Récepteur des lymphocytes B s	<b>GH</b> : Growth Hormone
<b>CADA</b> : Clearing Anti-Drug Antibody	<b>GM-CSF</b> :Granulocyte-Macrophage Colony- stimulating Factor
<b>CAP</b> : Cellule Présentatrice de l'Antigène	<b>HAMA</b> : Anticorps Humains Anti-Souris
<b>CD</b> : Cellule Dendritique	<b>HAT</b> : Hypoxanthine Aminoptérine Thymidine
<b>CDR</b> : Région hypervariable	<b>HER 2</b> : Human Epidemal growth factor ReceptoR2
<b>CH</b> : Domaine constant de la chaîne lourde	<b>HLA</b> : système de l'Human Leucocyte Antigen
	<b>IAsp</b> : Insuline Aspartate

<b>FSH</b> : Follicle Stimulating Hormone	<b>ICH</b> : International Conference On Harmonisation
<b>G-CSF</b> : Granulocyte-Colony Stimulating Factor	<b>IFN<math>\beta</math></b> : Interféron bêta
<b>CHO</b> : Cellule Ovarienne de l'Hamster chinois	<b>IgA</b> : Immunoglobuline A
<b>CI</b> : Complexes immuns	<b>IgD</b> : Immunoglobuline D
<b>CIC</b> : Complexes Immuns Circulants	<b>IgE</b> : Immunoglobuline E
<b>IgM</b> : Immunoglobuline M	<b>IgG</b> : Immunoglobuline G
<b>IL</b> : Interleukine	<b>WCB</b> : Working Cell Ban
<b>rhCG</b> : Gonadotropine Chorionique humaine recombinante	<b>PEG</b> : Poly Ethylène Glycol
<b>rhFSH</b> : Hormone Folliculo-Stimulante humaine recombinante	<b>PGR</b> : Plan de Gestion des Risques
<b>KDa</b> : KiloDalton	<b>PIA</b> : PH-Shift anti-Idiotypic Antigen-Binding
<b>L'OCDE</b> : l'Organisation de Coopération et de Développement économique	<b>PT</b> : Protéine Thérapeutique
<b>LB</b> : Lymphocyte B	<b>RIA</b> : Radio-Immuno Assay
<b>LH</b> : Hormone Lutéinisante	<b>rLH</b> : Hormone Lutéinisante recombinante
<b>LT</b> : Lymphocyte T	<b>SADA</b> : Sustaining Anti-Drug Antibody
<b>mAb</b> : Anticorps monoclonal	<b>STH</b> : Somatropine
<b>MCB</b> : Master Cell Bank	<b>TGF-<math>\beta</math></b> : Facteur de croissance Transformant bêta
<b>NADA</b> : Neutralizing Anti-Drug Antibody	<b>TNF <math>\alpha</math></b> : Facteur de Nécrose Tumorale
<b>Nb</b> : Nanobodies	<b>tPA</b> : Activateur Tissulaire du Plasminogène
<b>NK</b> : Cellule Natural killer	
<b>OMS</b> : Organisation Mondiale de la Santé	

# INTRODUCTION

## ***Introduction :***

Grâce à l'évolution des connaissances en biologie à la fin du XXème siècle, les médicaments biologiques ont pu connaître des avancées majeures. Les biotechnologies n'ont cessé d'apporter des améliorations et un arsenal thérapeutique de plus en plus important s'est offert aux professionnels de santé et aux patients dans des domaines comme l'oncologie ou les maladies inflammatoires.

Cependant, ces médicaments sont très chers et contribuent à l'augmentation des dépenses de santé. La tombée des brevets dans le domaine public permet l'arrivée de médicaments similaires, mais pas identiques, appelés les biosimilaires. Ces médicaments ont un prix moins élevé et offrent l'opportunité aux systèmes de santé d'effectuer d'importantes économies. Les médicaments biologiques se répartissent en plusieurs catégories dont les protéines thérapeutiques, les anticorps monoclonaux, les vaccins, les enzymes.

Les biosimilaires, sont généralement des protéines. Ces dernières ont un potentiel immunogène, elles ont la capacité de provoquer une réponse immunitaire. Cette immunogénicité dépend de plusieurs facteurs tels que la voie d'administration, durée du traitement, traitement concomitant, ...

L'immunogénicité des biosimilaires peut, ou non, avoir des conséquences sur l'efficacité du produit ou la sécurité du patient. Cela dépend de plusieurs paramètres tels que l'effet neutralisant des anticorps produits, et leur quantité produite.

Ce travail est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre sera consacré à la présentation des médicaments biologiques et ses biosimilaires. Après avoir vu les différentes classes, leur production. Puis le second chapitre présentera l'immunogénicité des biosimilaires, leur mécanisme, conséquence, évaluation, nous terminerons par la réglementation. A la fin nous allons donner des exemples : insuline, Rituximab.

**PARTIE I :**  
**GENERALITES SUR LES**  
**BIOSIMILAIRES**

# **1 Définitions :**

## **1\_1 La définition de la biotechnologie :**

Le terme biotechnologie est d'origine grec, il est composé de trois parties « bio », « techno », « Logie ». La biotechnologie est un ensemble des opérations ou des procédés qui ont lieu dans des organismes vivants, qui impose une compréhension et des connaissances en biologie (1).

La biotechnologie est une science qui s'occupe de l'étude de la méthodologie pratique, visant à utiliser les caractéristiques des fractions biologiquement actives des organismes vivants, dans la synthèse de molécules biologiques, afin de découvrir des nouvelles générations de médicaments à usage humain (2).

La biotechnologie c'est l'application des séries d'essais sur des cellules vivants (animales, végétales, humaines, microbiennes), ou leur ADN, enzyme...etc., c'est une technologie ancienne et connue depuis longtemps et sont très important pour fabriquer différentes biosimilaires selon des conditions optimales (3).

L'Organisation de Coopération et de Développement économique (OCDE) regroupe sous le terme « Biotechnologie », toutes les applications de la science et de la technologie à des organismes vivants ou à leurs composantes, dans le but de modifier des matériaux, vivants ou inertes, à des fins de production de connaissances, de biens ou des services (4).

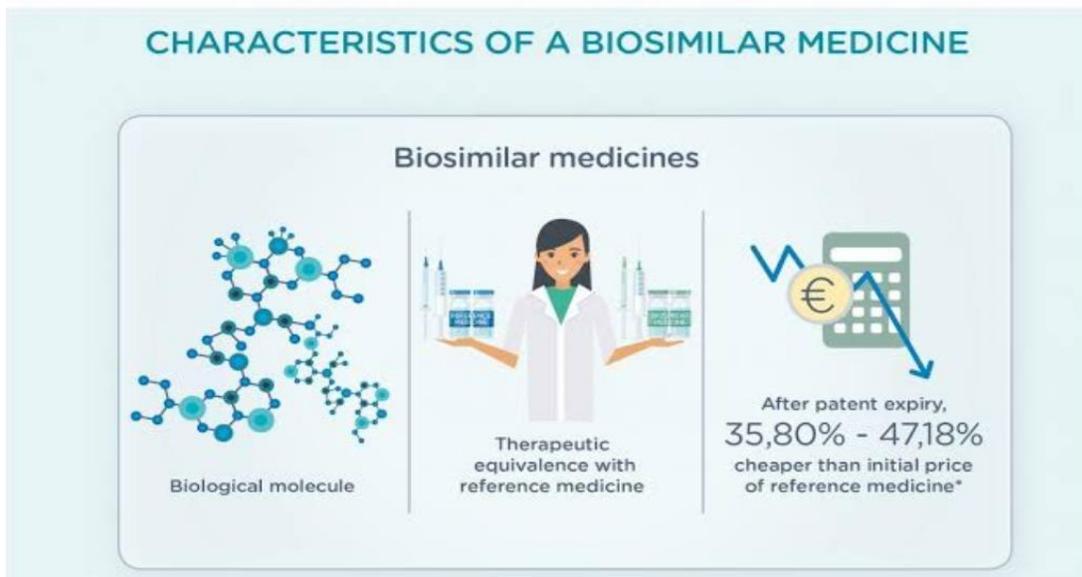
## ***1\_2 Définition d'un biosimilaire :***

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) : un médicament biosimilaire est un médicament biologique identique à un médicament de référence en termes de qualité, efficacité, sécurité (5).

C'est un médicament issu d'un organisme ou d'une cellule vivante, et peut être développé lorsque le brevet du médicament biologique de référence est arrivé à échéance (son expiration).

Les biosimilaires sont des produits ressemblants au médicament biologique innovateur issus de la biotechnologie, et sont plus rapides que les produits pharmaceutiques de points de vue commerciale, et fabrique pour guérir des maladies lourdes (cancer, diabète, maladie infectieuse, les maladies inflammatoires) (6).

Un médicament biosimilaire est un médicament très semblable à un médicament biologique de référence déjà autorisé pour la commercialisation, c'est à dire aucune différence par apport constituants qualitative et quantitative en principe active, la forme galénique, dosage (7).



**FIGURE 1 : caractéristique des biosimilaires**

### ***1\_3 La définition des biomédicaments :***

Pour la Food and Drug Administration (FDA) :

Un médicament biologique est biosimilaire à un médicament de référence si les données montrent qu'il est hautement similaire au médicament de référence avec quelques différences mineures sur les composants inactifs cliniquement, et s'il n'existe aucune différence clinique en termes de sécurité, pureté, et de puissance (8).

L'article L.5121 .1 définit les médicaments biologiques ou biomédicaments « comme tout médicament dont la substance active est produite à partir une source biologique ou on 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 » (9).

## **2 Le biomédicament, biosimilaire et générique :**

### ***2\_1 Entre un biomédicament et un biosimilaire :***

Les biosimilaires sont des copies de biomédicaments mais pas totalement identiques. Ils ont des points de similitude qui sont : conditions qualitatives et quantitatives, substance active, forme pharmaceutique, même indications, Qualité, efficacité, tolérance, sécurité, pureté et puissance, et quelques points de différence : conditions de croissance, le cout et les composants inactifs.

## 2.2 Entre un biomédicament et un générique :

	<b>Biomédicament</b>	<b>Générique</b>
<b>La fabrication</b>	<b>génie génétique</b>	<b>synthèse chimique</b>
<b>Poids</b>	<b>grand sup à 100 Da à 12 KDa</b>	<b>petit (50 Da 500 Da)</b>
<b>Administration</b>	<b>voie parentérale (IV, SC)</b>	<b>Voir entérale ou Parentérale</b>
<b>Dénomination</b>	<b>DCI+ nom de fabricant</b>	<b>DCI de produit principes</b>
<b>Développement</b>	<b>plusieurs années Plus chère</b>	<b>Court moins chère</b>
<b>Evaluation d'AMM</b>	<b>Etude préclinique et Clinique</b>	<b>étude de bioéquivalence</b>
<b>Immunogénicité</b>	<b>Elevée</b>	<b>Faible</b>

**TABLEU 1 : la différence entre un biomédicament et un générique**

### 3 les différentes classes des médicaments biologiques :

Le principe actif est un produit d'origine biologique, synthétisé ou composé partiellement par un organisme vivant.

L'industrie pharmaceutique est entrée dans la bio production, depuis 1970 à savoir la mise au point de nouvelle génération de médicaments basées sur une véritable ingénierie du vivant, parmi ces biomédicaments : les vaccins, les anticorps monoclonaux, protéine thérapeutique, ... (10).

### ***3\_1 Les anticorps monoclonaux :***

Ce sont des protéines synthétisées par un seul clône de lymphocyte B à partir d'une technologie de l'hybridome mise au point en 1975 par Georg Köhler et César Milstein et sont caractérisées par une faible toxicité, une stabilité métabolique et une spécificité stricte qui lui permettent de choisir la thérapie ciblée.

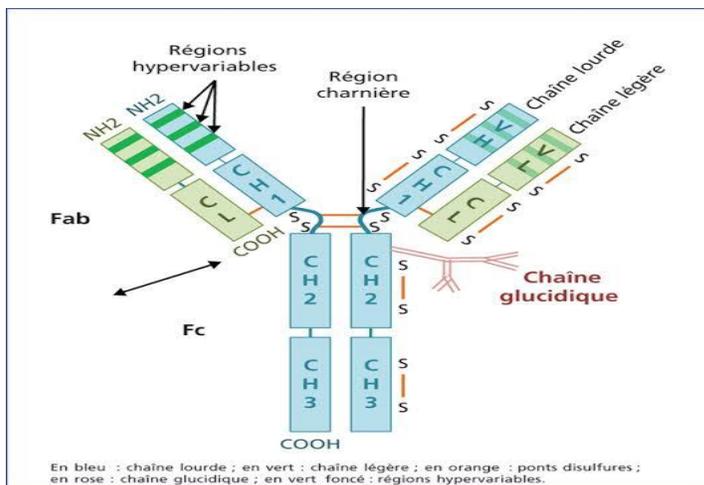
#### **STRUCTURE :**

Les anticorps humains sont subdivisés en 5 classes d'immunoglobulines (Ig), IgA, IgG, IgM, IgD, et IgE.

Chaque anticorps est formé de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux :

- Deux chaînes légères (kappa ou lambda)
- Deux chaînes lourdes (alpha, gamma, mu, delta, epsilon) dont la nature définit la classe d'Ig.

Chacune des chaînes légères est reliée à une des chaînes lourdes par des ponts disulfures et des liaisons non covalentes. De multiples ponts disulfures relient les deux chaînes lourdes entre elles.



**FIGURE 2 : STRUCTURE D'ANTICORPS MONOCLONALE**

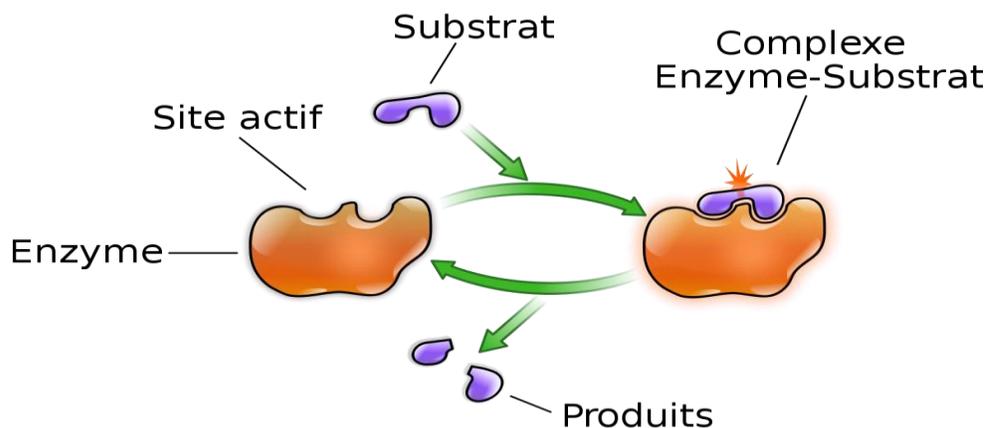
### **3.2 Vaccins :**

Les progrès en biotechnologie et les techniques de recombinaison du ADN permettent d'envisager la création des vaccins totalement nouveaux et l'amélioration de l'efficacité et de la sécurité d'emploi des vaccins actuels : vaccins vivants recombinants, vaccins conjugués, vaccins ADN ou ARN nu, ...

Les vaccins vivants recombinants sont des vaccins mixtes, atténués par génie génétique. Ils permettent de vacciner à la fois contre le vecteur et contre le virus ou la bactérie (11).

### **3\_3 Enzyme :**

Les enzymes sont des protéines douées d'une activité biologique particulière en se liant avec le substrat dans des sites actifs pour fournir un composé appelé le produit de dégradation. Ce sont des biocatalyseurs possédant la capacité de catalyser une réaction biologique entre autres les enzymes thérapeutiques : ATPase qui intervient dans le transport actif transmembranaire et troponine qui entre dans une constitution des fibres musculaires (12).



**FIGURE 3 : STRUCTURE D'UNE ENZYME**

### ***3-4 les protéines thérapeutiques (PT) :***

#### **Cytokines et Hormones**

##### **Hormones :**

###### ***a. Insulines recombinants :***

Ces hormones produites par des cellules dont le matériel génétique a été modifié par recombinaison génétique. Leurs structures primaires sont identiques à celle de l'insuline humaine, avec deux types d'action différentes : insuline à résorption et action rapide (comme Lispro et Aspart), et insuline à action prolongée (comme Glargine et Detemir) (13).

###### ***b. les gonadotrophines :***

Ce sont des hormones produites par différents tissus (hypophyse et placenta). Elles ressemblent aux hormones naturelles humaines dont la fonction principale est la régulation des gonades (ovaire et testicules) et stimulent leur activité et leur sécrétion. Ces hormones sexuelles comprennent la FSH (folliculo stimulating hormone), la LH (luteinizing hormone), et l'hCG (human chorionic gonadotropin). Parmi les rôles essentiels de ces hormones sont le traitement des pathologies ovariennes et testiculaires, maintien la grossesse chez la femme, la production des androgènes et des spermatozoïdes chez l'homme (14).

###### ***c. hormone de croissance:(ou somatotropine)***

C'est une hormone polypeptidique sécrétée par l'hypophyse dont la fonction est la stimulation de la croissance et la reproduction des cellules. Elle est obtenue par des techniques de biotechnologie qui ont remplacées les méthodes de production ancienne telle que l'extraction naturelle (15).

#### ***d. Facteurs de coagulation :***

Ces facteurs interférents avec un processus indispensable dans le corps humain. il existe 13 facteurs, numérotés en chiffres romains, permettent le déroulement de la cascade de coagulation qui est l'hémostase secondaire. Par exemple, le facteur X, au cours de son étape la plus importante, active la prothrombine en thrombine. Le plus souvent les facteurs de coagulation sont utilisés comme traitement préventifs ou curatifs (16).

#### **Cytokines :**

Les cytokines sont des protéines essentielles de 15 à 20kDa, qui assurent les communications entre les cellules du système immunitaire. Parmi les cytokines on peut citer :

***-Les interleukines (IL) :*** Ces protéines ont un rôle majeur, qui agissent sur le système immunitaire. Par exemple IL1 pour amplifier la réponse des lymphocytes T et B, favoriser les fonctions des neutrophiles et déclencher la production d'interleukine 6 (17).

***-Les interférons :*** ce sont des cytokines jouant un rôle dans la réponse antivirale et anti tumorale, comme l'IFN $\beta$  dans le traitement de la sclérose en plaques (SEP) (18).

***-Les chimiokines :*** Ce sont des cytokines chimio-attractives, comme la CXCL1 pour le traitement de l'inflammation cardiaque auto-immune (19).

***-Certains facteurs de croissance :*** Ce sont des cytokines à activité mitotique, comme L'érythropoïétine (EPO) et l'agent de stimulation de l'érythropoïèse (ASE) dans le traitement de certains cancers et anémies (20).

#### ***3-5 Les toxines :***

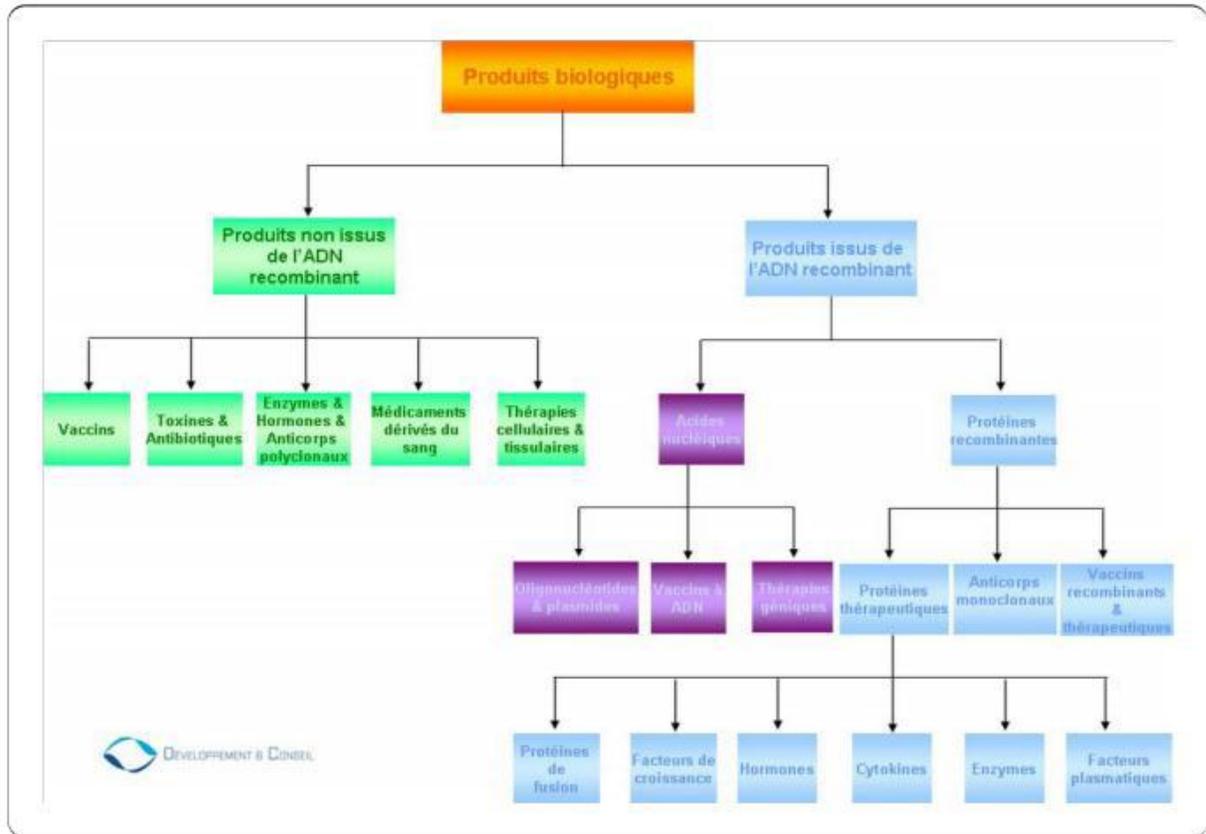
Une toxine est une substance toxique fabriquée par un organisme vivant, et capables de perturber le fonctionnement de certaines cellules, à distance du foyer d'infection. tel une bactérie, un champignon un végétal ou un animal.

Les toxines sont également plus ou moins immunogènes : elles sont capables d'induire une réponse immunitaire.

Dans le cas des bactéries, les toxines peuvent servir à affaiblir l'hôte ou à neutraliser son système immunitaire, peuvent être utilisées pour d'autres applications que soigner des pathologies. La toxine botulique A pourrait présenter l'avantage de restaurer rapidement la vision chez un patient présentant une paralysie oculomotrice et ainsi limiter la durée de la diplopie. Elle possède une Autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement des troubles oculomoteurs après l'âge de 12 ans (21).

### ***3.6 Protéines de fusion :***

Ce sont des récepteurs solubles (protéines chimères), obtenus par génie génétique. Elles sont produites selon la substance ou la cible qu'elles sont capables de « fixer » pour interférer dans son action qui est principalement inflammatoire et pathogène. Les récepteurs solubles peuvent avoir une action thérapeutique sur des pathologies très variées comme les maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, sarcoïdose, psoriasis) ou encore le rejet de la transplantation rénale. La protéine de fusion la plus connue est le récepteur soluble recombinant le TNF- $\alpha$  (TumorNecrosis Factor) (22).



**FIGURE4 : Classifications des produits issus de la biotechnologie**

**4. Les différentes classes des biosimilaires :**

<i>Groupe anatomique</i>	<i>Classe pharmacologique</i>	<i>Classe thérapeutique</i>	<i>La DCI</i>	<i>Cibles/Rôle</i>	<i>Indications</i>	<i>Effets indésirables</i>
<i>Voie digestif et métabolique</i>	Insulines	Métabolisme, nutrition, diabète	Insuline Aspart	La régulation du métabolisme glucidique	Diabète	Hypoglycémie
			Insuline Detemir			
<i>Sang et Organes Hématopoïétique</i>	Anticoagulant	Hématologie et Hémostase	Héparine	Activités anti thrombotiques et anticoagulantes	Thrombose veineuse profonde, Embolie pulmonaire, Syndrome coronarien aigu	Hémorragie, Thrombopénie
	Antianémique		Epoétine			

				la production d'érythrocytes		de la moelle osseuse
<b>Hormones systémique et Hormones exclues</b>	Hormones hypothalamique hypophysaire	Endocrinologie et hormones	Somatotropine	Stimulation de la croissance et la reproduction des cellules chez les humains et les autres vertébrés	Retard de croissance Syndrome de Parader Willie, Déficit somatotrope sévère	Gonflement, Hyperglycémie Faiblesse
	Ostéoporose	Rhumatologie	Teriparatide	Mobilise le calcium osseuse	Ostéoporose	Nausée,0 Céphalées
<b>Système génito-urinaire et hormones sexuelles</b>	Hormones hypothalamique hypophysaire	Endocrinologie et hormones	Follitropine alpha	Modulation de la fonction génitale, et les gonadotrophines	Anovulation ; stimulation de la croissance folliculaire multiple en cas d'AMP Déficit sévère en FSH et LH	Réactions D'injection : Douleur, Rougeur, Irritation,
<b>Antinéoplasique s et immuno-modulateurs</b>	Les immunostimulants antianémique	Hématologie et Hémostase	Filgrastim	régule la production et la libération des polynucléaires neutrophiles à partir de la moelle osseuse	Neutropénie	Réaction allergique, Atteinte rénale,...
			Pegfilgrastim			Douleurs osseuses et musculaires
	les antinéoplasique	Cancérologie	Bevaxumab	contre le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire	Cancer : Colorectal, seins, bronchites non à petites cellules, rein,ovaires,trompes de Fallope,péritonéal, col de l'utérus	éruption, diarrhées,

		Rituximab	contre le CD20 des lymphocytes B	Lymphome non hodgkinien, LLC, polyarthrite rhumatoïde, granulomatose	
Les immunostimulants antianémique	Hématologie et Hémostase	Filgrastim	régule la production et la libération des	Neutropénie	
		Pegfilgrastim	polynucléaires neutrophiles à partir de la moelle osseuse.		
les immunosuppresseurs	Rhumatologie	Adalimumab	Contre le facteur de nécrose tumorale $\alpha$	polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite axiale, Rhumatisme psoriasique, psoriasis, maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, Arthrite juvénile idiopathique	Insuffisance cardiaque Congestive
		Etanercept		polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite axiale, Rhumatisme psoriasique, psoriasis ; Arthrite juvénile idiopathique	
		Infliximab	contre le facteur de nécrose tumorale $\alpha$	polyarthrite rhumatoïde, Rhumatisme psoriasique, psoriasis, maladie de Crohn, rectocolite	

		Cancérologie			hémorragique, spondylarthrite ankylosante	
			Trastuzumab	contre le domaine extracellulaire du récepteur HER 2	cancer du sein précoce HER2 positif, cancer du sein métastatique, l'adénocarcinome métastatique de l'estomac	

***Tableau 2 : La classification des médicaments Biosimilaires selon leurs classes anatomiques, pharmacologiques et thérapeutiques***

### **5.Spécificités des biosimilaires :**

#### **5.1 Extrapolation d'indication :**

Les produits biologiques s'utilisent souvent dans plusieurs indications thérapeutiques. Une fois la biosimilarité démontrée dans une indication par rapport au médicament de référence, les données de sécurité et d'efficacité sont ensuite extrapolées aux autres indications déjà approuvées pour le médicament de référence.

Ces extrapolations doivent être étayées par des éléments de preuves scientifiques solides, tirés des études de comparabilité (qualité, précliniques et clinique) et être justifiées à travers une analyse approfondie de la documentation scientifique disponible.

Les biomédicaments sont généralement utilisés dans plusieurs indications, alors que la similarité est prouvée pour une indication précise. L'extrapolation des données de

similarité pour montrer la similarité dans une autre indication est possible mais doit se baser sur une justification scientifique (mécanisme d'action connu et identique, données cliniques du produit de référence, littérature disponible) et au moins un essai clinique dans la population la plus pertinente. La possibilité d'extrapoler la similarité est décidée au cas par cas par l'EMA. D'autres problématiques telles que la nomenclature et la pharmacovigilance sont également abordées dans les recommandations générales.

Ce concept d'extrapolation n'est pas propre aux médicaments biosimilaires. Il découle directement de la variabilité des processus biologiques. Il est par exemple utilisé lorsque des changements sont introduits dans le procédé de fabrication d'un médicament biologique ayant plusieurs indications (pour introduire une nouvelle formulation par exemple) (23).

## **5.2 Aspects économiques et conséquences :**

### ***5.2.1 Intérêt économique des biosimilaires :***

Les médicaments biologiques représentent un coût important et contribuent à l'augmentation des dépenses des médicaments, notamment en UE et aux EU. Ils constituent le principal facteur d'augmentation des dépenses en matière de médicaments aux EU avec 40% des dépenses pharmaceutiques qui leur sont consacrées alors qu'ils sont utilisés par moins de 2% de la population. Le développement des médicaments biologiques constitue de grands défis pour les payeurs alors qu'ils cherchent à préserver l'accès aux médicaments innovants face aux contraintes budgétaires. L'utilisation des biosimilaires suite à la perte du brevet de la molécule d'origine est une solution pour diminuer les dépenses de santé (24).

### ***5.2.2 Réduction des coûts :***

Cet intérêt économique se confirme par la diminution du prix du biosimilaire par rapport à la molécule d'origine. Sur le marché européen, les biosimilaires ont permis une réduction moyenne du prix de 20 à 30% par rapport au médicament de référence (25).

Sur le marché américain, les biosimilaires permettent aussi des réductions importantes des dépenses de santé. On remarque cependant que la baisse du prix des biosimilaires est moins importante que celle des génériques qui permettent eux une économie de 70 à 80%. Cela est dû notamment à la conduite d'études cliniques approfondies pour les biosimilaires qui coûtent plus chers en temps et en argent. En effet, le coût moyen du développement clinique se situe entre 40 et 300 millions de dollars avec une durée moyenne de 5 ans pour un biosimilaire tandis qu'il coûte entre 2 et 5 millions pour un générique pour une durée moyenne de 2 à 3 ans (25).

### ***5.2.3 Conséquences :***

#### ***a. Autonomie de prescription :***

Pour assurer les meilleurs résultats chez les patients, il est essentiel que les prescripteurs disposent du plus large choix de médicaments possible. Disposant d'un arsenal thérapeutique de médicaments biologiques plus important, les prescripteurs peuvent opter pour les traitements les plus adaptés à la situation des patients et obtenir de meilleurs résultats dans la prise en charge médicale (26).

#### ***b. Accessibilité des patients :***

L'arrivée des biosimilaires a permis une augmentation significative de la consommation des molécules biologiques grâce à une concurrence accrue, et ainsi une meilleure accessibilité à ces molécules pour les patients. Cela peut laisser supposer qu'une partie des patients prenant les médicaments de référence est passée sous le biosimilaire. Ceci est donc favorable d'un point de vue économique pour les payeurs. Ainsi, l'augmentation de l'utilisation des molécules biologiques suite au lancement des biosimilaire démontre l'impact positif qu'ils ont sur l'accessibilité des patients.

#### ***c. Sécurité d'approvisionnement :***

Les médicaments biosimilaires permettent une meilleure sécurité d'approvisionnement des médicaments biologiques. Ils permettent de pallier les tensions

d'approvisionnement et constitue une alternative en cas de rupture de stock du médicament de référence ou d'un autre biosimilaire. C'est un point positif important car les pathologies traitées sont souvent graves et invalidantes. Il est donc primordial que le patient puisse avoir la garantie d'avoir toujours accès à son traitement.

### **5.3 L'interchangeabilité :**

#### ***1-Définition :***

L'interchangeabilité n'est pas la même chose que la bioéquivalence ou la similitude du biosimilaire avec un produit de référence. L'interchangeabilité renvoie à la substitution d'un produit à un autre au moment de la délivrance, et cette décision revient à chaque province et territoire en fonction de son propre règlement.

D'après l'article L.5125-23 du Code de la Santé Publique, le pharmacien peut délivrer par substitution à la spécialité prescrite une spécialité du même groupe générique à condition que le prescripteur n'ait pas exclu cette possibilité.

#### **➤ Selon la FDA :**

“L'interchangeabilité signifie qu'un produit biologique ayant été qualifié d'interchangeable peut être substitué au produit de référence sans l'intervention du prescripteur qui a prescrit le produit de référence. Cette pratique se fait au niveau des pharmaciens.”

La FDA approuve un statut biosimilaire et peut aussi, à la demande du titulaire de l'AMM et si toutes les exigences sont remplies, octroyer le statut d'interchangeable au biosimilaire via une procédure spécifique. Les exigences sont les suivantes :

- Le produit « interchangeable » doit être un biosimilaire d'un médicament de référence.
- Il doit produire les mêmes résultats cliniques que le produit de référence chez tout patient.

Pour les produits administrés plus d'une fois à un individu, les risques concernant la sécurité et la diminution d'efficacité, d'alterner ou de changer entre le produit « interchangeable » et le produit de référence ne doivent pas être plus hauts que les risques liés à l'utilisation du produit de référence sans alternance ni changement (27).

➤ **Selon l'EMA :**

Interchangeabilité : « désigne la possibilité de remplacer un médicament par un autre médicament censé avoir le même effet clinique. Il peut s'agir de remplacer un produit de référence par un médicament biosimilaire (ou inversement) ou de remplacer un médicament biosimilaire par un autre médicament biosimilaire. »

Ce remplacement peut s'effectuer via 2 modalités :

- Permutation : « qui désigne le fait, pour le prescripteur, de remplacer un médicament par un autre médicament avec le même objectif thérapeutique ».
- Substitution (automatique) : « qui désigne la pratique consistante, pour le pharmacien, à délivrer un médicament à la place d'un autre médicament équivalent et interchangeable sans en référer au prescripteur ».

Le changement renvoie à la décision de changer un médicament particulier chez le patient. Les patients déjà traités par un médicament biologique de référence peuvent envisager de passer à un biosimilaire en fonction de leur situation et de leurs préférences. La décision de changer un médicament revient généralement aux patients et à leur médecin en fonction des données cliniques disponibles.

**Santé Canada :**

Définition interchangeable : Capacité d'un patient de changer un médicament pour un médicament équivalent par l'intermédiaire d'un pharmacien, sans l'intervention du médecin qui a rédigé l'ordonnance chez patients déjà traités. À noter : La définition d'interchangeabilité de Santé Canada correspond à la définition de substitution de l'Ordre des pharmaciens (28).

## ***2-Concept :***

À tout moment de votre suivi, votre médecin peut vous proposer de remplacer votre médicament biologique de référence par un autre figurant sur la liste des biosimilaires publiée par l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé (ANSM).

Cette pratique est définie sous le terme d'interchangeabilité : Celle-ci est possible car les biosimilaires présentent la même efficacité, la même qualité et la même sécurité que le médicament biologique de référence. Cette équivalence est démontrée par des études cliniques spécifiques dont la mise en place est nécessaire pour obtenir l'autorisation d'utilisation du biosimilaire par les autorités de santé.

## ***3-Conditions :***

L'interchangeabilité doit être raisonnée et tenir compte de l'intérêt du patient. Les trois conditions suivantes doivent être respectées :

- Informer le patient et recueillir son accord.
- Assurer une surveillance clinique appropriée lors du traitement.
- Assurer une traçabilité sur les produits concernés (le produit prescrit doit être inscrit dans le dossier du patient).

**4-Interchangeabilité et Risques :**

Liés aux médicaments	Liés à la méthodologie des essais cliniques	Liés aux patients et à certains types de substances actives
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Similarité et non identité</li> <li>✓ Variabilité des produits biologiques</li> <li>✓ Souches de production différentes</li> <li>✓ Limites des études de qualité comparatives</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Etudes cliniques comparatives</li> <li>✓ Equivalence d'efficacité clinique</li> <li>✓ Tolérance comparative</li> <li>✓ Etudes limitées dans le temps</li> <li>✓ Obligation d'une Pharmacovigilance renforcée</li> <li>✓</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Immunogénicité</li> </ul>

**Tableau 03 : les risques de l'interchangeabilité des biosimilaires**

**6-La production des médicaments biosimilaires :**

**6.1 La production des médicaments biologiques :**

Les biomédicaments regroupent diverses classes de médicaments dont le point commun est de faire appel à une source biologique comme matière première.

Une substance active dite « biologique » est par nature complexe, Sa production ne peut donc relever que de processus eux-mêmes complexes, La moindre variation dans ces derniers peut modifier l'activité de la molécule produite, d'où vient l'expression :

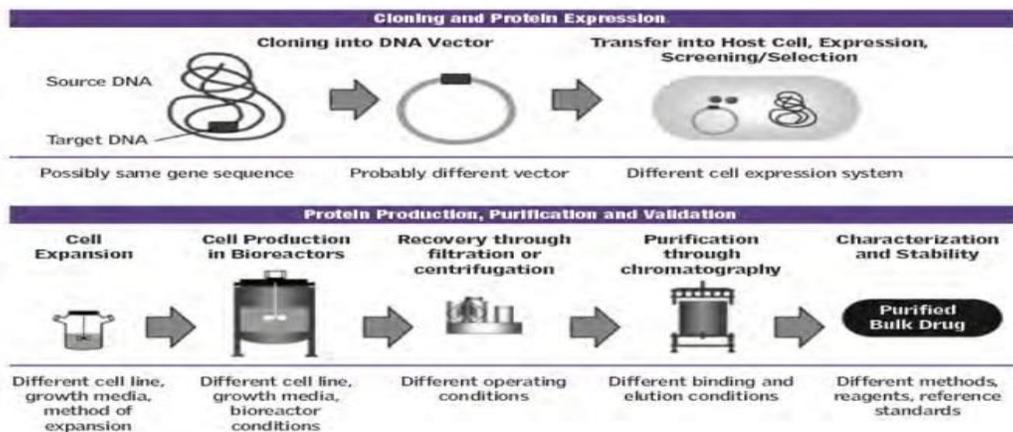
« **the process is the Product** »

Dans cette partie nous allons décrire le mode de production des médicaments biologiques et plus particulièrement ceux qui possèdent un biosimilaire sur le marché, qui sont les protéines recombinantes et les anticorps monoclonaux (29).

Les techniques utilisées pour la fabrication des médicaments biologiques sont essentiellement :

- ✓ La technologie de l'ADN recombinant : qui utilisée pour la production des protéines recombinantes telles que : l'EPO, l'insuline, l'hormone de croissance...etc.
- ✓ La méthode à base d'hybridomes : pour la production d'anticorps monoclonaux.

### 6.1.1 La production des protéines recombinantes :



**Figure 5 : Production des protéines recombinantes**

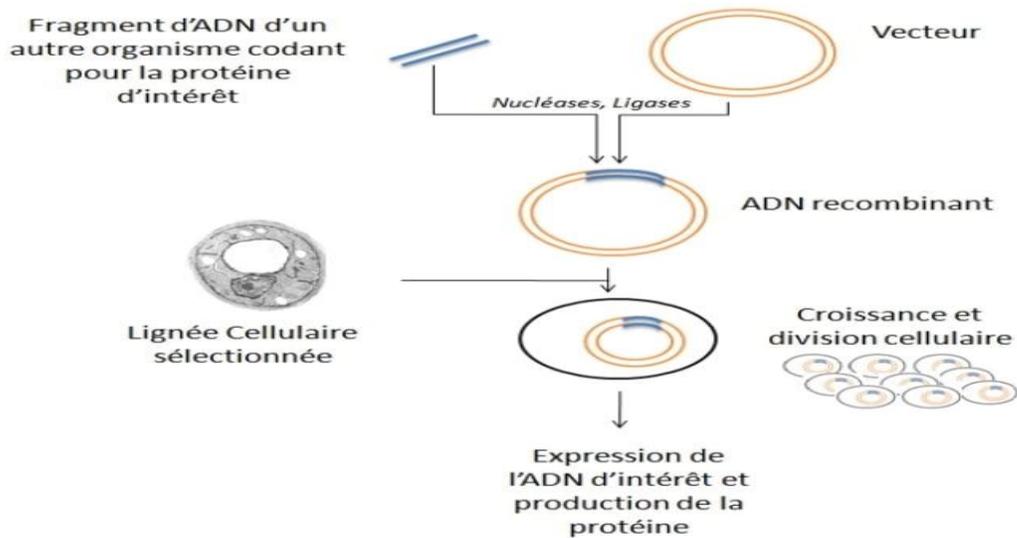
La production d'une protéine recombinante fait appel à la technique dite de l'ADN recombinant. Cette étape consiste à isoler et transférer un gène humain doté d'un potentiel thérapeutique dans un organisme hôte, le plus souvent une bactérie, une levure ou une cellule d'origine animale, qui assurera la synthèse de la protéine par transcription et traduction de l'ADN.

La technique de l'ADN recombinant est la principale méthode utilisée, et elle permet la production de la majorité des biomédicaments. Son principe est de produire une lignée de cellules hôtes capables de synthétiser et de libérer la molécule active. L'ADN recombinant provient d'une combinaison entre l'ADN d'un organisme donneur (dans le cas des protéines thérapeutiques, Le donneur est l'homme) qui représente le gène d'intérêt, et celui d'un vecteur (qui est généralement une espèce totalement différente).

Le fragment d'intérêt (gène codant) doit être identifié, isolé, puis coupé par des enzymes de restriction, ensuite il est inséré dans le vecteur pour former une nouvelle combinaison. Cette nouvelle combinaison d'ADN sera exprimée dans un micro-organisme, des cellules animales, végétales ou dans un organisme supérieur, par la formation d'une protéine dite : recombinante (30).

#### ***6.1.1.1 Choix du gène codant pour la protéine d'intérêt :***

L'ADN recombinant est un ADN doté de séquences nucléotidiques issues de sources différentes : le fragment d'ADN d'intérêt : généralement le gène humain, l'ADN appelé le « vecteur » qui est une molécule d'ADN capable de se répliquer dans la cellule hôte, généralement des plasmides ou des bactériophages. Le fragment d'intérêt (gène codant) doit être identifié, isolé, puis coupé par des enzymes de restriction (nucléases qui coupent l'ADN à chaque fois qu'il présente une séquence nucléotidique donnée). Ces fragments sont ensuite insérés dans le vecteur pour former une nouvelle combinaison. Cette nouvelle combinaison d'ADN est ensuite exprimée dans un micro-organisme, dans des cellules animales, végétales ou dans un organisme supérieur.



**Figure 6 : Technologie de l'ADN recombinant**

#### **6.1.1.2 Choix de la cellule hôte :**

Il existe deux familles de cellules hôtes : les procaryotes tels que les bactéries (E.coli, *Bacillus subtilis*...Etc ), et les eucaryotes qui comprennent les levures, les cellules de mammifères, les cellules d'insectes et les plantes transgénique...Etc. Le tableau ci-dessous présente les avantages et les inconvénients des principaux hôtes utilisés pour la production d'une protéine recombinante (30).

Le choix de la cellule hôte et du système d'expression dépendent essentiellement de deux critères : La complexité de la structure protéique de la molécule d'intérêt, et la nécessité (ou non) d'une phase de modification post-traductionnelles (glycosylation, carboxylation, clivage protéolytique). Des critères économiques, sachant qu'une culture à grande échelle d'*Escherichia coli* est moins onéreuse que s'il s'agit de cellules animales, qui croissent lentement et qui nécessitent des milieux complexes et coûteux. Le système d'expression, c'est à dire la cellule hôte choisie, a une influence directe sur les caractéristiques du produit, tel que : les impuretés, la répartition des isoformes et autres variantes structureaux .

<b>Organismes procaryotes</b>			
<b>Hôte producteur</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>	<b>Exemples</b>
<b>Bactéries</b> ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus</i> , ...)	Génétique maîtrisée Possibilité de sécrétion Faible coût de production Haut rendement Simplicité des conditions de culture	Pas de modifications post-traductionnelles Production de protéines simples Production sous forme de corps d'inclusion Présence d'endotoxines	Insuline Somatostatine Hormone de croissance
<b>Organismes eucaryotes</b>			
<b>Hôte producteur</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>	<b>Exemples</b>
<b>Levures/ Champignons</b> ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Pichia pastoris</i> , <i>Aspergillus niger</i> ...)	Génétique maîtrisée Faible coût de production Haut rendement Simplicité des conditions de culture Pas d'endotoxines Présence de modifications post-traductionnelles simples	Glycoprotéines simples Glycosylation incorrecte Mauvaise sécrétion	Antigène de surface de l'hépatite B Insuline GM-CSF Hirudine
<b>Cellules de mammifère</b> (cellules d'ovaires d'hamster chinois, cellules de myélome murin, cellules humaines, ...)	Maturation proche de la protéine native Synthèse de protéines complexes	Culture cellulaire difficile Haut coût de production Cellules modifiées instables Faible rendement	Nombreux anticorps monoclonaux EPO tPA
<b>Cellules d'insecte</b> ( <i>Spodoptera frugiperda</i> , ...)	Rendement élevé Présence de modifications post-traductionnelles Culture cellulaire plus facile Virus non contaminant	Manque d'information sur certains mécanismes (glycosylation) Non utilisé à l'échelle industrielle	Vaccins
<b>Animaux transgéniques</b>	Facilité de recueil des protéines (lait, urine,...) Synthèse de protéines complexes	Génération des individus producteurs longue Haut coût de production Non utilisé à l'échelle industrielle	Anticoagulants Hormone de croissance
<b>Plantes transgéniques</b>	Synthèse de protéines complexes Virus non contaminant Culture simple Faible coût de production	Contaminants de type pesticide, herbicide, ... Non utilisé à l'échelle industrielle	Avidine $\beta$ -glucuronidase Anticorps monoclonaux

**Tableau 04 : Choix du système hôte pour la production d'une protéine recombinante**

### 6.1.2 La banque de cellules :

Afin d'assurer l'homogénéité et la reproductibilité de la production de la protéine d'intérêt, un système de banque cellulaire ou encore appelé le système de lot de semence est alors établi. Ce système à deux niveaux :

- 1) La banque cellulaire primaire ou « Master Cell Bank » (MCB).
- 2) La banque cellulaire de travail ou « WorkingCell Bank » (WCB).

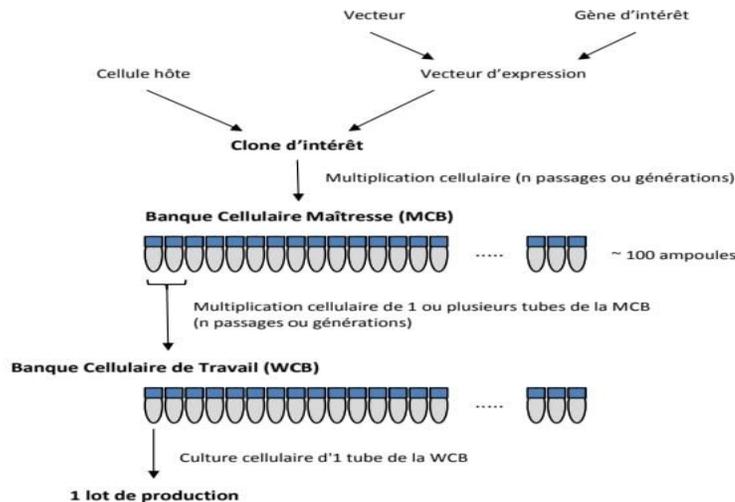
La banque de cellule primaire (MCB) est constituée à partir du clone cellulaire d'intérêt qui renferme le vecteur d'expression, qui est mis en culture, et la population obtenue est répartie dans des tubes qui sont cryo-conservés .

Pour assurer la pérennité de cette MCB, on prépare une banque cellulaire de travail (WCB) en amplifiant un tube de la MCB avec répartition des cellules ainsi

produites en cryo-tubes, puis à partir d'un tube de la WCB que chaque lot de production sera initié. Une fois que la WCB commence à être épuisée, on recommence les étapes à partir de la banque cellulaire primaire.

On peut déduire que la MCB est une donnée impérative à conserver par le fabricant, il doit garder plusieurs MCB stockées dans différents endroits sécurisés et en quantité suffisante, car il doit assurer que la production sera toujours initiée à partir de la même cellule génétiquement modifiée (31).

**Figure 7 : Système de banques cellulaires**



**6.1.2.1 La culture, L'expansion cellulaire et production en bioréacteur :**

La production d'un lot à l'échelle industrielle commence réellement à cette étape. Un tube de la banque cellulaire de travail est décongelé et mis en culture dans un milieu de culture approprié contenant des nutriments essentiels (sels inorganiques, acides aminés, oligoéléments, vitamines, sources de carbone, oxygène, agents tampons, lipides, etc.). La première étape de la culture cellulaire correspond à une étape appelée expansion cellulaire ou scale up (mise à l'échelle). Il s'agit d'amplifier la culture cellulaire par des

passages successifs dans des contenants ou des bioréacteurs de taille croissante (quelques millilitres à une cinquantaine de litres). Une fois la concentration cellulaire optimale obtenue, la culture est inoculée dans un bioréacteur dit industriel généralement en inox pour assurer la production à l'échelle industrielle (32).

Ce bioréacteur, doté d'une capacité de volume pouvant atteindre les 20 000 litres, permet d'augmenter la croissance cellulaire et donc la production de la protéine recombinante.

Un bioréacteur, appelé également fermenteur ou cytotuteur, est une enceinte qui permet la production de micro-organismes via un pilotage des paramètres physico-chimiques tels que la température, le pH, la pression ou l'agitation.



**Figure 8 : Bioréacteurs**

Il existe trois modes de culture dans les bioréacteurs, le batch (ou culture discontinue), le fed-batch (ou culture semi-continue alimentée) et la perfusion (ou culture continue). Les deux modes les plus couramment utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour la production des protéines recombinantes sont les modes fed-batch et perfusion. (33).

Le bioréacteur fonctionnant en batch ("lot" en français) n'est pas alimenté en continu en substrat lors de la production, les nutriments sont seulement introduits au début de la culture. Le fed-batch consiste à alimenter le bioréacteur de façon semi-continue, des solutions concentrées de nutriments sont ajoutées à certains intervalles de la production sans qu'il y est soutirage du milieu, le volume du bioréacteur augmente donc. Enfin, dans le cas de la perfusion, le bioréacteur est alimenté en continu en substrat frais et le milieu est soutiré avec le même débit pour garder le volume du bioréacteur constant.

Dans l'industrie pharmaceutique, le mode fed-batch est préféré au mode continu en raison de ses nombreux avantages comme sa simplicité d'utilisation et son rendement élevé. Un des seuls inconvénients relevés par rapport à la perfusion est la taille très importante du bioréacteur industriel. Bien que la perfusion offre d'autres avantages intéressants, elle présente un risque d'engendrer des modifications post-traductionnelles et glycosylations variables du fait du changement continu du milieu et de la durée importante de la culture (34).

Il existe également des bioréacteurs jetables qui ont l'avantage d'être nettement moins onéreux et permettent d'éviter des contraintes comme la stérilisation et la validation du nettoyage. Ces bioréacteurs à poche jetable de petits et moyens volumes sont principalement utilisés pour l'étape d'expansion cellulaire (35).

#### **6.1.2.2 La Récolte :**

Les techniques de récolte dépendent du type de système d'expression de la protéine :

- ✓ Dans le cas d'un système d'expression intracellulaire, la protéine se trouve à l'intérieur de la cellule. Il faut alors séparer les cellules du milieu de culture afin de les récupérer, puis les lyser par choc osmotique par exemple, pour libérer la protéine.

- ✓ Dans le cas d'un système d'expression extracellulaire, la protéine est sécrétée à l'extérieur de la cellule dans le milieu de culture. Les cellules sont donc éliminées et le milieu de culture qui contient la protéine est recueilli.

La récolte s'effectue généralement par filtration et/ou centrifugation pour séparer la protéine d'intérêt des différents constituants indésirables tels que le milieu et les débris cellulaires. De plus, les fabricants cherchent fréquemment à concentrer le mélange contenant la protéine afin de réduire le volume à purifier (36).

### **6.1.2.3 La purification :**

Quel que soit le système d'expression utilisé, intracellulaire ou extracellulaire, la protéine se retrouve mélangée à de nombreuses impuretés, il est donc nécessaire d'avoir recours à différentes étapes de purification pour éliminer ces impuretés et obtenir une protéine d'une pureté optimale pour la commercialisation.

Différentes techniques sont utilisées pour extraire et purifier les protéines, chacune présentant un niveau de spécificité, de rendement, et de maintien de l'intégrité moléculaire de la protéine en cours de purification.

Une des premières étapes de purification consiste à réaliser une chromatographie d'affinité, appelée également chromatographie de capture dans le cas des anticorps monoclonaux. Il s'agit d'isoler spécifiquement la protéine d'intérêt par rétention de celle-ci sur un support (colonne chromatographique dont la phase stationnaire est à base de protéine A). Cette chromatographie est très efficace pour éliminer la plupart des impuretés notamment les protéines de la cellule hôte et permet d'obtenir une pureté supérieure à 98%.

En parallèle, le produit est soumis à une inactivation virale à pH acide pour détruire les virus, potentiellement dangereux pour le patient, qui pourraient avoir contaminé la protéine.

Le procédé de purification se poursuit avec d'autres étapes de chromatographie ou

étapes dites de polissage qui consistent à éliminer les impuretés restantes comme les impuretés liées au procédé (protéines de la cellule hôte, ADN résiduel, protéine A, etc.) et les impuretés liées au produit (agrégats, produits de dégradation). Les deux principales chromatographies utilisées pour le polissage sont la chromatographie par échanges d'ions et la chromatographie par interactions hydrophobes.

Enfin, le produit est soumis à une dernière étape qui est l'élimination virale par passage à travers nano-filtre.

Il est également possible d'avoir recours à des traitements par des solvants, des détergents ou la chaleur pour détruire les virus mais ces traitements peuvent dénaturer ou dégrader le produit et être à l'origine d'impuretés potentiellement immunogènes pour le patient (37) (38).

#### ***6.1.2.4 La mise en forme pharmaceutique :***

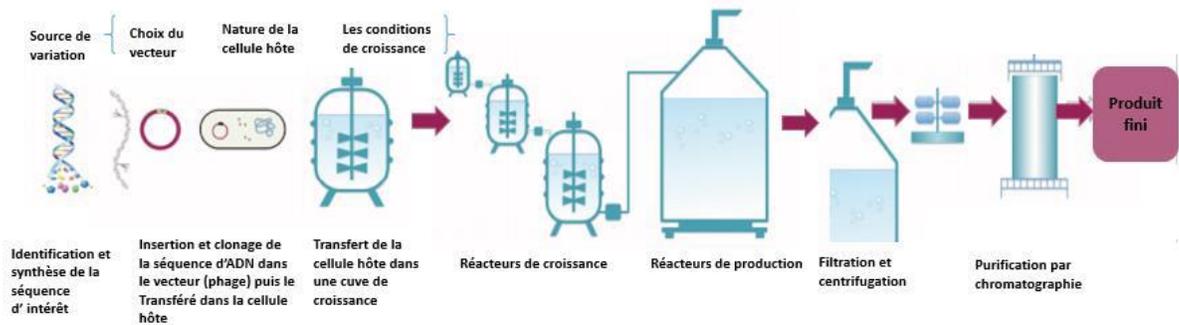
La mise en forme pharmaceutique Encore appelée formulation galénique, celle-ci correspond à la dernière étape de la production, consiste à inclure la protéine d'intérêt thérapeutique dans une forme médicamenteuse qui permettra son administration au patient. C'est l'étape clé pour garantir l'activité des protéines dans l'organisme mais également leur stabilité tout au long de la conservation du produit fini.

S'agissant de protéines, ces substances ne peuvent pas être administrées par voie orale. Il faut donc préparer un médicament qui sera administré par voie injectable (sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse).

En effet, le choix des excipients est très important, ils ne doivent pas être incompatibles avec la substance active, sous peine de la dénaturer et de perdre son activité thérapeutique ou de voir apparaître des effets indésirables graves chez le patient dus à une immunisation. Leur rôle est de permettre une bonne solubilisation de la protéine et de garantir la stabilité du produit afin d'administrer au patient un

produit sûr et efficace.

En fin de production, le produit vrac final est filtré sur un filtre stérilisant et conditionné dans des flacons stériles selon un procédé aseptique afin de ne pas contaminer le produit. Le conditionnement du produit doit garantir la stabilité et l'intégrité de la protéine car elle est sensible à l'environnement (température, lumière, etc.). La chaîne du froid devra être rigoureusement respectée. (39)



***Figure 9 : Le processus de fabrication des biomédicaments***

### ***6.1.3 La production des anticorps monoclonaux :***

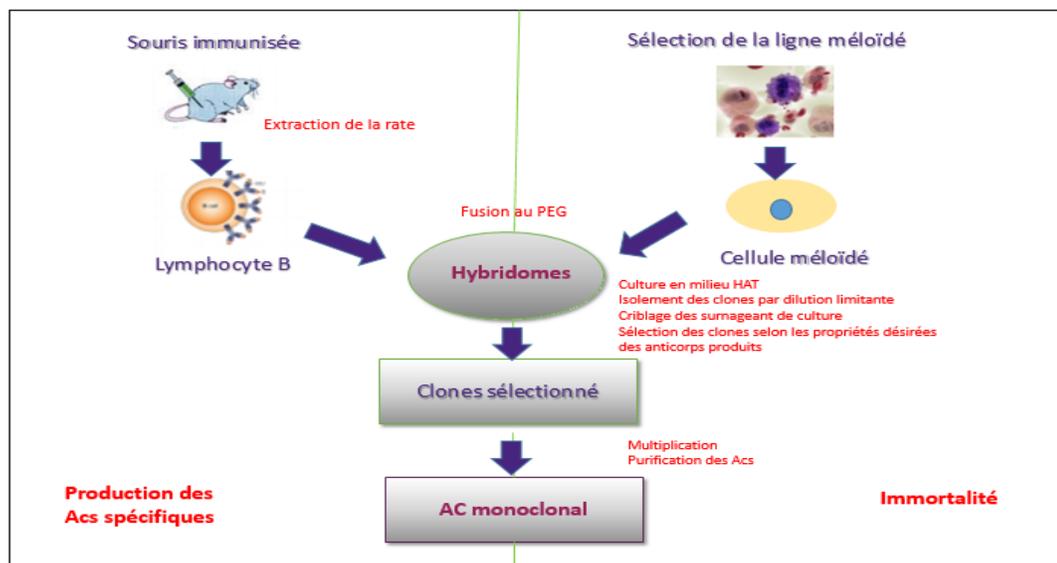
Les anticorps monoclonaux sont des anticorps issus d'un même clone de lymphocytes B (LcB) dirigés contre un épitope spécifique (La spécificité de ces anticorps en fait leur intérêt thérapeutique)

Les premiers anticorps monoclonaux développés étaient entièrement murins. Ils ont été produits par la technique des hybridomes, qui consiste à immortaliser un lymphocyte B en le fusionnant avec une cellule de myélome murin.

#### ***6.1.3.1 La technique de l'hybridome :***

- **Immunsation des souris et isolement des splénocytes** : les souris sont immunisées avec un antigène, puis la production d'anticorps est recherchée dans le sang. Les splénocytes produisant des anticorps sont ensuite isolés pour la production d'hybridomes **in vitro**.

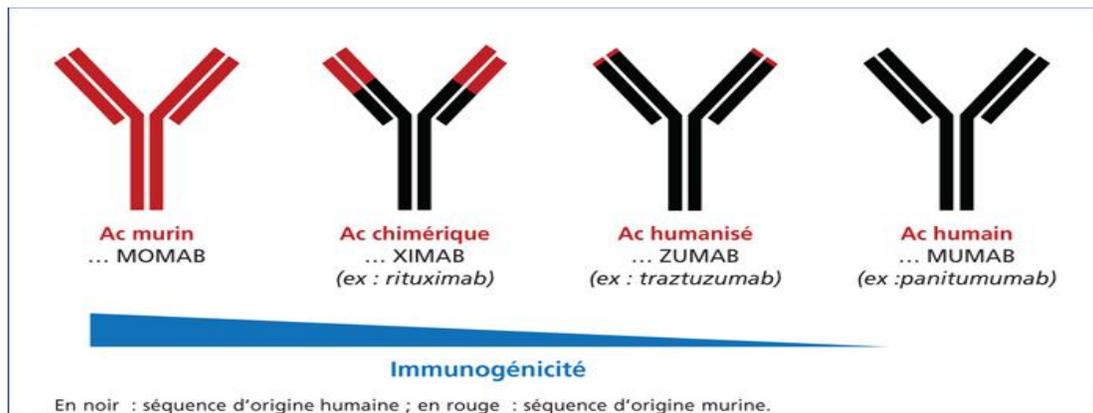
- **Préparation des cellules de myélome** : les cellules de myélome sont des cellules immortalisées qui, une fois fusionnées avec des cellules de rate, peuvent produire un hybridome capable de croissance illimitée. Les cellules de myélome sont préparées pour la fusion.
- **Fusion** : les cellules de myélome et les splénocytes isolés sont fusionnés pour former des hybridomes en présence de polyéthylène glycol (PEG), ce qui permet la fusion des membranes cellulaires.
- **Criblage et sélection de clone** : les clones sont criblés et sélectionnés en fonction de la spécificité de l'antigène et de la classe d'immunoglobulines.
- **Caractérisation fonctionnelle** : confirmer, valider et caractériser (Exp : ELISA) chaque colonie permettant potentiellement une production élevée.
- **Extrapolation et sevrage** : extrapoler les clones produisant les anticorps souhaités et sevrer le ou les agents de sélection.
- **Expansion** : développer les clones produisant les anticorps souhaités (Exp : bioréacteurs ou flacon de grande taille) (40).



***Figure 10 : La méthode la production des anticorps monoclonaux***

#### 6.1.4 Les types d'anticorps monoclonaux :

- ✓ **Les anticorps murins (suffixe -omab)** sont des anticorps produits chez la souris. Le principal défaut de ces anticorps est la production d'anticorps humains anti-souris (HAMA) lorsqu'ils sont utilisés comme agent thérapeutique chez l'homme. Aujourd'hui leur utilisation est limitée.
- ✓ **Les anticorps chimériques (suffixe -ximab)** sont humains à 60%. Les parties constantes des chaînes lourdes et légères (CH et CL) d'anticorps humain sont greffées sur les parties variables respectives (VH et VL) d'un anticorps murin.
- ✓ **Les anticorps humanisés (suffixe -zumab)** sont humains à 90%. Des parties hypervariables (CDR) d'un anticorps murin sont greffées sur une immunoglobuline humaine. L'anticorps humanisé est mieux toléré par l'organisme humain car ressemble plus « au soi ». Son efficacité est renforcée car sa demi-vie est plus longue dans l'organisme.
- ✓ **Les anticorps humains (suffixe -umab)** sont humains à 100%. Ils ont l'avantage de limiter l'immunogénicité et diminuent le risque de synthèse d'anticorps humains anti-souris retrouvés lorsque des anticorps chimériques et humanisés sont utilisés (41).



**Figure 11 : Les types d'anticorps monoclonaux**

## ***6.2 La production des biosimilaires :***

### ***Le concept de la biosimilarité :***

Pour qu'un médicament biosimilaire obtienne son AMM, la démonstration de sa similarité avec le médicament de référence est jugée nécessaire. Cette similarité est prouvée par une étude de comparabilité entre : le profil de qualité (qui permet de démontrer la forte similarité des propriétés physicochimiques et de l'activité biologique), de sécurité, d'efficacité et de tolérance (par des études comparatives non cliniques et cliniques) d'un médicament biosimilaire par rapport à ceux de son médicament de référence.

Cet exercice de comparabilité a été instauré pour évaluer les impacts d'un changement dans le processus de fabrication biologique, et prouver la similarité du produit avant et après le changement. (42).

#### ***6.2.1 L'étude comparative de la qualité :***

L'étude est effectuée par une association des tests analytiques physicochimiques et des tests biologiques, qui sont choisis en fonction de la complexité du produit, et en prenant en considération les limites de chaque test tel que : la spécificité et la limite de détection.

L'association de plusieurs méthodes différentes pour évaluer le même critère permet une meilleure détection des différences significatives entre le biosimilaire et le princeps.

#### ***6.2.2 L'étude comparative non-clinique :***

C'est une combinaison d'études pharmacodynamiques et toxicologiques du biosimilaire, effectuée (43) :

**In vitro** : tel que l'étude de la liaison aux récepteurs, qui permet de comparer entre le mode d'action du biosimilaire par rapport à celui du médicament de référence

(cette étude peut être déjà disponible dans les données de qualité et peut être jointe dans la partie non-clinique du dossier). Ainsi que les effets physiologiques immédiats dans les cellules.

Et complétées par des études **in vivo** : sur des espèces animales pertinentes, sur lesquelles le produit de référence a démontré une activité pharmacodynamique et /ou toxicologique. Cette étude n'est requise que dans certains cas, par exemple lorsque le biosimilaire est produit dans un nouveau type d'organisme, ou s'il contient des nouveaux excipients non utilisés auparavant.

### **6.2.3 L'étude comparative clinique :**

Cette étape menée chez l'homme, a pour but d'évaluer l'efficacité et la tolérance du médicament biosimilaire, par le biais d'étapes comparatives de tête en tête avec le médicament de référence en commençant par :

**Des essais cliniques de phase 1** : qui recrutent de patients sains, leur objectif est d'évaluer la bioéquivalence entre le biosimilaire et le médicament de référence (c'est-à-dire lorsqu'ils sont administrés à la même concentration, ils engendrent les mêmes effets), et ça par le biais d'études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

**Des essais cliniques de phase 3** : ils recrutent une population dite « sensible », et a comme objectif d'évaluer la similarité d'efficacité et de sécurité . Cette étape est primordiale car même si l'efficacité est démontrée, la tolérance risque de ne pas être identique à celle du princeps s'il existe des différences en termes d'attributs de qualité, non apparentes ou difficiles à mettre en évidence au plan analytique, et qui peuvent avoir des conséquences cliniques imprévisibles.

**Des études post commercialisation** : afin de suivre les effets indésirables imprévisibles et qui peuvent apparaître à long terme, un programme de pharmacovigilance doit être mis

au point après la mise sur le marché du biosimilaire.

**Des études d'immunogénicité comparatives :** Les tests d'immunogénicité du biosimilaire et du produit de référence doivent être réalisés dans le cadre de l'exercice de comparabilité des biosimilaires en utilisant le même format de test et le même calendrier d'échantillonnage. La démonstration d'une incidence similaire des ADA et d'une bonne concordance entre les tests constitue une bonne preuve d'une immunogénicité comparable. La constatation que le biosimilaire est plus immunogène doit déclencher une enquête sur la cause profonde de la différence, y compris les questions méthodologiques. (44).

### ***7-La complexité des médicaments biosimilaires :***

Les médicaments traditionnels sont des médicaments à base de plantes (médicaments de phytothérapie) dont les principes actifs sont des drogues végétales ou des préparations à base de drogues végétales (comme l'Acide Acétylsalicylique issu de la reine des prés et du saule), ou synthétisés par des procédés chimiques (comme le paracétamol) (45).

Les biomédicaments (issus de bioproduction) diffèrent des médicaments traditionnels sur plusieurs niveaux : principe actif, leurs modes d'administration, processus de fabrication, la réponse immunitaire.

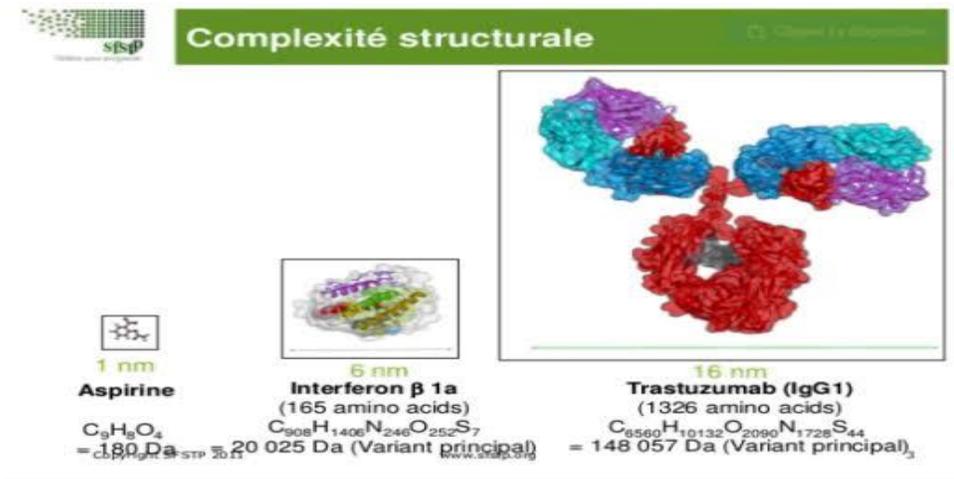
#### ***7-1 Complexité moléculaire :***

##### **7-1-1 Poids moléculaire :**

Biomédicaments désigne plus simplement tous médicaments dont la substance active est une macromolécule thérapeutique (Macromolécule se dit d'une molécule complexe se distinguant des petites molécules chimiques par sa taille, jusqu'à 1000 fois supérieure) (46).

Par Exemple, La masse moléculaire d'Aspirine est 180 Da, alors que le poids moléculaire de Anticorps monoclonale 450000 Da, Les médicaments biologiques sont donc des molécules complexes et de taille importante

**Figure 12 : complexité des médicaments biologique**



Type De La Molécule	DCI	Poids Moléculaires (Da)
Les Molécules Chimiques	PARACETAMOL	151
	Aspirine	180
	ROFECOXIB	315
	Amoxicilline	365,4
Les Molécules Biologiques	FILGRASTIN	18800
	Interféron alpha	19000
	EPOETINE ALPHA	30400

	RITUXIMAB	<b>145000</b>
	FACTEUR IX	<b>264000</b>
	Anticorpsmonoclonale	<b>450000</b>

**Tableau 05 : La différence du poids moléculaires entre une molécules chimique et biologique**

### 7-1-2 Organisation Spatiale :

Les médicaments biologiques possèdent une organisation spatiale complexe en trois dimensions qui doit être conservée pour le maintien de l'activité biologique, alors que les molécules d'origine chimique sont de structure simple, plane avec une flexibilité très réduite et contrainte (47).

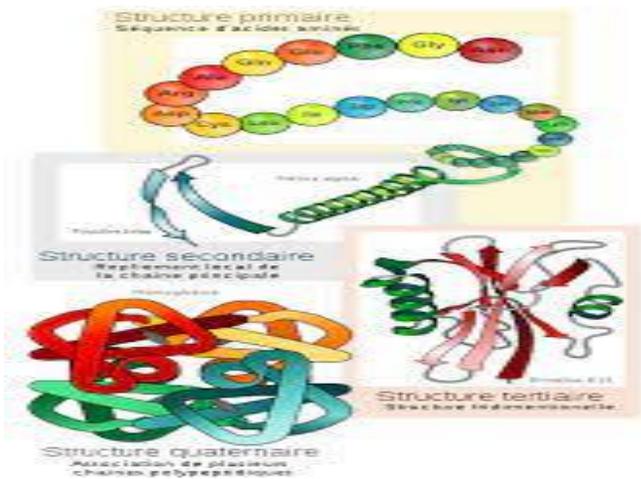
Dans le monde du vivant les protéines sont des structures indispensables à l'organisation de toute organite ou organisme et jouent des rôles fondamentaux au plan de la structure (protéine membranaire), ou immunologique(immunoglobuline), pharmacologique (cytokine, hormone) ...

Une protéine se définit tout d'abord par sa structure primaire qui est la séquence d'acide aminé de la protéine, qui est linéaire. Il forme la chaîne polypeptidique. Chaque acide aminé se lie à l'acide aminé adjacent via une liaison peptidique. En raison de la série de liaisons peptidiques dans la séquence d'acides aminés, La séquence codante est d'abord transcrite en un ARNm puis décodée pour former la séquence d'acides aminés, dans le premier processus est la traduction (dans le noyau), après on a la transcription (dans le cytoplasme).

Les AA se replient localement en structure secondaire sous forme de feuillets ou des hélices, Cela dépend totalement de la formation de liaisons hydrogène.

Enfin, la structure secondaire continue son repliement dans l'espace avec l'assemblage de plusieurs chaînes via des liaisons diverses (les liaisons hydrogènes, hydrophobes, électrostatiques ou covalentes) pour former une structure tertiaire et quaternaire.

Toute dénaturation de la protéine peut entraîner : la perte de l'activité biologique des protéines, en particulier des enzymes qui dépend fortement de l'organisation spatiale des AA qui la compose, par exemple au niveau d'un site actif. Baisse de la solubilité par démasquage de groupes hydrophobes, augmentation de la susceptibilité à la protéolyse, Pour la conservation de l'activité biologique et pour garantir l'efficacité et la sécurité de la protéine, il est donc important de préserver sa structure.



***FIGURE 13 : Les structures spatiales d'une protéine***

### **7-1-3 Modification post-traductionnelles :**

La production des protéines par la cellule ne consiste pas seulement en une traduction de la séquence d'acide nucléique, mais aussi par des modifications post traductionnelles.

La production d'une protéine nécessite deux processus majeurs : la transcription et la traduction. La transcription est la synthèse d'une molécule d'ARN messager (ARNm) à partir de la séquence d'ADN d'un gène, Ce processus a lieu dans le noyau de la cellule. Au début, la double hélice de l'ADN se sépare, permettant ainsi la formation d'un brin d'ARNm complémentaire à l'un des deux brins d'ADN.

La prochaine étape est la traduction de cette molécule d'ARNm. Une fois la transcription terminée, l'ARNm libéré dans le cytoplasme va rejoindre un ribosome, organite responsable de la traduction la fabrication d'une protéine à partir de la séquence de nucléotides d'une molécule d'ARNm. Pendant celle-ci, le code génétique est converti en acides aminés.

Une fois la traduction terminée, de nombreuses modifications se produisent : des phénomènes d'agrégation (formation d'agrégat de protéines) et des modifications post-traductionnelles (est la modification chimique covalente d'une protéine, réalisée le plus souvent par une enzyme, pendant ou après sa synthèse). Ces modifications sont aussi qualifiées de « phase de maturation » indispensables avant que les protéines ne soient libérées par les cellules productrices.

De plus, les modifications post-traductionnelles apportées ne sont par exemple pas les mêmes entre les bactéries et les cellules de mammifères. Cette modification consiste : Glycosylations, la sulfatation, Clivage de chaîne polypeptidique, la formation des ponts covalents, la sulfonation, Phosphorylation, Acétylation, hydroxylation, Elimination d'acides aminés (Méthionine) (48).

La modification post-traditionnelle ont pour rôle : la régulation de l'activité des protéines, leur reconnaissance par d'autres molécules ou par les systèmes de dégradation, leur ancrage sur une membrane, leur ciblage vers un compartiment cellulaire.

Ces phénomènes peuvent avoir des conséquences sur la clairance, la demi-vie d'élimination et l'activité du biomédicament, à cause du changement de la charge globale et des caractéristiques physico-chimiques ou biologiques des protéines « matures ».

La glycosylation est une forme importante et courante de modification post-traductionnelle des protéines, Elle implique la fixation de résidus glycanes (très complexes sont ajoutées sur le squelette protéique au sein du réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi) sur des résidus asparagine (N-glycosylation) et sérine ou thréonine (O-glycosylation), catalysée par des enzymes, la glycosylation de protéines est considérée comme ayant des rôles structuraux et fonctionnels importants (49).

## ***7-2 Complexité liée au processus de fabrication (Voir le titre : la production des médicaments biosimilaires) :***

### **7-2-1 Source biologique :**

Un médicament biosimilaire est un médicament qui, comme tout médicament biologique, est produit à partir d'une cellule, d'un organisme vivant ou dérivé de ceux-ci, Ils sont obtenus par des procédés de « biotechnologie » : c'est-à-dire en utilisant des organismes (animale, végétal, bactérie) dont on a modifié le matériel génétique par une technique nouvelle, dite génie génétique pour lui conférer une caractéristique nouvelle. Pour exprimer des protéines d'intérêt thérapeutique de séquence humaine.

Le système de production de la substance biologique est donc soumis à la variabilité du vivant qui induira une certaine variabilité dans le profil de qualité du produit.

En biotechnologie, le choix de l'organisme de production est déterminant pour assurer la qualité, L'efficacité et la sécurité du produit. Plusieurs paramètres sont à étudier pour choisir le système D'expression le plus adapté :

- Les modifications post-traductionnelles ;
- Le rendement : quantité et rapidité de production ;
- Les conditions de culture : contamination et stabilité ;
- L'immunogénicité ;
- Les coûts.

### **7-2-2 Caractérisation et détermination de la qualité :**

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit la qualité des soins comme une : « Démarche qui doit permettre de garantir à chaque patient l'assortiment d'actes diagnostiques et thérapeutiques lui assurant le meilleur résultat en termes de santé, conformément à l'état actuel de la science médicale, au meilleur coût pour le même résultat, au moindre risque iatrogénique et pour sa plus grande satisfaction en termes de procédures, résultats, contacts humains à l'intérieur du système de soins ».

« La qualité pharmaceutique assure que le médicament répond à des normes prédéfinies, et qu'il est adapté à l'utilisation clinique. Elle doit absolument être garantie car la non-qualité peut être dangereuse pour le patient, en apportant des problèmes de tolérance ou en modifiant l'activité thérapeutique du médicament.

Mais à l'inverse des médicaments chimiques, et malgré des analyses complexes, il n'est pas possible de caractériser et d'analyser entièrement des molécules issues d'une source biologique. La complexité de la structure d'une molécule biologique et la diversité des impuretés et des contaminants sont des exemples de freins à une caractérisation complète du produit ».

### **7-2-3 Procédé de fabrication et son contrôle :**

La substance active biologique est soumise à des variabilités suivant le mode de production utilisée qui apporte des différences en termes de profil de pureté et d'impuretés d'un médicament biologique ou biosimilaire. Du fait de la production dans des systèmes vivants et selon la nature de la cellule hôte utilisée, la substance active subit des réactions biochimiques différentes. Ainsi, la séquence peptidique peut être soumise à des variations suite à diverses réactions comme des oxydations, des substitutions, ....

Pour avoir des produits similaires que possible il est nécessaire que les conditions de fabrication soient strictement identiques pour garantir la pureté et la sécurité du médicament.

Ainsi, tout changement dans le processus doit donc être rigoureusement analysé et contrôlé. Ces modifications sont encadrées, notamment par les guidelines Q5E « *Comparability of biotechnology/biological products subject to changes in their manufacturing process* »

### **7-3 Complexité du produit fini :**

#### **7-3-1 La micro-hétérogénéité :**

Le contrôle de la qualité des produits biologiques est un exercice difficile. En effet, la substance active biologique n'est pas une simple entité chimique bien définie mais plutôt un ensemble hétérogène de molécules complexes et variable, Cette complexité est appelée micro-hétérogénéité intrinsèque.

La substance active peut présenter un faible degré de variabilité intrinsèque, que ce soit dans même lot, entre divers lots, ou même entre le médicament de référence et son biosimilaire.

Le degré et le profil d'hétérogénéité doivent être caractérisés afin d'assurer l'uniformité entre les lots. La présence des variantes doit être surveillée et contrôlée au moyen de critères d'acceptation prédéfinies provenant des données des lots utilisés pour les études précliniques et cliniques.

## **8. circonstances des biosimilaires :**

### **8.1 Effet indésirable des biosimilaires :**

Y a-t-il plus d'effets indésirables avec un médicament biosimilaire qu'avec le médicament biologique de référence ?

Comme tous les médicaments, le traitement est susceptible d'avoir des effets indésirables. Cependant, un médicament biologique de référence et ses biosimilaires partagent le même type d'effets indésirables.

Depuis 10 ans, le système de surveillance de l'Union Européenne pour les questions de sécurité n'a relevé aucune différence notable concernant la nature, la gravité ou la fréquence des effets indésirables entre les médicaments biosimilaires et les médicaments de référence (50).

### **8.2 Efficacité :**

Les médicaments biosimilaires agissent de la même manière que leur médicament biologique de référence. Si un patient passe d'un médicament biologique à un médicament biosimilaire ou commence son traitement avec un médicament biosimilaire, il obtiendra le même résultat que s'il était traité avec le médicament biologique de référence.

A efficacité et sécurité égales, les médicaments biosimilaires nécessitent beaucoup moins de recherche et de développement que leurs médicaments biologiques de référence puisqu'ils en sont une copie très similaire. Ils coutent donc beaucoup moins chers à produire. Les économies générées peuvent ainsi être réinvesties. Elles permettent ainsi de continuer d'introduire des innovations afin de maintenir le remboursement des médicaments pour les Québécois assurés par la RAMQ et de participer à sa pérennité. (51).

# PARTIE II : IMMUNOGÉNÉICITÉ DES BIOSIMILAIRES

## **1 Généralités :**

L'immunogénicité est une préoccupation majeure des médicaments biologiques. La plupart ont un poids moléculaire élevé, les molécules biologiques peuvent être reconnues par le système immunitaire et provoquer dans certains cas une réaction immunitaire, contrairement aux molécules chimiques qui sont de petites tailles. Cette réaction indésirable peut être engendrée par tout produit biologique, même d'origine humaine ou entièrement humanisée (52).

On distingue désormais deux formes de réponses immunitaires ; la réponse immunitaire innée, et la réponse immunitaire adaptative.

### ***1.1 L'immunité innée :***

L'immunité innée représente la première ligne de défense contre la substance étrangères, comme son nom indique, elle se met en place d'une manière rapide et spontanée, sans la nécessité de contact préalable avec l'agent étranger. Elle repose sur des effecteurs cellulaires et humoraux qui reconnaissent les motifs communs des agents pathogènes.

Il s'agit d'une réponse transitoire qui n'engendre pas d'une mémoire immunologique, c'est-à-dire, une fois la réponse terminée il ne restera « aucune trace » de la rencontre avec l'agent pathogène qui l'a suscité. Certains des acteurs cellulaires de l'immunité innée une fois activés vont jouer un rôle déterminant dans le déclenchement des réponses immunitaires adaptatives. Ces cellules qui constituent le lien entre les types de réponses sont les cellules dendritiques.

### ***1.2 L'immunité adaptative :***

L'immunité adaptative repose sur l'action coordonnée des différents types de cellules fonctionnellement distinctes. On distingue les cellules présentatrices de

l'antigènes (CAP), les lymphocyte B (LB) qui produisent des anticorps, et différentes catégories de lymphocytes T auxiliaires qui produisent des cytokines, des facteurs solubles ou membranaires qui interviennent dans le phénomène de coopération et de différenciation cellulaires et qui représente les « hormones » du système immunitaire, et les lymphocyte T régulateurs.

Le dénominateur commun à principales réactions immunitaires adaptatives, qui les distingue des réponses immunitaires innées et qui a une spécificité pour la substance étrangère qui les induit est : « l'Antigène ». Il existe deux types de réactions d'immunité adaptative : la première médiée par les lymphocytes B appelé immunité humorale, et une autre médiée par les lymphocytes T appelée immunité cellulaire.

### **Les antigènes :**

Les antigènes sont des substances que le système immunologique d'un individu reconnaît comme étrangères, et qui provoquent des réponses immunitaires adaptatives par la production des anticorps. Chaque clone de lymphocytes B ou T exprime un récepteur unique, spécifique d'un antigène appelé : épitope.

## ***2. L'immunogénicité :***

L'immunogénicité est la capacité qu'a un antigène de provoquer une réponse immunitaire adaptative. Plus la réponse sera forte et induite facilement, plus l'antigène sera qualifié d'immunogène (53).

Il est important de souligner que la notion d'immunogénicité d'une molécule donnée est relative, quantitative et circonstancielle puisqu'elle est toujours liée au receveur, et dépend de son génome, de son passé immunologique et de ses conditions physiologiques du moment. Plus la voie d'administration de la substance, de la quantité administrée, de la présence d'adjuvants, etc (54).

### ***Définition ADA :***

Les ADA sont définis comme des Acs biologiquement réactifs à un médicament (spécialement les protéines thérapeutiques). Ils sont le résultat d'une réponse du système immunitaire adaptative humorale, lors de l'introduction d'une molécule thérapeutique de nature protéique dans l'organisme (55).

### **Structure :**

Toutes les Ig comportent toutes 4 chaînes poly peptiques groupées en deux paires identiques de taille inégale :

- 2 chaînes lourdes dite H pour « heavy », d'environ 50KD (450 à 600 acides aminés, unies entre elles par un ou plusieurs ponts disulfures.
- 2 chaînes légères dites L pour « light » d'environ 25KD d'environ 210 à 220 acides aminés, unies aux chaînes lourdes par un pont disulfure très proche de leur extrémité carboxy terminale.

Les isotypes d'ADAs secrétés par les plasmocytes peuvent varier en fonction de la nature, la structure, la complexité moléculaire et le potentiel immunologique du médicament biosimilaires. Chaque protéine thérapeutique peut induire diverses réponses d'anticorps polyclonaux, qui varient dans le temps d'apparition, l'amplitude, l'affinité, la sous-classe et la spécificité d'épitope et selon les individus (56).

### **Types ADA :**

Chez les patients qui s'immunisent contre les protéines thérapeutiques, les ADA circulants produits peuvent être de différents isotypes. Par exemple les ADAs dirigés contre la molécule Infliximab, sont majoritairement des IgG, avec une prévalence d'IgG1 et d'IgG4 (57), mais on peut également trouver des IgA, des IgM et des IgE occasionnellement (58).

-Des ADAs neutralisants appelés : neutralizing anti-drugantibodies (NADA)

-Des ADAs non neutralisants mais qui peuvent avoir d'autres conséquences tels que : sustaining anti-drugantibodies (SADA), clearing anti-drugantibodies (CADA).

### ***3. Facteurs influençant l'immunogénicité :***

La plupart des protéines biologiques et biotechnologiques induisent une réponse immunitaire. Cette réponse immunologique aux protéines thérapeutiques est complexe et, en plus de la formation d'anticorps, l'activation des lymphocytes T ou les réponses immunitaires innées pourraient contribuer à des effets indésirables potentiels.

De nombreux facteurs liés aux patients, aux maladies et aux produits peuvent influencer sur l'immunogénicité des protéines thérapeutiques.

#### ***3.1 Liés au patient :***

##### **• Facteurs génétiques modulant la réponse immunitaire :**

Peuvent modifier les réponses immunitaires à une protéine thérapeutique et conduire à la variabilité inter-patients. La variation génétique au niveau des molécules de CMH - et du récepteur des lymphocytes T modifiera la reconnaissance immunitaire tandis que la variation génétique au niveau des facteurs modulateurs, tels que les cytokines et récepteurs cytokine, peuvent influencer l'intensité de la réponse.

##### **• Facteurs génétiques liés à un défaut génétique :**

Lorsque la protéine thérapeutique est utilisée pour remplacer une protéine endogène (par ex. facteur VIII, remplacement enzymatique) lorsque le patient est déficient en contrepartie naturelle, l'antigène physiologique peut représenter un néo-antigène et le système immunitaire interprétera la protéine thérapeutique comme étrangère ou non.

##### **• Polymorphisme :**

Le polymorphisme allélique dans le complexe majeur d'histocompatibilité CMH (qui a un impact sur l'affinité et la stabilité de l'interaction entre les molécules du CMH et

les peptides antigéniques) et les gènes codant pour le récepteur des cellules T auxiliaires peuvent influencer les réponses immunitaires et l'induction de la tolérance immunologique (59).

**• Âge :**

Les données sur l'immunogénicité d'un groupe d'âge ne peuvent pas nécessairement être projetées à d'autres, la réponse aux protéines thérapeutiques peut être affectée par l'âge du patient. Chez les enfants, différents niveaux de la maturation du système immunitaire sont observés en fonction de l'âge. Si le produit est indiqué pour les enfants, on s'attend généralement à ce que des études cliniques soient effectuées à cet âge Groupe. Dans ce cas, des données d'immunogénicité devraient également être recueillies dans ces études. S'il est indiqué pour personnes âgées, il convient d'envisager une réponse immunitaire potentiellement modifiée, y compris Auto-immunité.

**• Facteurs liés à la maladie :**

La maladie sous-jacente d'un patient peut être un facteur important dans le contexte du développement d'une réponse immunitaire. Les patients présentant un système immunitaire activé (par exemple ceux qui souffrent d'infections chroniques, d'allergies et de maladies auto-immunes peuvent être plus enclins aux réponses immunitaires aux protéines thérapeutiques.

***3.2 Liés au traitement :***

Les facteurs qui peuvent augmenter la réponse immunitaire à une protéine thérapeutique peuvent être la voie d'administration, la dose et la durée du traitement.

**-Voie d'administration :**

Les voies d'administration intradermique, sous-cutanée et par inhalation sont associées à une immunogénicité accrue par rapport aux voies intramusculaires et intraveineuses (IV). La voie IV est généralement considérée comme la moins susceptible de provoquer une réponse immunitaire (60).

De nombreux groupes se sont intéressés à l'impact que pourrait avoir la voie d'administration de la protéine sur son potentiel immunogène. Notamment, il a été montré dès 1987 que la voie intramusculaire pour l'injection d'IFN- $\beta$  était plus immunogène que la voie intraveineuse (61).

**-Dose et durée du traitement :**

Un traitement à court terme seulement est généralement moins susceptible d'être associé à une réponse immunitaire qu'un traitement à long terme, et les produits administrés en continu sont généralement moins immunogènes que ceux administrés par intermittence.

Un traitement intermittent ou une réexposition après un long intervalle sans traitement peut être associé à une réponse immunitaire renforcée (62).

**-Traitement concomitant :**

Guide d'orientation sur l'évaluation de l'immunogénicité des produits thérapeutiques dérivés de la biotechnologie Protéines EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev1. Les thérapies concomitantes peuvent diminuer ou augmenter le risque d'une réponse immunitaire à une protéine thérapeutique. Typiquement, la réaction immunitaire contre une protéine thérapeutique est réduite lorsque les agents immunosuppresseurs sont utilisés en même temps.

Cependant, une réponse immunitaire contre un produit thérapeutique est le résultat de nombreux facteurs et donc, les conclusions sur l'impact potentiel du médicament immuno modulant concomitant ne sont pas simples. Il convient également de tenir compte des traitements antérieurs qui peuvent influencer la réaction immunitaire à une thérapeutique et peut avoir un impact à long terme sur le système immunitaire.

Si les essais cliniques d'un produit avec une nouvelle substance active sont effectués en combinaison avec des immunosuppresseurs, une réclamation pour l'utilisation du médicament protéique en monothérapie doit être accompagnée de données

cliniques adéquates sur le profil d'immunogénicité en l'absence d'agents immuno-suppresseurs (63).

### ***3.3 Liés au produit :***

Les facteurs de risque liés aux produits qui peuvent avoir un impact sur l'immunogénicité des protéines thérapeutiques issues de la biotechnologie comprennent l'origine et la nature de la substance active (homologie structurale, modifications post traductionnelles), les modifications de la protéine native (par exemple la PEGylation), les impuretés liées au produit et au procédé de fabrication (par exemple la répartition des produits, les agrégats et les protéines de la cellule hôte, les lipides ou l'ADN), et la formulation (64).

#### **Origine :**

Un exemple historique est donné par les insulines d'origine bovine et porcine, qui diffèrent de l'insuline humaine respectivement par 3 et 1 acide aminé. Ou, l'administration d'insuline bovine résulte en une production d'ADA supérieure à celle induite en réponse à l'insuline porcine ou humaine. Par ailleurs, l'Insuline Aspartate (IAsp), analogue de l'insuline à action rapide, diffère de l'insuline humaine par un seul acide aminé (65).

#### **Structure :**

Les analogues de protéines endogènes humaines issus de la biotechnologie peuvent déclencher une réponse immunitaire en raison de variations de la séquence d'acides aminés ou de changements de la structure de la protéine résultant de modifications post-traductionnelles, de la dégradation et/ou de la modification physique, chimique ou enzymatique, par exemple la désamination, l'oxydation et la sulfatation, à toutes les étapes du processus de fabrication et pendant le stockage.

#### **La formulation :**

La composition de la formulation est choisie de manière à conserver au mieux la

conformation native des protéines thérapeutiques. Une formulation réussie est robuste dépend de la compréhension de la nature physique et chimique de la substance active et des excipients et leur interaction. La formulation et la source des excipients peuvent modifier l'immunogénicité des protéines thérapeutiques. L'impact des matériaux du conditionnement primaire et les conditions d'utilisation clinique, par exemple la dilution dans des solutions de perfusion et les dispositifs de perfusion de différents matériaux pourraient également influencer sur le potentiel immunogène d'une protéine thérapeutique.

#### **L'agrégation et la formation d'adduits :**

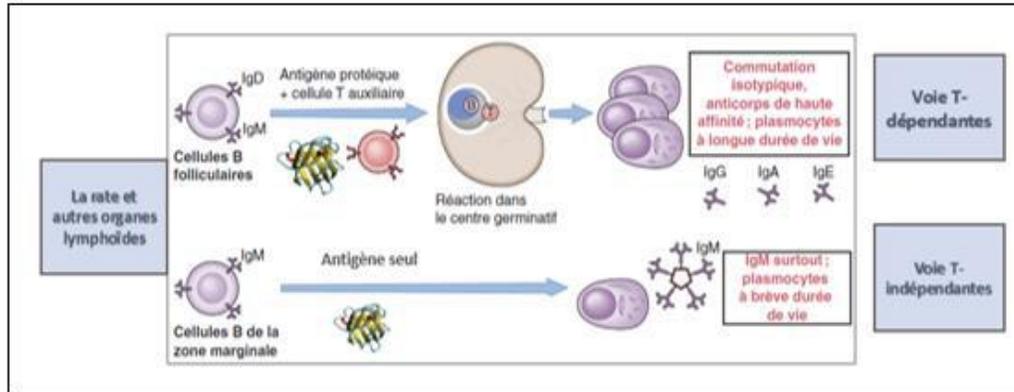
L'agrégation et la formation d'adduits des protéines peuvent induire l'apparition de nouveaux épitopes ou conduire à la formation d'épitopes multivalents, qui peuvent stimuler le système immunitaire. Les facteurs qui pourraient être envisagées pour contribuer à l'agrégation ou la formation d'adduits comprennent la formulation, les processus de purification, l'inactivation virale, les procédures et les conditions de stockage des produits intermédiaires et des produits finis. L'utilisation des protéines, par exemple l'albumine, comme excipient peut conduire à la formation d'agrégats plus immunogènes. Il est important de surveiller les agrégats et les adduits contenus dans un produit tout au long de sa durée de vie.

#### **Les impuretés :**

Il y a un certain nombre d'impuretés de protéines thérapeutiques, qui peuvent potentiellement servir comme adjuvants. Les protéines de la cellule hôte pourraient induire des réponses immunitaires contre eux-mêmes.

### **4. Le mécanisme de l'immunogénicité :**

Généralement, la réponse immunitaire humorale intervient après l'administration d'une protéine étrangère dans l'organisme. Les anticorps sont produits par les deux voies suivantes :



***Figure 14 : Mécanisme de la réponse immunitaire humorale***

#### **4.1 La voie T-indépendante :**

Dans cette voie les Ags sont sous forme libre. Ils seront captés directement par les LB de la zone marginale splénique (B-ZM). Ces Ags activent directement les LB sans l'aide des lymphocytes auxiliaires, grâce à une agrégation massive des récepteurs membranaires des cellules B (BCR). Ce puissant signal de prolifération agit de concert avec l'action de cytokines ou de ligands, qui stimulent la transformation des LB matures en plasmocytes sécrétrices des anticorps ADA de type IgM de très faible affinité (66).

#### **4.2 La voie T dépendante :**

Presque tous les antigènes externes sont dépendants des cellules T (Une réponse thymo-dépendante d'un Ac à un Ag). Et nécessitent, pour l'activation complète des lymphocytes B, un signal supplémentaire (cytokine) provenant de lymphocytes T-helpers spécifiques qui reconnaissent le même antigène (coopération des cellules T et B).

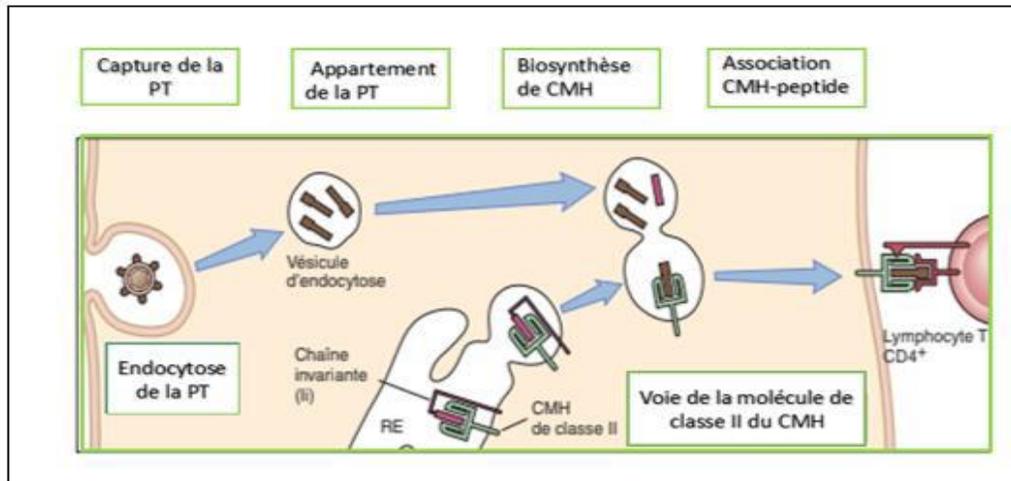
Cette activation des LB folliculaires par des LT qui répondent au même antigène appelé « la reconnaissance croisée ». Implique qu'avant que les LB ne produisent des anticorps vis-à-vis une protéine thérapeutique, des cellules CD4+ spécifiques doivent d'abord être activées par des CAP (67).

Lorsqu'un médicament biologique (tel qu'un biosimilaire) est introduit dans le corps, il est pris en charge et apprêté par des cellules présentatrices d'antigènes. Les cellules dendritiques ayant capté l'antigène migrent des tissus vers les ganglions périphériques dans lesquels la réponse immunitaire est déclenchée. Elles deviennent matures grâce à certaines cytokines produites par les réactions de l'immunité innée et se transforment par la suite en des cellules présentatrices d'Ag.

Cette maturation se traduit par une augmentation de la synthèse des molécules de CMH présentant l'Ag au lymphocyte T. D'autres molécules appelées molécules de co-stimulation sont aussi nécessaires pour que la réponse des LT soit complète.

Suite à l'internalisation de la PT dans la cellule dendritique (CD), elle sera dégradée par des endosomes : phagosomes ou les lysosomes, en des peptides de longueur et de séquences variables, présentés à la surface des CPA, associés aux molécules du CMH II (qui sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique (68)).

La présentation des antigènes par les CPA dans la zone T, favorise la différenciation des LT auxiliaires en LT folliculaires qui migrent vers la zone B pour y rencontrer les LB dans la jonction T

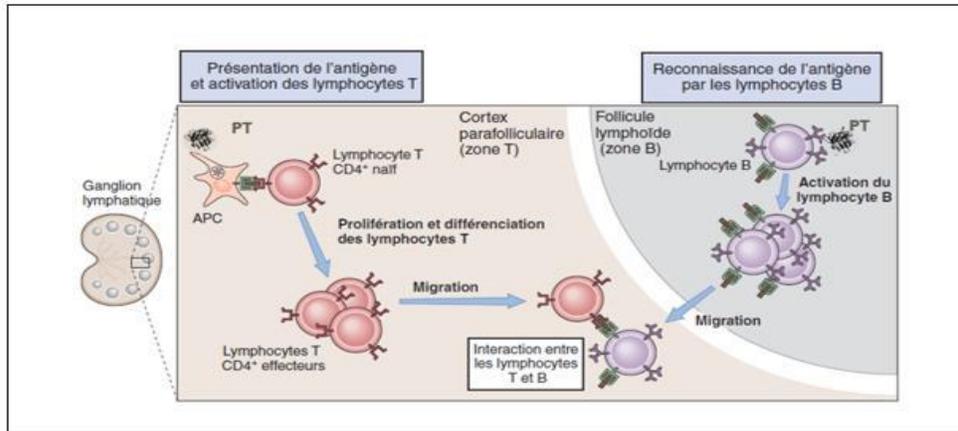


**Figure 15 : La représentation de l'antigène-CMHII par les CPA**

Dans la jonction B-T, les LB jouent le rôle des CPA pour les cellules LT auxiliaires. Elles s'activent en reconnaissant le complexe CMH-peptide approprié à la surface de la cellule B. Cette reconnaissance spécifique conduit les LT à synthétiser des protéines solubles et membranaires qui activent de façon synergique les LB

Parmi les interactions membranaires B-T : l'interaction entre CD40 ligand présent sur le LT et CD40 présent sur le LB qui, est fondamentale dans le contrôle de l'activation des LB (67).

Les LBs différentient en deux catégories : « LB mémoire » et « plasmocytes ». Ces derniers rejoignent la moelle osseuse et produisent massivement des Acs spécifiques de l'Ag, et se diffusent par la suite dans tout l'organisme, dans le but de fixer à l'Ag à chaque nouvelle rencontre. Les réponses suivantes seront immédiates, plus spécifiques et plus fortes que lors de la réponse primaire, puisque toutes les cellules compétentes pour reconnaître l'Ag sont gardées en mémoire (69)



**Figure 16 : Mécanisme de la réponse immunitaire humorale**

### 4.3 La formation des complexes immuns (ADAs –protéines thérapeutiques) :

#### 4.3.1 Effets biologiques des complexes immuns :

Après la sécrétion des anticorps par les plasmocytes (anticorps anti médicament : ADA), ils diffusent dans le corps par la circulation sanguin et lymphatique.

Dès leur rencontre avec leur Ag spécifique (qui est dans ce cas la PT), ils forment des complexes immuns (CI) : ADA-PT.

Les effets indésirables dus à la formation de ces complexes, sont classés comme des réactions de type II, et L'ADA lié au médicament en circulation donne lieu à des CI circulants (CIC) qui peuvent entraîner des réactions de type III.

La taille des CI et leur capacité à activer le complément sont des facteurs importants. Ces deux facteurs ont une influence sur la capacité des CI à former des dépôts et à l'activation des voies inflammatoires. La taille du complexe affecte également les fonctions médiées par Fc par interaction avec une famille de récepteurs Fc activateurs (FcR) largement distribués. Les niveaux d'expression de FcR varient selon les individus (70).

La formation des complexes immuns peut être liée à des effets indésirables cliniquement observés (voir le titre : les conséquences de l'immunogénicité)..

#### **4.3.2 Activation des récepteurs Fc :**

Les récepteurs Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ R) sont largement exprimés par plusieurs types cellulaires du système hématopoïétique, et jouent un rôle primordial dans les effets pathologiques des CI.

- Le Fc $\gamma$ RI de haute affinité se lie aux IgG monomères.
- les Fc $\gamma$ RII (CD32) et Fc $\gamma$ RIII (CD16) de faible affinité se lient préférentiellement aux IgG complexées. Ils sont présents sous de multiples isoformes :
  - activateurs (Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIIA)
  - inhibiteurs (Fc $\gamma$ RIIB, Fc $\gamma$ RIIIB) selon leurs motifs cytoplasmiques (71).

Le regroupement de FcR à partir de la ligature CI déclenche la libération de médiateurs inflammatoires et de chimiokines chimiotactiques, qui provoquent une activation endothéliale, et un recrutement supplémentaire des cellules immunitaires, fournissant ainsi une explication mécaniste de la capacité du système immunitaire inné à influencer la réponse spécifique à l'Ag du système immunitaire. Les complexes immuns peuvent conduire à une production supplémentaire d'ADA et à la formation potentielle de CI (70).

#### **4.3.3 Activation du complément :**

En plus du Fc $\gamma$ R, le complément joue également un rôle essentiel dans la médiation des processus inflammatoires en aval de la formation des CI. Les CI activent la cascade du complément par la voie classique en se liant au composant C1q du complément via la partie Fc des CI et en déclenchant une série d'activations enzymatiques et d'événements protéolytiques. Le Fc des CI porteurs d'IgM ADA est très efficace dans cette réaction par rapport au Fc IgG. IgG 3. Les CI ont une plus grande propension à fixer le complément que les autres sous-classes d'IgG (70).

Les récepteurs du complément (CR) sur les LB et les CPA, interagissent avec les CI polonisés entraînent une activation supplémentaire, une augmentation du traitement et de la présentation de l'antigène et donc, une production accrue d'anticorps. Cela pourrait être important parce qu'il permet aux CI : ADA-PT préexistants de conduire à des titres d'ADA plus élevés (71).

#### **4.3.4 Déclenchement des voies de signalisation des cytokines :**

L'engagement de FcR ou CR sur les cellules par réticulation CI entraîne la production de chimiokines et de facteurs de croissance, qui ont un effet en cascade sur le trafic et la croissance des cellules T et B. Ces facteurs solubles jouent un rôle vital, influençant la diaphonie entre les bras innés et adaptatifs de l'immunité (72).

#### **4.3.5 Influence directe de l'CI sur les cellules T :**

Un sous-ensemble de LT folliculaires auxiliaires activés exprime Fc $\gamma$ RIIIa qui peut délivrer un signal d'activation indépendant du CMH de classe II et les inciter à produire de l'IFN- $\gamma$ . La reconnaissance des CI par le Fc $\gamma$ RIIIa entraîne une co-stimulation des LT, et peut représenter une voie alternative reliant les bras innés et adaptatifs de l'immunité (71).

## **5. Les conséquences de l'immunogénicité :**

Une des principales préoccupations liées à l'utilisation des produits biologiques est le risque de réaction d'immunogénicité se manifestant par une réponse immunitaire non souhaitée du patient, c.-à-d. la formation d'anticorps anti médicaments (ADA). Ses derniers peuvent, ou non, avoir des conséquences sur l'efficacité ou la sécurité du médicament. Cela dépend de l'épitope reconnu par ces anticorps, l'affinité, et la quantité d'anticorps générés, Parmi ces conséquences on peut citer :

### **5\_1 Les conséquences sur le produit :**

#### **5\_1.1 Aucune conséquence :**

Les conséquences d'une réaction d'immunogénicité sont variables et difficilement prévisibles. Elles peuvent survenir avec les médicaments biologiques, qu'ils soient biosimilaires. Elles peuvent n'avoir aucun effet.

Les patients ADA positifs présentent alors la même réponse au traitement que les patients ADA négatifs.

### **5.1.2 Les conséquences sur la pharmacocinétique :**

La présence d'ADA a été liée à une diminution de l'efficacité thérapeutique et à l'apparition d'effets indésirables.

Les ADA peuvent modifier l'efficacité thérapeutique du médicament biologique en altérant sa pharmacocinétique ou en empêchant sa réponse pharmacologique. La formation de complexes immuns peut induire des changements de conformation du médicament biologique, l'empêcher de se fixer sur son site actif, favoriser son élimination ou induire une baisse de sa concentration sous forme libre circulante. Il existe un effet proportionnel du taux des ADA sur la diminution de l'efficacité de la biothérapie (73).

### **5.1.3 La résistance au traitement :**

Les NADA (ou ADA neutralisants) se fixent sur les sites d'activité biologique des biosimilaires et gênent leur disponibilité par encombrement stérique ou changement de Conformation, diminuant alors l'effet thérapeutique du biosimilaire et son efficacité.

Le caractère neutralisant des ADA peut être confirmé par des tests cellulaires *in vitro* ou biochimiques.

Les ADA dirigés alors contre des épitopes non liés à l'activité thérapeutique du Biosimilaire, appelés les ADA non-neutralisants, seront associés à des conséquences cliniques moins importantes ou négligeables (74).

## **5.2 Les conséquences sur le patient :**

### **5.2.1 Les allergies :**

Les réactions d'immunogénicité se manifestent sous forme de réactions d'hypersensibilité qui peuvent être immédiates ou retardées. Elles peuvent être de type anaphylactoïde (non médiée par les IgE) ou anaphylactique (hypersensibilité de type I, médiées par les IgE).

#### **5.2.1.1 Des réactions à l'injection IgE-dépendantes :**

C'est une hypersensibilité de type I, immédiate/anaphylactique, qui se manifeste le plus souvent par une inflammation en présence du biosimilaire. La sensibilité et l'intensité de la réponse peuvent varier d'une inflammation localisée à une altération de plusieurs organes.

Cette réaction allergique se développe en trois temps :

La rencontre des cellules immunitaires avec le biosimilaire dans des conditions

Inflammatoires lors de l'injection de ce dernier, une phase de latence d'environ 10 jours dans laquelle des cellules immunitaires spécifiques du biosimilaire vont se produire ainsi que le développement des ADA, et une réponse immunitaire exacerbée dès l'administration suivante de la molécule au patient (74).

Lorsque l'IgE impliquée dans ce type d'allergies rencontre la protéine thérapeutique du biosimilaire, pour laquelle elle présente une bonne affinité, elle active les récepteurs de forte affinité pour sa partie effectrice présents en surface de cellules mastocytes ou basophiles, en latence dans les tissus. Ces derniers génèrent alors une réponse immunitaire disproportionnée, appelée réaction à l'injection, qui se déroule en 3 phases :

- Une réaction aigue : la sécrétion de molécules vasoactives (histamine, prostaglandines, leucotriènes, *etc.*) dilatation des artérioles, augmentation de la perméabilité veineuse et apparition des rougeurs cutanées. Ces molécules sont

relâchées dans le sang périphérique et ont un effet global, c'est le choc anaphylactique. Ces symptômes peuvent s'arrêter à une inflammation locale, ou mener à une hypotension, un bronchospasme, un œdème laryngé ou pharyngé, une respiration sifflante et/ou une urticaire (75).

- Une réaction tardive : survient 10 à 12 heures après le choc anaphylactique par le recrutement de lymphocytes CD4+ Th2. Ils sécrètent des cytokines pro inflammatoires qui provoquent entre autres des rougeurs et gonflements au niveau local
- Une inflammation chronique : caractérisée par une infiltration de cellules immunitaires pro-inflammatoires dans les tissus touchés pouvant être activées rapidement à chaque nouvelle rencontre avec l'Ag qui est le biosimilaire (76).

#### **5.2.1.2 Des réactions IgE-indépendante :**

Ces réactions aussi appelées « pseudo-anaphylactiques » ne sont pas de nature Allergique, même si elles présentent les mêmes premiers symptômes d'une allergie. Ses symptômes peuvent apparaître dès la première injection du biosimilaire, et varient d'une inflammation locale à la mise en danger de la vie du patient. Ce type de réactions est souvent causé par les anticorps monoclonaux utilisés en cancérologie.

Lorsqu'un anticorps monoclonal se fixe à son Ag exprimé par une cellule immunitaire circulant dans le sang, des chimiokines attirant d'autres cellules immunitaires effectrices et des molécules du complément sont sécrétées. Les cellules recrutées possédant une activité cytotoxique tuent la cellule cible qui relâche des cytokines pro-inflammatoires dans la circulation sanguine, les cellules recrutées relâchent à leur tour ce type de cytokines. Cette réaction peut s'amplifier, allant d'un relargage cytokinique à un Syndrome de libération de cytokines (77).

En plus des réactions aiguës, il faut tenir compte des réactions d'hypersensibilité retardée (Médiées par les cellules T) et des réactions médiées par les complexes immuns.

Le risque de telles réactions peut être plus élevé lorsque l'intervalle sans médicament augmente ou lorsqu'elles thérapies sont changées de façon répétée parmi les membres d'une classe de produits.

### **5.2.2 Les anticorps préexistants :**

Suite à l'exposition du patient à un Ag environnemental, ou à une molécule thérapeutique préalablement administrée, qui sont homologues de séquence ou de conformation avec la molécule du biosimilaire, le corps développe des ADA avant le début de traitement : c'est une réactivité préexistante. Dès la première administration du biosimilaire, ces ADA préexistants peuvent le reconnaître et par conséquent déclencher une réponse immunitaire. Ils peuvent ne pas induire des symptômes, comme ils peuvent aussi influencer la pharmacocinétique, ou être neutralisants (77).

### **5.2.3 Réactivité croisée avec une protéine analogue endogène et auto-immunité :**

Les ADA dirigés contre la molécule du biosimilaire et qui ont des homologues endogènes, peuvent présenter une réaction croisée avec ces protéines endogènes, et risquent alors d'induire des symptômes auto-immuns (78).

## **6. L'évaluation clinique de l'immunogénicité :**

Le but de l'évaluation clinique de l'immunogénicité est d'évaluer les différences potentielles entre le produit biosimilaire et le produit de référence dans l'incidence et la gravité des réponses immunitaires humaines. Le fait de prouver qu'il n'existe pas de différences cliniquement significatives entre les profils d'immunogénicité de ces deux produits, est un élément clé dans la démonstration de la biosimilarité. Il est important démontrer que l'immunogénicité du biosimilaire proposé n'est pas supérieure à celle du produit de référence.

Cette évaluation est concrétisée par des tests qui se font lors du développement du biosimilaire et longtemps après sa commercialisation. Le principe de ces tests est la mesure des anticorps ADA neutralisants et non-neutralisants dans le sérum des patients traités par cette molécule.

La population choisie pour cette étude comparative doit être justifiée. Généralement c'est la même population et le même schéma thérapeutique du produit de référence pour lesquels le développement des réactions immunitaires avec des effets indésirables est le plus susceptible de se produire.

La période de suivi doit être déterminée selon : le temps nécessaire pour le développement des ADA et l'apparition des symptômes, l'évolution de leur disparition après l'arrêt du traitement, et la durée d'administration du produit.

En effet, l'étendu du programme d'immunogénicité varie en fonction de divers facteurs, y compris la mesure de la similarité analytique entre le produit proposé et le produit de référence, et les conséquences cliniques de la réponse immunitaire pour le produit de référence :

- ✓ Si la conséquence clinique du princeps est grave, des évaluations de l'immunogénicité plus étendues seront probablement nécessaires pour le biosimilaire.
- ✓ Si la réponse immunitaire au produit de référence est rare, deux études distinctes peuvent être suffisantes pour évaluer l'immunogénicité du biosimilaire:(1) une étude pré-commercialisation conçue pour détecter des différences majeures dans la réponse immunitaire entre les deux produits et (2) une étude post-commercialisation visant à détecter plus des différences subtiles dans l'immunogénicité (79).

La mise au point d'une stratégie d'analyse adaptée au plan de traitement prévu est essentielle pour élucider la pertinence clinique des données d'immunogénicité. Les tests

et les stratégies d'analyse pour l'évaluation des réponses immunitaires doivent être sélectionnés avant le développement clinique, en prenant en compte le produit, les patients et les paramètres cliniques attendus.

Le demandeur doit fournir toutes les informations nécessaires et les données complètes de validation du test pour une évaluation dans le cadre de la demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

La stratégie comprend :

- 1) un test de dépistage pour identifier les échantillons/patients positifs aux anticorps,
- 2) une procédure pour confirmer la présence d'anticorps et déterminer la spécificité des anticorps, puis
- 3) des tests pour évaluer la capacité de neutralisation des anticorps.

Tout écart par rapport à ce concept doit être dûment justifié et discuté avec les autorités réglementaires avant la soumission de la demande d'AMM. Dans certains cas, il peut être nécessaire de tester la réactivité croisée des échantillons avec d'autres produits basés sur la même protéine et la protéine endogène, si cela a des implications sur l'efficacité et la sécurité cliniques (80).

Il existe six tests principaux de détection des ADA, chacun d'eux comporte des paramètres différents (seuil de détection, précision...etc.), ils sont représentés par le tableau ci-dessous :

**Tableau 6 : les principaux tests de détection des ADA**

Le test	Le principe	Les avantages	Les inconvénients
<b>ELISA</b>	<p>-les ADA sont Capturés par la Protéine fixée au Support</p> <p>-leur détection se fait par des anti-ADA ou la PT Marquée.</p>	<p>Sensibilité acceptable</p> <p>-haute capacité de criblage</p> <p>-cout faible</p>	<p>- les résultats peuvent être perturbés par la présence de la PT circulante, et ne pas détecter les ADA issus d'une réponse primaire</p>
<b>RIA (Radio-ImmunoAssay)</b>	<p>-les ADA sont capturés sur une colonne Sepharos</p> <p>-leur détection se fait par la protéine radio-marquée</p>	<p>-excellente sensibilité</p> <p>-capacité de criblage modérée</p> <p>-cout modéré</p>	<p>-les résultats peuvent être perturbés par la présence de la PT circulante, et ne pas détecter les ADA issus d'une réponse primaire</p>

<p><b>ECLA</b> <b>(Electrochemi_</b> <b>luminescennceassay)</b></p>	<p>-les ADA sont capturés par la PT -leur détection se fait par des anti-ADA marqués ou Ruthénium</p>	<p>-excellente sensibilité -haute capacité de criblage</p>	<p>-cout important selon les réactifs -ne détecte pas bien les ADA dissociant rapidement</p>
<p><b>SPR (Surface plasmonresonance)</b></p>	<p>-les ADA sont capturés par la PT ;leur détection se fait par oscillations de la résonance causées par la liaison à la PT</p>	<p>-excellente sensibilité -peut détecter les ADA issus de la réponse primaire et déterminer la classe des ADA</p>	<p>-cout important</p>
<p><b>PIA (pH-shift anti-Idiotype Antigen-binding)</b></p>	<p>-les complexes immuns sont dissociés par changement de pH pour libérer les ADA -les ADA libre et les ADA libérés sont détectés par un test de liaison à l'Ag(ELISA, RIA)</p>	<p>-peut différencier entre les ADA libres et les ADA liés à la PT -n'est pas sensible à la présence des PT circulantes</p>	<p>-peu utilisé car son développement est récent</p>

<b>HMSA (Homogenous mobility shift assay)</b>	- les complexes immuns sont dissociés par baisse de pH pour libérer les ADA ; ils sont capturés par la PT marquée et détectés par fluorescence	-excellente sensibilité( détecte toute classe d'ADA) -insensible à la présence de PT circulante	-capacité de criblage faible -cout important -développement Récent
---	--	---	--

## 7. Réglementation des médicaments biologiques :

L'UE étant la pionnière mondiale en matière de réglementation des biosimilaires, devant le Japon et les EU, nous développerons davantage cette zone.

### 7.1. Union Européenne :

#### *7.1.1. Procédure centralisée :*

Tout laboratoire désirant copier un médicament biologique tombé dans le domaine public en UE doit passer par la procédure d'enregistrement appropriée. Il existe quatre procédures différentes pour enregistrer un médicament en UE : nationale, décentralisée, de reconnaissance mutuelle ou centralisée.

Pour certains types de médicaments, la procédure centralisée est obligatoire. C'est le cas pour les médicaments issus de la biotechnologie et des médicaments ciblant des affections spécifiques est elle que le cancer, le diabète, la neurodégénérescence et les maladies auto-immunes conformément à l'article 3, paragraphe 1 du règlement (CE) n°726/2004 (81).

Ce type de procédure consiste en une seule demande, une seule évaluation, et si la demande est acceptée, l'autorisation de commercialisation sera valable dans toute l'UE.

Cette obligation est due à la complexité des molécules biologiques et de leur procédé de fabrication ainsi qu'à la nécessité de les rendre accessibles à un maximum de patients. En effet, avec une seule AMM le médicament peut potentiellement être commercialisé dans tous les pays de l'UE. De plus, le même nom de marque doit être utilisé ce qui permet d'assurer une meilleure traçabilité, ce qui est primordial avec ce type de médicament. La quasi-totalité des biosimilaires autorisés en UE ont été approuvés via cette procédure puisqu'ils sont issus de la biotechnologie (82).

### ***7.1.2. Base juridique et guidelines :***

Afin d'encadrer et de guider les fabricants souhaitant commercialiser un biosimilaire, différents textes ont été mis en place au niveau européen : des directives, des règlements et des guidelines.

Une entreprise qui choisit de développer un biosimilaire doit le faire sur la base d'un dossier complet comprenant principalement des études de comparaison avec le médicament de référence et des données sur la qualité, la sécurité et l'efficacité (83).

Les exigences juridiques et les procédures de demandes d'AMM pour les biosimilaires sont définies dans la directive 2001/83/CE et le règlement (CE) n°726/2004. La directive précise notamment à l'article 10, paragraphe 4 que « Lorsqu'un médicament biologique qui est similaire à un médicament, biologique de référence ne remplit pas les conditions figurant dans la définition des médicaments génériques (...) les résultats des essais précliniques ou cliniques appropriés relatifs à ces conditions doivent être fournis. ». Les données à fournir sont donc différentes de celles pour l'enregistrement d'un générique.

Au niveau de l'EMA, c'est le groupe de travail Biosimilar Medicinal Products Working Party (BMWP) qui fournit des recommandations au Committee for Medicinal Products for Human Use (lui-même en charge d'évaluer les demandes relatives aux médicaments lors des procédures centralisées d'AMM) sur les questions cliniques ou non cliniques ayant directement ou indirectement traités aux médicaments biosimilaires et sur la conduite des tests sur les biosimilaires.

Le BMWP publie des guidelines communautaires pour harmoniser les exigences en matière de démonstration de la qualité, la sécurité et l'efficacité des biosimilaires. Ces guidelines servent d'appui aux demandeurs ou titulaires d'AMM et aux autorités de santé compétentes. (84) Les guidelines suivantes doivent être prises en compte :

- « Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues »

- « Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues »

Des directives spécifiques aux produits sont également disponibles sur le site internet de l'EMA.

Comme pour tout médicament, la décision finale d'octroi de l'AMM revient à la Commission Européenne (CE) après avis de l'EMA (84).

### ***7.1.3. Dossier d'enregistrement des biosimilaires :***

Pour pouvoir mettre sur le marché son biosimilaire, le demandeur doit démontrer que la balance Bénéfice /risque est favorable, c'est-à-dire que les bénéfices de l'utilisation du médicament sont supérieurs aux risques qu'il peut engendrer.

En raison de la complexité des produits biologiques, la procédure de demande d'AMM d'un biosimilaire est différente de celle pour un médicament générique. Les biosimilaires nécessitent un dossier complexe car la stricte copie n'est pas possible, notamment à cause de l'utilisation d'une lignée cellulaire unique, les MCB. Ils doivent prouver leur haute similarité en matière de caractéristiques de qualité, d'activité biologique, de sécurité et d'efficacité avec le médicament de référence alors que pour les génériques il s'agit de démontrer une bioéquivalence et la qualité. Un plus grand nombre d'études est donc nécessaire (85).

Exigences du dossier d'enregistrement AMM	Génériques	Biosimilaires
Module 1 : Administratif	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Module 2 : Résumé	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Module 3 : Qualité Etudes biopharmaceutiques : preuves de bioéquivalence	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> + études comparant la structure et l'activité biologique du médicament biosimilaire avec celles du médicament de référence
Module 4 : Préclinique Etudes précliniques de toxicité (sécurité)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Module 5 : Clinique Etudes d'efficacité et de tolérance	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Plan de Gestion de Risques	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Pharmacovigilance	Suivi demandé	Suivi demandé

**Tableau 7 : différences du dossier d'enregistrement d'AMM entre les génériques et biosimilaires**

La démonstration de cette haute similarité nécessite des études de comparabilité. Une approche progressive à travers trois grands domaines d'études est recommandée :

-**Comparaison de la qualité:** pour démontrer la forte similarité des structures moléculaires,

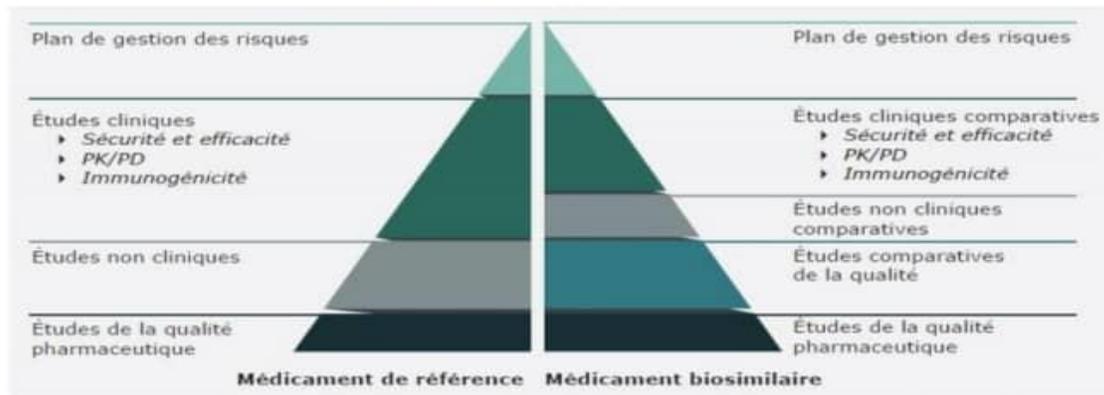
des propriétés physico-chimiques et de l'activité biologique

- **Comparaison préclinique:** pour démontrer la comparabilité des profils pharmacotoxicologiques et s'assurer que les différences n'ont pas d'incidence sur la sécurité et l'efficacité ;

- **Comparaison clinique:** pour démontrer la comparabilité des profils pharmacocinétique (PK) et pharmacodynamique (PD) et s'assurer que les différences n'ont pas d'incidence sur la sécurité et l'efficacité du médicament.

Toute différence entre le candidat biosimilaire et la référence doit être dûment justifiée par rapport à leur potentiel impact sur la sécurité et l'efficacité. Si des différences significatives sont retrouvées alors le médicament candidat ne pourra pas prétendre à la biosimilarité et le fabricant devra procéder à une demande d'AMM complète, comme pour tout nouveau médicament biologique (85).

Par ailleurs, les données cliniques et précliniques nécessaires sont différentes de celles requises pour un médicament biologique avec une nouvelle substance active. Ces différences d'exigences s'expliquent par le fait que, grâce à la démonstration de la similarité, le biosimilaire bénéficie de l'expérience acquise par le médicament de référence en matière de sécurité et d'efficacité. L'objectif n'est donc pas d'évaluer la sécurité et l'efficacité du biosimilaire chez le patient car elles ont déjà été établies avec le médicament biologique de référence, mais bien d'évaluer l'impact des différences sur l'efficacité et la sécurité (85).



**Figure 17 : Comparaison des données requises par l'EMA pour l'approbation d'un biosimilaire versus un médicament biologique de référence**

Au moment de la demande, un Plan de Gestion des Risques (PGR) doit être fourni. Il inclut les obligations de traçabilité et de suivi après la commercialisation dans le but de combler les incertitudes identifiées au moment de l'évaluation et renforcer la sécurité (86).

## **7.2. Autres zones :**

La notion de « biosimilaire » n'est pas encore harmonisée à l'échelle mondiale. Sa définition et les critères d'enregistrement varient d'un pays ou zone géographique à l'autre.

### **7.2.1. Japon**

Avec l'UE, le Japon est l'un des premiers pays à avoir mis une procédure d'enregistrement spécifique pour les biosimilaires ainsi que des guidelines. La publication de la première guideline « Guideline for quality, safety and efficacy assurance of biosimilar products » par le Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW) a eu lieu en mars 2009 soit quatre ans après l'UE.

L'enregistrement du premier biosimilaire, l'hormone de croissance Omnitrope, s'est fait la même année (87) (88).

Les autorités japonaises statuent sur le fait que le biosimilaire doit « démontrer une similitude suffisante pour garantir la sécurité et l'efficacité, plutôt qu'une stricte identité ». Elles ajoutent que les dossiers d'enregistrement sont différents des dossiers génériques, qu'ils sont évalués au cas par cas et qu'ils doivent comporter, comme dans le cas d'une nouvelle entité biologique ou chimique, des données sur les essais cliniques, les méthodes de fabrication et la stabilité à long terme. Le contexte réglementaire est cependant moins précis qu'en UE (89).

### **7.2.2. Etats-Unis**

Les EU ont mis en place une réglementation spécifique pour les biosimilaires après l'UE et le Japon. Le premier acte législatif reconnaissant la notion de « biosimilaire » est la loi BPCI. Elle a été votée en 2009 et promulgué le 23 mars 2010 dans le cadre de la réforme de la santé par le Président Obama.

La loi BPCI permet une procédure d'enregistrement abrégée pour les produits biologiques ayant démontré être hautement similaire ou interchangeable avec un produit biologique déjà approuvé par la FDA. En vertu de cette loi, le demandeur doit démontrer que le candidat biosimilaire n'a pas de différence cliniquement significative avec le produit de référence en termes de qualité, sécurité et efficacité (90).

En mars 2015, le premier médicament biologique fut approuvé par la FDA via la procédure des biosimilaires, soit presque 10 ans après la commercialisation du premier biosimilaire en UE (91).

### ***7.2.3. Autres pays du monde***

La plupart des autres pays du monde n'ont pas de réglementation spécifique, et d'autres, comme la Corée du Sud, l'Afrique du Sud ou l'Australie ont adopté une législation proche de la législation européenne. (92) Par exemple, concernant l'Amérique Latine (données de 2015), l'instauration d'une réglementation est disparate car aucun consensus n'est fait entre les différents pays : le Brésil et l'Argentine sont très avancés en matière de réglementation des médicaments biosimilaires contrairement à d'autres comme le Chili ou la Colombie. Selon les pays, la réglementation nationale ne couvre pas tous les champs des médicaments biologiques ou alors de manière insuffisante. Par exemple au Mexique, la « Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios » ne se prononce pas en ce qui concerne les règles d'appellation des biosimilaires qui sont pourtant très importantes pour assurer la traçabilité. En outre, à cause d'une instabilité sociale ou politique, certaines autorités de santé ont des difficultés à faire appliquer les textes réglementaires lorsqu'ils existent et cela peut donc compromettre leurs capacités à évaluer des médicaments et des dossiers de pharmacovigilance.

PARTIE III :

Exemples des Biosimilaires

Rituximab & L'insuline

Glargine

## **1 Rituximab :**

### **INTRODUCTION:**

#### **Immunogénicité du biosimilaire GP2013 du rituximab : un événement rare, mais pas sans conséquences. . .**



J. Avouac<sup>1,\*</sup>, R. Cougnaud-Murail<sup>1</sup>, C. Goulvestre<sup>2</sup>, S. Dumas<sup>3</sup>,  
A. Molto<sup>1</sup>, C. Miceli Richard<sup>1</sup>, O. Conort<sup>4</sup>, F. Batteux<sup>5</sup>,  
Y. Allanore<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Rhumatologie, Hôpital Cochin, Paris

<sup>2</sup> Immunologie, Hôpital Cochin-Port Royal - Centre de planification et  
d'éducation familiale, Paris

<sup>3</sup> Hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg Saint Jacques, Paris

<sup>4</sup> Service de pharmacie clinique, Hôpital Cochin, Paris

<sup>5</sup> Immunologie biologique, Hôpital Cochin-Port Royal - Centre de  
Planification et d'Education Familiale, Paris

<sup>6</sup> Rhumatologie A, Hôpital Cochin, Paris

\* Auteur correspondant.

Le Rituximab (RTX) est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre la molécule de surface CD20 (anticorps anti-CD20). Il est souvent indiqué dans la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde (PR) ainsi que les leucémies lymphoïdes chroniques. La bioéquivalence entre le Rituximab princeps et son biosimilaire GP2013 a été démontré dans la PR (93).

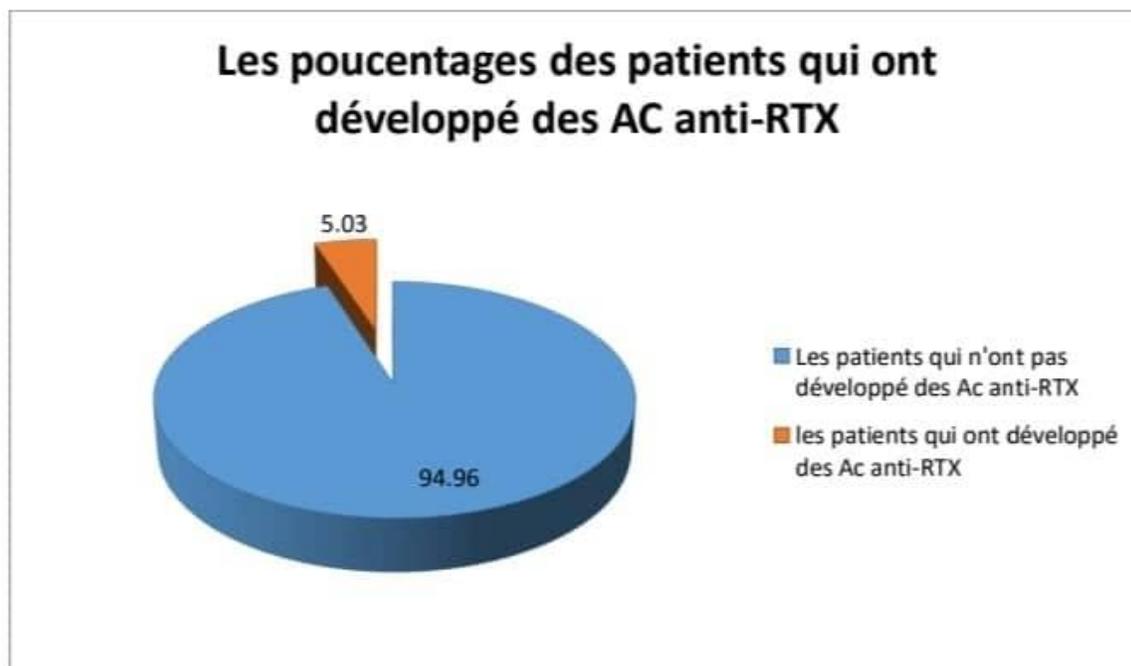
### **OBJECTIF :**

-Etudier le risque d'immunogénicité chez des patients traités par GP2013 pour la PR, et montrer que l'immunogénicité est un phénomène rare (93).

- **Lieu de l'étude** : Le service de rhumatologie de l'hôpital Cochin.
- **Durée de l'étude** : Entre septembre 2018 et aout 2020.
- **Type d'étude** : Etude prospective randomisée contrôlée.
  
- **Population** : 159 patients consécutifs traités par GP2013, avec un âge moyen de 59-13 ans et une durée moyenne de la maladie 18-11 ans.
- **Méthode** : Dosage des anticorps anti RTX par la technique ELISA (en utilisant le coffret LISA-TRACKER Duo Rituximab, qui permet le dosage par méthode ELISA les anticorps anti-Rituximab dans le sérum) [93].

## **RESULTATS :**

L'analyse du 1er prélèvement, réalisé avant la seconde perfusion de GP2013 a donné :



**Figure 18 : Fréquence du développement des Ac anti-RTX**

-Sur les 159 prélèvements collectés, 8 prélèvements sont positifs soit environs 5% des patients. 151 patients n'ont pas développé des anticorps et qui représentent environ 95% des patients.

- L'étude a aussi montré que parmi les 8 patients immunisés, deux groupes sont isolés :

- Un groupe de 5 patients avec un faible taux d'Ac, sans conséquence clinique→ observée (maintien du traitement, absence de perte d'efficacité, et une seule réaction allergique mineure).
- Un groupe de 3 patients avec fort taux d'Ac, caractérisé par une réaction→ allergique sévère lors de la seconde perfusion de GP2013 ayant conduit à l'arrêt du traitement chez un des trois patients (93).

### **DISCUSSION:**

Nous avons remarqué que la fréquence du développement des Ac anti-RTX est très faible (5 %), et que chez les patients immunisés, la gravité des conséquences de cette immunisation dépend du taux d'Ac produits. Dans ce cas, le pourcentage des patients qui ont développé un taux élevé d'Ac anti-RTX égale à : 1,88 % qui est très faible[97].  
CONCLUSION : L'immunogénicité des patients traités par RTX est un phénomène rare. Notre objectif est donc atteint (93).

## 2 L'insuline Glargine :



### Développement des biosimilaires de l'insuline : exemple de l'insuline glargine LY2963016

Jean-Jacques Altman<sup>1</sup>, Nicolas Chevalier<sup>2</sup>, Brigitte Delemer<sup>3</sup>, Florence Travert<sup>4</sup>, Imane Benabbad<sup>5</sup>

Reçu le 27 mars 2017  
Accepté le 14 juin 2018  
Disponible sur internet le :  
25 septembre 2018

1. Hôpital européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France
2. CHU de Nice, département d'endocrinologie, diabétologie & médecine de la reproduction, 06202 Nice, France
3. CHU de Reims, service d'endocrinologie, maladies métaboliques, pôle digestif, 51100 Reims, France
4. Hôpital Bichat, 75877 Paris, France
5. Lilly France, 92521 Neuilly-sur-Seine, Paris, France

**Correspondance :**

J.J. Altman, Hôpital Européen Georges-Pompidou, 20, rue Leblanc, 75015 Paris, France.  
jean-jacques.altman@aphp.fr

### **INTRODUCTION :**

ABASAGLAR® est un biosimilaire de l'insuline glargine LANTUS®, il représente la première insuline biosimilaire à avoir reçu une autorisation de mise sur le marché en Europe.

Cet analogue de l'insuline humaine, d'action lente, est indiqué comme un traitement de première intention dans le diabète sucré de l'adulte, de l'adolescent et de l'enfant à partir de 2ans. Et un traitement de deuxième intention dans le diabète de type 2 de l'adulte. Elle nécessite une seule administration sous-cutanée par jour (94).

### **Objectif :**

- Comparer le profil d'immunogénicité et les effets potentiels sur les résultats cliniques de l'insuline glargine LY2963016 (LY IGLar) et de l'insuline glargine Lantus® (IGlar), produits ayant des séquences d'acides aminés primaires identiques, chez des patients atteints de diabète sucré de type 1 (DT1) (94).

- Montrer la similarité de l'insuline LY IGLAR (ABASAGLAR ®) par rapport à l'insuline de référence IGLar (LANTUS ®) sur la réduction de la glycémie moyenne évaluée par le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1C) après 24 semaines de traitement ainsi que l'incidence des événements d'hypoglycémie, lorsque ces deux insulines sont administrées d'une manière randomisée une fois par jour à des patients diabétiques de type 1 (94).

## **METHODE :**

**Lieu de l'étude** : L'étude a été réalisé par :

1. **Jacques Altman**, à l'Hôpital européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France
2. **Nicolas Chevalier**, au CHU de Nice, département d'endocrinologie, diabétologie & médecine de la reproduction, 06202 Nice, France
3. **Brigitte Delemer**, au CHU de Reims, service d'endocrinologie, maladies métaboliques, pôle digestif, 51100 Reims, France
4. **Florence Travert**, à l'Hôpital Bichat, 75877 Paris, France
5. **Imane Benabbad**, Lilly France, 92521 Neuilly-sur-Seine, Paris, France.

**Période de l'étude** :24 semaines.

**Le type de l'étude** : prospective, parallèle, ouverte, randomisée.

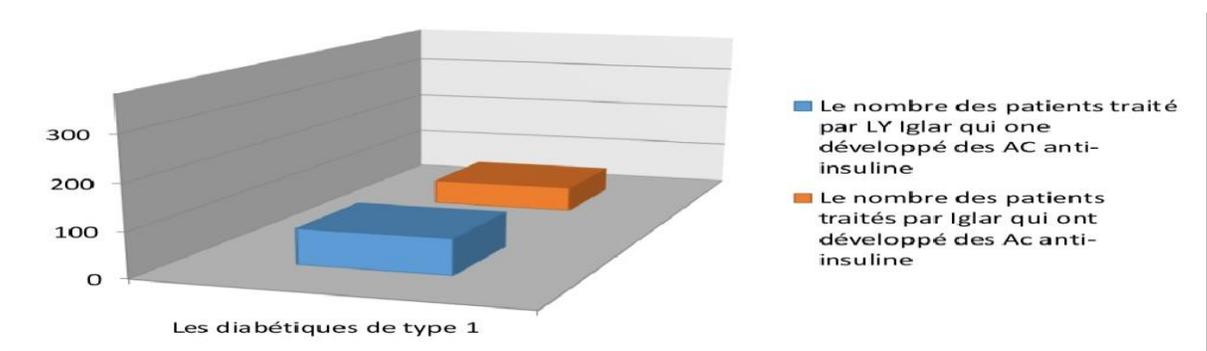
**La méthode** : Les échantillons pour la détermination des anticorps ont été collectés avant la randomisation et lors de visites préspecifiées pendant le traitement. La détermination des anticorps anti-insuline a été effectuée par Millipore (St. Charles, MO, USA). Les anticorps anti-LY IGLar ont été quantifiés en pourcentage de liaison à l'aide d'un dosage radio-immunologique où le pourcentage de liaison est le pourcentage de la quantité totale de traceur radiomarqué (LY IGLar) qui copécipite avec les anticorps (94).

**Tableau 8: Résumé sur les informations qui concernent les patients incriminés dans cette étude.**

<b>La catégorie des patients</b>	Diabétiques de type 1	
<b>Le nombre total des patients</b>	N=535	
<b>Le nombre de patients qui ont reçu chaque type d'insuline</b>	LY IGlAr	IGlar
	N=268	N=267
<b>Autres médicaments pris durant la période d'essais</b>	L'insuline rapide Lispro avant les repas	
<b>Les critères d'inclusion</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- L'HbA1c des patients devait être inférieur à 11,0 %</li> <li>- les patients ne devaient avoir présenté aucun épisode d'hypoglycémie sévère au cours des 6 derniers mois</li> </ul>	

## RESULTATS :

### 1. L'IMMUNOGENICITE



**Figure 19 : Le développement des anticorps anti-insuline glargine chez les patients traités par le biosimilaire LY IGlAr et le princeps IGlAr**

- Chez les diabétiques de type 1, 80 patients traités par le biosimilaire LY IGlAr ont développé des anticorps anti-insuline glargine (30%), versus 90 patients traités par le princeps IGlAr (34%) (94).

#### **DISCUSSION 1 :**

La proportion de patients atteints de DT1 présentant des anticorps anti-insuline détectables était similaire entre les deux groupes de traitement. Aucune différence statistiquement significative entre les traitements n'a été observée car : après 24 semaines :

30,2% des patients traités par LY IGlAr , versus 33,7% dans le cas des patients traités par l'IGlar ;  $p = 0,404$  ;  $p$  est supérieur à 0,05 donc la différence entre les pourcentages des patients qui ont développé des anticorps chez les deux médicaments, est non significative (94).

#### **CONCLUSION 1 :**

Le biosimilaire LY IGlAr et le princeps IGlAr ont des profils d'immunogénicité Similaires. (94).

## 2 L'EFFICACITE CLINIQUE :

La variation du taux d'HbA1c (Valeur initiale – Valeur après 24 sem)	Le biosimilaire LY IGlAr	Le princeps IGlAr	La différence LY IGlAr–IGlar
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Moyenne des moindres carrées (%)</li> <li>➤ Intervalle de confiance 95%</li> <li>➤ □ P</li> </ul>	0,350%	0,456%	<b>0,106%</b>  [-0,005 ; 0,217] <b>0,061</b>
Les hypoglycémies : Taux global après 24 sem (événements/patient/année)	87	89	/

**Tableau 9: Variations moyennes des taux d'HbA1C**

- **Le taux d'Hémoglobine glyquée :** Après 24 semaines de traitement, chez les diabétiques de type 1 : le taux d'HbA1c initial qui vaut : 7,8% est diminué de 0,35% par le biosimilaire LY IGlAr, et de 0,46% par le princeps IGlAr (94).
- **Les événements d'hypoglycémie :** Après 24 semaines, une moyenne de 87 Evénements /patient/année sont déclarés chez les patients traités par le biosimilaire LY IGlAr, et 89 événements/patient/année chez les patients traités par le princeps IGlAr (94).

### DISCUSSION 2 :

La différence entre la diminution du taux de l'HbA1c du LY IGlAr et du IGlAr qui vaut : 0,106%, est incluse dans l'intervalle de confiance 95% qui se situe

entre :

[-0,005 ;0,217] et le p qui est égal à 0,061 est supérieur à 0,05 ( $p > 0,05$ ). IL n'y a donc pas de différence significative entre les traitements pour les autres mesures d'efficacité (94).

Aussi, l'étude a montré que dans les deux cas, l'incidence moyenne des hypoglycémies est comparable entre les deux insulines glargine testées (94).

## **CONCLUSION 2 :**

LY IGLar et IGLar, ont permis un contrôle glycémique similaire, ainsi que des profils de sécurité similaires.

Cette étude a montré que l'immunogénicité du biosimilaire LY IGLar est comparable par rapport à celle du princeps IGLar, ainsi que la similarité du contrôle glycémique et du profil de sécurité des deux. Notre objectif est donc atteint (94).

## *Conclusion :*

Les biomédicaments sont des médicaments dont les substances actives sont produites à partir d'une source biologique (cellule ou organisme vivant). Ces molécules innovantes ont acquis une place croissante au fil des années pour la prise en charge de patients atteints de pathologies lourdes, et sont aujourd'hui utilisées dans de nombreux domaines thérapeutiques tels que la rhumatologie, la gastro-entérologie, la dermatologie, la diabétologie ou encore la cancérologie.

Comme les médicaments biosimilaires sont de nature protéique, et d'une grande complexité structurale, ils risquent de déclencher une réponse non voulue du système immunitaire, qui se manifeste par la formation des anticorps anti médicaments (ADA) : c'est l'immunogénicité.

Cette immunogénicité peut ou non avoir des conséquences sur l'efficacité ou la sécurité, cela dépend des types d'ADA produits et de leurs taux. Certains ADA neutralisent l'effet du produit en se liant sur son site d'action, tandis que d'autres ne sont pas neutralisants, ils modifient la pharmacocinétique du médicament par formation des complexes : Biosimilaire-ADA.

Parmi les conséquences de l'immunogénicité sur les patients : l'apparition des réactions allergiques, et un risque d'auto-immunité en cas de présence d'une protéine endogène analogue à la protéine thérapeutique.

Les exemples d'études faites sur les biosimilaires Rituximab et l'insuline ABASAGLAR®, ont montré que l'immunogénicité du Rituximab est un phénomène rare, et que la fréquence de l'apparition de cette immunogénicité du biosimilaire de l'insuline ainsi que son efficacité, son comparables à ceux de l'insuline de référence.

Les objectifs de ce travail sont atteints. Nous avons trouvé que l'immunogénicité des médicaments biosimilaires est manifestée par le développement des ADA. Elle est influencée par plusieurs facteurs de risques, liés aux patients : tels que Facteurs génétiques modulant la réponse immunitaire, Facteurs génétiques liés à un défaut génétique et Polymorphisme, ou liés au produit : comme Origine, Structure et la formulation.

# Références :

- (1) PIERRE AVENAS,(livre) « ETYMOLOGIE A' propose des biotechnologie\_La Jaune et la Rouge ».
- (2) Prof. A. TANTAOUI ELARAKI « cours torique »2012\_2013
- (3) L .Pénasse « la chimie et la vie » à propos :la biotechnologie et le génie génétique :découvert récent .octobre 1982.
- (4) Ces biotechnologies qui révolutionnent la santé | Leem,» *Leem*, 2018.
- (5) État des lieux sur les médicaments biosimilaires. Ansm, “État Des Lieux Sur LesMédicaments Biosimilaires,» *L'agence Natl. Secur. du médicament des Prod. Santé*,2016, [Online]: <https://ansm.sante.fr/>.
- (6) Jean-Louis Prugnaud et Jean-Hugues Trouvin(livre) les biosimilaire
- (7) EMA, CHMP. Guideline on similar biological medicinal products. [Internet]. 23 octobre 2014 [cité 5 mars 2019]. Disponible sur [:https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientificguideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientificguideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf)
- (8) Roselyne Messal, le défi des biomédicaments,l'actualité chimique - mars 2007 - n° 306
- (9) Code de la Sante Publique ,Article L5121 cree par LOI n2013.1203 du 23 december 2013 art .47
- (10) les entreprises du médicament \_INNOVATIO & SANTE\_ les biomédicaments, une nouvelle génération du traitemen.
- (11) [presse@pasteur.fr](mailto:presse@pasteur.fr)<http://www.pasteur.fr/actu/presse/infos> institut Pasteur

- (12) Le journal FEMMES Santé ENZYME ,D2FINITION,ROLE
- (13) La guideline ICH Q5D "Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Product"
- (14) 16.Article extrait de l ouvrage (Larousse médicale) ENCYLOPEDIE MEDICAL
- (15) D. A. Meriem, "Introduction Au Génie Génétique," 2021.
- (16) "Définition | Hémophilie - Hémophilie classique - Maladie de Christmas - Maladie de Rosenthal | Futur Santé." <https://www.futurasciences.com/sante/definitions/medecine-hemophilie-12477/> (accessed Jun. 30, 2021)
- (17)[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.monsystemeimmunitaire.fr%2Fquel-est-le-role-de-linterleukine-1-beta-au-sein-de-limmunit%C3%A9%3D%3DIwAR2S8301Uekp6K396qqxoHCaEcWF\\_r66piO0rjNchhTqFmFdR0\\_YfwUczAQ&h=AT1W2A3bkWJ5MkOy2Eda\\_oh7Qm04SoWBaZJakI4AgxGGgaEtSHT2EkNUBaU1CG9JdgMikXgifr8G34rK2aS1Yy7p3kmU3UQFns2UXMTzNaVmpleC3fjn5CeVhFZYbUAQyr8D](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.monsystemeimmunitaire.fr%2Fquel-est-le-role-de-linterleukine-1-beta-au-sein-de-limmunit%C3%A9%3D%3DIwAR2S8301Uekp6K396qqxoHCaEcWF_r66piO0rjNchhTqFmFdR0_YfwUczAQ&h=AT1W2A3bkWJ5MkOy2Eda_oh7Qm04SoWBaZJakI4AgxGGgaEtSHT2EkNUBaU1CG9JdgMikXgifr8G34rK2aS1Yy7p3kmU3UQFns2UXMTzNaVmpleC3fjn5CeVhFZYbUAQyr8D)
- (18) S. Pestka, C. D. Krause, and M. R. Walter, "Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors," *Immunological Reviews*, vol. 202. *Immunol Rev*, pp. 8–32, Dec. 2004, doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x
- (19) K. Bachmaier, S. Toya, and A. B. Malik, "Therapeutic administration of the chemokine CXCL1/KC abrogates autoimmune inflammatory heart disease," *PLoS One*, vol. 9, no. 2, Feb. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0089647.
- (20) N. Rainville, E. Jachimowicz, and D. M. Wojchowski, "Targeting EPO and EPO receptor pathways in anemia and dysregulated erythropoiesis," *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 20, no. 3. Taylor and Francis Ltd, pp. 287–301, Mar. 03, 2016, doi: 10.1517/14728222.2016.1090975.

- (21) J-L. Prugnaud, J-H. Trouvin, Les bio similaires, Springer, 2011.
- (22) D. En Pharmacie and C. Carnoy, “Guide des anticorps monoclonaux et protéines de fusion à usage thérapeutique Hélène KAPLON.”
- (23) [https://www.ameli.fr/medecin/sante-prevention/medicaments/medicaments-biosimilaires/efficacite-et-securite-des-medicaments-biosimilaires?fbclid=IwAR2tFAeP49px7DPegAMII-jDWxTx9BWraKP5X7jx0pMJDL0GXR3n\\_dsLzKM](https://www.ameli.fr/medecin/sante-prevention/medicaments/medicaments-biosimilaires/efficacite-et-securite-des-medicaments-biosimilaires?fbclid=IwAR2tFAeP49px7DPegAMII-jDWxTx9BWraKP5X7jx0pMJDL0GXR3n_dsLzKM)
- (24) IMS Institute for Healthcare Informatics. Delivering on the Potential of Biosimilar Medicines : the Role of Functioning Competitive Markets. [Internet]. Mars 2016 [cité 29 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.iqvia.com/-/media/iqvia/pdfs/institute-reports/delivering-on-the-potential-of-biosimilar-medicines.pdf> 72. Direction des Affaires Economiques du LEEM. Bilan économique 2018 des Entreprises
- (25) Singh SC, Bagnato KM. The Economic Implications of Biosimilars. 2015;21(16):10.
- (26) IEUCIENNE C. E. J. BACH, “IMMUNOLOGIE,” Tropicultura, pp. 17–55, 2009, [Online]. Available: [https://books.google.dz/books?id=c2mkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=immunologie&hl=fr&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?id=c2mkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=immunologie&hl=fr&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
- (27) IMMUNOGÉNÉRICITÉ DES BIOSIMILAIRES -Mémoire présenté en vue de l’obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie- Juillet 2021
- (28) Chantal Guévremont, pharmacienne Coordonnatrice CUSM du PGTM -Biosimilaire état des connaissances et recommandations
- (29) <https://www.leem.org/les-biomedicaments-une-nouvelle-generation-de-traitements>
- (30) G. DIRIBARNE, “Technologie de l’ADN recombinant,” 2018.
- (31) J.-L. P. et J.-H. Trouvin, [Livre] Les Biosimilaires, vol. 138, no. Reapproved. 2011.

- (32) S. Latieule, "Culture cellulaire : Trois étapes clés pour produire des protéines thérapeutiques," 2011. [En ligne]. [www.industrie.com/pharma/culture-cellulaire-trois-etapes-cles-pour-produire-des-proteines-therapeutiques,39248](http://www.industrie.com/pharma/culture-cellulaire-trois-etapes-cles-pour-produire-des-proteines-therapeutiques,39248). [Accès le 9 Septembre 2014].
- (33) F. Li, J. X. Zhou, X. Yang et al, "Current Therapeutic Antibody Production and Process Optimization," *BioProcessing Journal*, vol. 4, no. 5, 2005.
- (34) R. Eibl, D. Eibl, "Disposable Bioreactors in Cell Culture-Based Upstream Processing," *BioProcess International*, vol. 7, 2009.
- (35) M. K. BOUKHALFA, "Titre La réglementation européenne et américaine des médicaments biosimilaires," 2013.
- (36) S.Sellak, "Biosimilaires : caractéristiques, enjeux économiques et politiques," 2018.
- (37) Eibl R, Eibl D. Disposable bioreactors in cell culture-based upstream processing. *BioProcess Int.* 2009
- (38) S.Sellak, "Biosimilaires : caractéristiques, enjeux économiques et politiques," 2018
- (39) UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES \_<https://docplayer.fr/162062086-Universite-de-picardie-jules-verne-faculte-des-sciences-pharmaceutiques.html>
- (40) Production d'anticorps monoclonaux-  
<https://fr.moleculardevices.com/applications/monoclonal-antibody-production#gref>
- (41) [https://acthera.univ-lille.fr/co/03\\_Fabrication.html](https://acthera.univ-lille.fr/co/03_Fabrication.html)
- (42) J-L. Prugnaud, J-H. Trouvin, *Les biosimilaires*, Springer, 2011.
- (43) M. K. BOUKHALFA, "Titre La réglementation européenne et américaine des médicaments biosimilaires," 2013.

(44) “Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins | European Medicines Agency.” <https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessmentbiotechnology-derived-therapeutic-proteins> (accessed Jul. 02, 2021).

(45) <https://www.vidal.fr/parapharmacie/utilisation/bon-usage-phytotherapie-plantes/medicament-phytotherapie.html>

(46) *Manon Broutin et Hervé Watier Les biomédicaments Ire partie : cadre général*

(47) Commission européenne des médicaments, “Ce qui’il faut savoir sur les médicaments biosimilaires,” 2013.

(48) « Professeur Michel SEVE » Chapitre 5 : Les modifications post-traductionnelles, Année universitaire 2011/2012 Université Joseph Fourier de Grenoble - Tous droits réservés.

(49)

[https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2021/06/msc200345/msc200345.html](https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2021/06/msc200345/msc200345.html)

(50) [https://vidalbox.vidal.fr/files/uploads/resources/non-2020-1150\\_fr\\_biosimilaires\\_brochure-sswitch-patientss\\_062020sdpdf-\[preview\].pdf](https://vidalbox.vidal.fr/files/uploads/resources/non-2020-1150_fr_biosimilaires_brochure-sswitch-patientss_062020sdpdf-[preview].pdf)

(51) [https://www.quebec.ca/en/?fbclid=IwAR1bLGpT5xf6K0g50bNUsaK\\_pdeOvh-IdH07nA3eJVt41J9CNT1ykJkwao](https://www.quebec.ca/en/?fbclid=IwAR1bLGpT5xf6K0g50bNUsaK_pdeOvh-IdH07nA3eJVt41J9CNT1ykJkwao)

(52) Vincent FB, Morand EF, Murphy K, Mackay F, Mariette X, Marcelli C. Antidrug antibodies

(ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory

diseases: a real issue, a clinical perspective. *Ann Rheum Dis.* févr 2013;72(2):165-78.

- (53) M. Krishna and S. G. Nadler, Immunogenicity to biotherapeutics - The role of antidrug immune complexes, vol. 7, no. FEB. Frontiers Research Foundation, 2016.
- (54) “Définition | Immunogénicité | Futura Santé.” <https://www.futurasciences.com/sante/definitions/medecine-immunogenicite-13234/> (accessed Jul. 02, 2021)
- (55) S. M. Tatarewicz, D. T. Mytych, M. S. Manning, S. J. Swanson, M. S. Moxness, and N. Chirmule, “Strategic characterization of anti-drug antibody responses for the assessment of clinical relevance and impact,” *Bioanalysis*, vol. 6, no. 11, pp. 1509–1523, Jul. 2014, doi: 10.4155/bio.14.114
- (56) M. Kosmač, T. Avčin, N. Toplak, G. Simonini, R. Cimaz, and V. Č. Šerbec, “Exploring the binding sites of anti-infliximab antibodies in pediatric patients with rheumatic diseases treated with infliximab,” *Pediatr. Res.*, vol. 69, no. 3, pp. 243–248, Mar. 2011, doi: 10.1203/PDR.0b013e318208451d.
- (57) P. A. Van Schouwenburg et al., “Functional analysis of the anti-adalimumab response using patient-derived monoclonal antibodies,” *J. Biol. Chem.*, vol. 289, no. 50, pp. 34482–34488, Dec. 2014, doi: 10.1074/jbc.M114.615500.
- (58) CHATENOU, BACH" Immunologie" [Livre] - 6e édition - Google Livres.
- (59) “Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins | European Medicines Agency.” <https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessmentbiotechnology-derived-therapeutic-proteins> (accessed Jul. 02, 2021).
- (60) M. W. Konrad, A. L. Childs, T. C. Merigan, and E. C. Borden, “Assessment of the antigenic response in humans to a recombinant mutant interferon beta,” *J. Clin. Immunol.*, vol. 7, no. 5, pp. 365–375, Sep. 1987, doi: 10.1007/BF00917014.

- (61) A. Peng, P. Gaitonde, M. P. Kosloski, R. D. Miclea, P. Varma, and S. V. Balu-Iyer, "Effect of route of administration of human recombinant factor VIII on its immunogenicity in hemophilia A mice," *J. Pharm. Sci.*, vol. 98, no. 12, pp. 4480–4484, 2009, doi: 10.1002/jps.21765.
- (62) "Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins | European Medicines Agency." <https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessmentbiotechnology-derived-therapeutic-proteins> (accessed Jul. 02, 2021).
- (63) "Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins | European Medicines Agency." <https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessmentbiotechnology-derived-therapeutic-proteins> (accessed Jul. 02, 2021).
- (64) M. K. BOUKHALFA, "Titre La réglementation européenne et américaine des médicaments biosimilaires," 2013.
- (65) G. Goldstein, A. J. Fuccello, D. J. Noeman, C. F. Shield, R. B. Colvin, and A. B. Cosimi, "OKT3 monoclonal antibody plasma levels during therapy and the subsequent development of host antibodies to OKT3," *Transplantation*, vol. 42, no. 5, pp. 507– 511, Nov. 1986, doi: 10.1097/00007890-198611000-00013.
- (66) B. weil, "laboratoire d'immunologie .faculté de médecine cochin-port royal .la reponse humorale." [http://lvts.fr/Pages\\_html/Encyclopedies/CoursImmuno/chapitre11.htm](http://lvts.fr/Pages_html/Encyclopedies/CoursImmuno/chapitre11.htm) (accessed Jul. 03, 2021).
- (67) G. carecelain, *Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements thématique et ...* - Collège des Enseignants d'Immunologie - Google Livres. .
- (68) M. Krishna and S. G. Nadler, *Immunogenicity to biotherapeutics - The role of antidrug immune complexes*, vol. 7, no. FEB. Frontiers Research Foundation, 2016.
- (69) K. G. C. Smith and M. R. Clatworthy, "FcγRIIB in autoimmunity and infection: Evolutionary and therapeutic implications," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 10, no. 5, pp. 328–343, 2010, doi: 10.1038/nri2762.

(70)“Définition | Immunogénicité | Futura Santé.” <https://www.futurasciences.com/sante/definitions/medecine-immunogenicite-13234/> (accessed Jul. 02, 2021).

(71) A. D. Luster, “The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity,” *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 14, no. 1, pp. 129–135, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0952-7915(01)00308-9.

(72) A. Azam, “Etude de la réponse des lymphocytes T spécifiques de l’hormone humaine H2-relaxine et de modifications non-naturelles : perspectives pour la réduction de l’immunogénicité des protéines et peptides thérapeutiques Thèse,” 2018.

(73) *European Medicines Agency Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. Draft. 2015. Disponible au :* [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/10/WC500194507.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/10/WC500194507.pdf) Consulté en ligne le 2016/12/08.

(74) B. S. Bochner and L. M. Lichtenstein, “Anaphylaxis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 324, no. 25, pp. 1785–1790, Jun. 1991, doi: 10.1056/NEJM199106203242506.

(75) S. M. Tatarewicz, D. T. Mytych, M. S. Manning, S. J. Swanson, M. S. Moxness, and N. Chirmule, “Strategic characterization of anti-drug antibody responses for the assessment of clinical relevance and impact,” *Bioanalysis*, vol. 6, no. 11, pp. 1509–1523, Jul. 2014, doi: 10.4155/bio.14.114.

(76) T. Billiet *et al.*, “Immunogenicity to infliximab is associated with HLA-DRB1,” *Gut*, vol. 64, no. 8. BMJ Publishing Group, pp. 1344–1345, Aug. 01, 2015, doi:10.1136/gutjnl-2015-309698.

(77) B. S. Bochner and L. M. Lichtenstein, “Anaphylaxis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 324, no. 25, pp. 1785–1790, Jun. 1991, doi: 10.1056/NEJM199106203242506.

(78) B. S. Bochner and L. M. Lichtenstein, “Anaphylaxis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 324, no. 25, pp. 1785–1790, Jun. 1991, doi: 10.1056/NEJM199106203242506.

(79) M. K. BOUKHALFA, “Titre La réglementation européenne et américaine des médicaments biosimilaires,” 2013.

(80) “Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins / European

Medicines Agency.” [https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-](https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins)

[assessment-biotechnology-](https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins)  
[derived-therapeutic-proteins](https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins) (accessed Jul. 02, 2021).

(81) EMA, CHMP. Guideline on similar biological medicinal products. [Internet]. 23 octobre 2014

[cité 5 mars 2019]. Disponible sur :  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientificguideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientificguideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf)

(82) EMA, CE. Les médicaments biosimilaires dans l'UE Guide d'information destiné aux professionnels de la santé. [Internet]. 2017 [cité 24 jan 2019]. Disponible sur :  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcareprofessionals\\_fr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcareprofessionals_fr.pdf).

(83) Directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un

code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. JO L 311 du 28 novembre 2001, p. 67

(84) EMA. Biosimilar Medicinal Products Working Party. [Internet]. 2018 [cité 5 mars 2019].

Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/committees/working-parties-othergroups/chmp/biosimilar-medicinal-products-working-party>

(85) 42 USC 262: Regulation of biological products. [Internet]. [cité 6 juin 2019]. Disponible sur :

[http://uscode.house.gov/view.xhtml?req=\(title:42%20section:262%20edition:prelim\)](http://uscode.house.gov/view.xhtml?req=(title:42%20section:262%20edition:prelim))

(86) ARS Santé. «Les médicaments biosimilaires ... .. à vos marques, prêts, prescrivez! ». [Internet]. Janvier 2018 [cité 6 déc 2018]. Disponible sur: [https://www.omedit-grandest.ars.sante.fr/system/files/2018-04/23032018\\_Synth%C3%A8se%20s%C3%A9minaire%20biosimilaires\\_1.pdf#page=31&zoo m=auto,-22,742](https://www.omedit-grandest.ars.sante.fr/system/files/2018-04/23032018_Synth%C3%A8se%20s%C3%A9minaire%20biosimilaires_1.pdf#page=31&zoo m=auto,-22,742)

(87) GaBI Online. Biosimilars approved in Japan. [Internet]. 2018 [cité 13 mars 2019]. Disponible sur:

<http://gabionline.net/Biosimilars/General/Biosimilars-approved-in-Japan>

(88) Arato T. Japanese regulation of biosimilar products: past experience and current challenges:

Japanese regulation of biosimilar products. Br J Clin Pharmacol. juill 2016;82(1):30-40.

(89) Le Pen C. Les biosimilaires en 15 questions. [Internet]. 2014 [cité 23 nov 2018]. Disponiblesur:

<https://www.apmnews.com/Documents/lesbiosimilairesen15questionsemail.pdf>

(90) Bhatt V. Current Market and Regulatory Landscape of Biosimilars. *Am J Manag Care*.

2018;24(21):S451-S456.

(91) Sarpatwari A, Barenie R, Curfman G, Darrow JJ, Kesselheim AS. The US Biosimilar Market:

Stunted Growth and Possible Reforms. *Clin Pharmacol Ther*. janv 2019;105(1):92-100.

(92) Paubel P. Actualités sur les biosimilaires. [Internet]. 12 janvier 2017 [cité le 8 déc 2018]. Disponible sur : [https://www.auvergne-rhone-alpes.ars.sante.fr/sites/default/files/2017-](https://www.auvergne-rhone-alpes.ars.sante.fr/sites/default/files/2017-02/2.%20BiosimilairesAspects%20r%C3%A9glementaires%20et%20%C3%A9conomiques_AP-HP_AGEPS.pdf)

02/2.%20BiosimilairesAspects%20r%C3%A9glementaires%20et%20%C3%A9conomiques\_AP-HP\_AGEPS.pdf

(93) J. Avouac et al., “Immunogénicité du biosimilaire GP2013 du rituximab : un événement rare, mais pas sans conséquences...,” *Rev. Rhum.*, vol. 87, pp. A102–A103, 2020, doi: 10.1016/j.rhum.2020.10.175.

(94) J. J. Altman, N. Chevalier, B. Delemer, F. Travert, and I. Benabbad, “LY2963016 insulin glargine: The first biosimilar insulin approved in the European Union,” *Press. Medicale*, vol. 47, no. 10, pp. 854–866, 2018, doi: 10.1016/j.lpm.2018.06.004.