

Sécurité virale des produits dérivés du plasma

DIAPOSITIVE 1

Cette présentation a trait aux études de validation virale des produits dérivés du plasma. La FDA exige que l'inactivation et l'élimination des virus dans le processus de fabrication des produits biopharmaceutiques soient validées. Cette présentation fournit une vue d'ensemble des études de validation et de l'approche adoptée par la FDA pour évaluer les données de validation.

DIAPOSITIVE 2

La présentation décrit les approches actuelles permettant de garantir la sécurité virale du sang et des produits sanguins. Elle est axée sur les produits fabriqués et sur le rôle crucial que jouent la validation et la clairance virales dans la sécurité virale.

DIAPOSITIVE 3

Plusieurs niveaux de sécurité sont en place pour garantir la sécurité des composants transfusés et des produits fabriqués. Citons notamment l'examen de l'état de santé des donneurs et les facteurs de risque des maladies transmissibles. Par ailleurs, des registres répertoriant les donneurs permettent d'éliminer la collecte de sang et de plasma des donneurs non qualifiés. L'étape de sécurité suivante consiste à dépister certains marqueurs viraux, que vous connaissez peut-être, dans les dons de sang. La diapositive qui suit présente une liste de ces marqueurs viraux. Les dons de sang qui sont collectés sont mis en quarantaine jusqu'à ce que les résultats des analyses soient disponibles. Enfin, un système de suivi permet aussi d'enquêter sur tous types de rapports d'événements indésirables relatifs au sang et aux produits sanguins, afin de veiller à ce que les carences soient corrigées.

DIAPOSITIVE 4

Ce tableau présente les tests de marqueurs viraux qui sont obligatoires ou recommandés pour le sang destiné aux transfusions et pour le plasma qui sera utilisé dans la fabrication d'autres produits sanguins. Les analyses exigées pour les dons de sang sont légèrement différentes des analyses exigées pour les dons de plasma. Les dons de sang font l'objet de tests de dépistage de l'antigène de surface de l'hépatite B, appelé HBSAG, à savoir l'antigène de surface du virus de l'hépatite B, appelé VHB, et de l'anti-HBc, l'anticorps de l'antigène du noyau VHB. Le test des anticorps anti-HBc est obligatoire pour le sang, mais non pour le plasma. Le test du virus de l'hépatite C, appelé VHC, permet de dépister à la fois l'anticorps anti-VHC et l'acide nucléique du VHC par le TAN. Ces tests sont obligatoires pour « le sang destiné aux transfusions » et pour « le plasma destiné à une fabrication ultérieure ».

Il en est de même pour le VIH. Nous menons les tests au moyen de la sérologie et du TAN. Le test de l'antigène P24 a été remplacé par le TAN-VIH. En ce qui concerne le HTLV-1 et 2, les tests sérologiques sont effectués pour « le sang destiné aux transfusions », mais non pour « le plasma destiné à une fabrication ultérieure ». Le test

d'acide nucléique du virus du Nil occidental est obligatoire pour le sang, mais non pour « le plasma destiné à une fabrication ultérieure ».

DIAPOSITIVE 5

En ce qui concerne les produits dérivés du plasma, que nous examinons dans cette présentation, outre les cinq niveaux de sécurité décrits plus haut, une autre étape majeure permet de garantir leur sécurité virale : l'incorporation d'une étape de clairance virale dans leur processus de fabrication. Pour tout produit fabriqué, le sponsor doit démontrer l'aptitude du processus de fabrication à éliminer les virus inquiétants du produit en question. Outre ces mesures, les bonnes pratiques de laboratoire actuelles, ou BPLA, sont également appliquées pour le produit fabriqué. En ce qui concerne la clairance virale, la FDA veille à ce que le produit viro-inactivé soit séparé du produit non viro-inactivé.

DIAPOSITIVE 6

L'objectif de la clairance virale et la raison pour laquelle la FDA exige des études de validation virale sont de prouver qu'un processus de fabrication est capable d'inactiver et d'éliminer réellement les virus inquiétants – les virus pathogènes susceptibles d'être découverts chez les donneurs. Les donneurs subissent à l'heure actuelle des tests de dépistage de ces virus. Les étapes de clairance sont destinées à éliminer essentiellement le virus résiduel qui pourrait subsister dans le pool de fabrication. Par exemple, quand un don positif est placé dans le pool par inadvertance ou quand un don positif teste négatif parce qu'il a été dans la « fenêtre sérologique » et dans celle du TAN, la clairance virale garantit que les virus ne sont pas présents dans le produit final.

Outre la clairance des virus pathogènes connus, les études de validation virale doivent également montrer que les étapes de clairance virale sont solides, en ce sens qu'elles éliminent ou inactivent les virus qui sont inconnus ou pour lesquels les donneurs n'ont pas été testés. Ceci est démontré par des études de validation indiquant que le processus de fabrication peut éliminer une large variété de virus présentant différentes caractéristiques physiochimiques.

DIAPOSITIVE 7

Notez que la clairance virale fait référence à la fois à l'inactivation et/ou à l'élimination virale. L'étape de clairance virale dans un processus de fabrication donné peut être délibérée – à savoir qu'elle a été intégrée dans le processus dans l'objectif d'éliminer les virus. Elle peut être par exemple une inactivation physique telle qu'un traitement au solvant détergent, qui est une étape permettant d'éliminer le virus. Elle peut aussi être la filtration, notamment la nanofiltration, qui est destinée à éliminer les virus, ou encore le traitement thermique terminal, qui est utilisé dans un certain nombre de produits.

Au demeurant, certaines étapes de clairance virale intégrées dans les processus de fabrication n'ont pas nécessairement pour objectif explicite d'éliminer les virus ; elles font partie des étapes de purification des protéines, qui contribuent elles aussi à éliminer les virus. Par exemple, certaines étapes de précipitation et de séparation dans le processus de fabrication des produits dérivés du plasma et des produits recombinants peuvent

également opérer une clairance virale. Un autre exemple est le traitement dans des conditions de faible pH, qui contribue à la clairance des virus.

Pour estimer l'aptitude totale de clairance virale d'un processus de fabrication donné, chaque étape de clairance est évaluée séparément. La réduction totale du titre d'un processus donné est la totalité des étapes individuelles de clairance virale du processus. Ces étapes multiples doivent fonctionner avec différents mécanismes, indépendants les uns des autres, pour s'ajouter les unes aux autres ; elles ne doivent pas surestimer l'aptitude de clairance du processus de fabrication.

DIAPOSITIVE 8

Les quelques diapositives qui suivent présentent la stratégie actuelle préconisée par la FDA pour exécuter une clairance virale durant un processus de fabrication ; elles se rapportent principalement ici aux produits dérivés du plasma.

La première étape consiste à sélectionner les virus à étudier. Il est évident que les virus doivent être applicables au produit en question et au matériel de départ. Il faut ensuite s'assurer que des essais validés sont disponibles afin de détecter et d'établir le titre des virus à l'étude.

Les études de validation virale ne sont pas menées dans le contexte du processus de fabrication réel, mais dans un laboratoire en dehors du milieu de fonctionnement, afin de prévenir l'introduction du virus dans l'aire de fabrication. L'une des importantes composantes de la validation que recherche la FDA est le degré de pertinence du modèle à petite échelle ou à l'échelle du laboratoire au regard du processus de fabrication réel. Une fois que la pertinence a été établie entre le modèle à petite échelle et le processus de fabrication réel, le virus à titre élevé testé est « ensemencé » dans une étape particulière de la clairance virale. Le virus testé peut être un virus applicable ou un virus modèle. La dernière phase consiste à établir la réduction du titre du virus pour l'étape en cours de validation.

DIAPOSITIVE 9

Ainsi que mentionné plus haut, différentes étapes sont validées séparément. On établit la réduction totale du titre du virus dans l'ensemble du processus de fabrication en calculant la somme de la réduction du titre fournie par chacune des étapes individuelles. Lorsque la FDA évalue les études de clairance virale, elle veut s'assurer que les paramètres critiques d'une étape particulière de clairance virale à petite échelle sont les mêmes que lors du processus de fabrication réel. Pour ce faire, le fabricant est tenu d'adresser une comparaison face-à-face des paramètres critiques des deux échelles. Comme mentionné plus haut, cette procédure permet de garantir la pertinence de la clairance virale à petite échelle au regard du processus réel. Si la clairance virale à petite échelle n'est pas analogue au processus réel, la totalité de l'exercice sera alors futile, car il n'offrira pas de garantie de clairance virale.

DIAPOSITIVE 10

Dans les documents de validation adressés à la FDA doivent figurer les virus qui ont été choisis dans l'étude ainsi que la justification de leur sélection. Il est évident que les virus testés doivent être appropriés au matériel de départ. Si le produit provient d'une culture cellulaire – c'est à dire s'il est un produit recombinant – les virus susceptibles d'être découverts dans la culture tissulaire doivent être utilisés dans les études de validation. Et si le produit est d'origine humaine, il faut se soucier des virus pathogènes qui pourraient potentiellement être présents dans le sang et le plasma, en particulier les virus pour lesquels les donneurs sont testés. Cette approche n'est pas toujours réalisable dans toutes les situations. Par exemple, certains virus pathogènes ne se multiplient pas dans les cultures cellulaires. Par conséquent, l'accessibilité d'une culture adéquate pourrait limiter le choix des virus utilisés dans les études de validation.

DIAPOSITIVE 11

Certains virus se multiplient mal dans les cultures, c'est à dire qu'ils n'atteignent jamais le titre élevé indispensable aux études de validation. Par ailleurs, en ce qui concerne certains virus, un essai fiable permettant d'établir le titre de façon précise n'existe pas toujours.

D'une manière générale, l'approche adoptée pour choisir les virus dans une étude de validation consiste à utiliser si possible le virus pertinent. Celui-ci devra être aussi proche que possible de ce que l'on anticipe dans un cas de contamination réelle. S'il n'est pas possible d'utiliser des virus pertinents, des virus modèles serviront de substituts.

DIAPOSITIVE 12

Les virus qui conviennent aux études de validation peuvent avoir un comportement différent du virus de type sauvage inquiétant. Si l'on doit utiliser un virus modèle, il convient d'en choisir un qui est plus résistant à l'inactivation si l'étape d'inactivation est celle que l'on cherche à valider. Et si l'on cherche à valider l'élimination, le choix des virus modèles doit être basé sur leur taille et sur leurs similarités physicochimiques avec le virus pertinent. On tend à utiliser un virus modèle qui permet d'obtenir une meilleure réduction du titre. Comme mentionné, si différents virus modèles sont disponibles pour un virus inquiétant, il convient d'utiliser le virus le plus résistant.

DIAPOSITIVE 13

En ce qui concerne les produits dérivés du plasma, voici les virus que la FDA prévoit et qu'elle demande aux fabricants d'utiliser dans leurs études de validation virale :

Le VIH. L'utilisation de ce virus est obligatoire ; il doit être inclus dans toute étude de validation virale menée sur des produits d'origine humaine.

En ce qui concerne le VHB, le virus ne se multiplie pas en culture et il n'y a pas non plus de modèle spécifique pour le VHB. Mais il y a suffisamment de données indiquant que plusieurs des grands virus à ADN peuvent représenter le VHB. Par le passé, on utilisait des chimpanzés pour étudier la clairance du VHB. Toutefois, les études sur les chimpanzés ne sont pas obligatoires ou nécessaires à l'heure actuelle pour étudier la validation de la clairance du VHB. Il convient de noter que l'efficacité des méthodologies

d'inactivation et d'élimination virales est relativement bien établie pour certains virus. En matière d'études de validation virale, la FDA veut s'assurer que les fabricants sont en mesure d'adopter sans problème des méthodologies établies dans leur processus de fabrication et de parvenir à un niveau de clairance prévu pour les virus connus.

Le VHC. Ce virus ne se multiplie pas non plus en culture ; il y a donc un certain nombre de virus modèles acceptables qui sont utilisés dans la validation de la clairance.

Le virus HAV se multiplie en culture cellulaire ; le virus réel devrait donc être utilisé dans les études de validation.

En ce qui concerne le parvovirus B19, qui est un virus non enveloppé, un certain nombre de petits virus non enveloppés sont utilisés comme modèles pour le B19.

En bref, le panel de virus dans les études de validation virale doit comprendre les virus réels VIH et HAV et utiliser des virus modèles pour le VHB, le VHC et le B19. En ce qui concerne le B19, vous savez probablement que certains milieux de culture du B19 sont encore considérés comme expérimentaux. Nous anticipons donc que le fabricant utilisera des virus modèles pour le B19. Les virus modèles du B19 ont en général une haute résistance à l'inactivation par rapport au B19 de culture ; ils sont par conséquent mieux adaptés aux études d'inactivation.

DIAPOSITIVE 14

La validation à petite échelle ou en laboratoire est une autre composante majeure des études de validation virale qui doit être évaluée. La validation à petite échelle doit comprendre tous les paramètres critiques qui seront présents dans le processus réel. Par exemple, en chromatographie, les valeurs relatives concernant le volume, la taille et la géométrie seront prises en compte. Et en filtration, la pression, le volume par rapport à la surface du filtre et le débit devront être les mêmes dans l'étude à petite échelle et dans le processus de fabrication réel. Les valeurs absolues, telles que la température et la durée d'incubation, doivent être identiques à l'échelle du laboratoire et à l'échelle de la fabrication.

DIAPOSITIVE 15

Lors de la conception de l'étude à petite échelle, celle-ci doit être validée en observant certaines caractéristiques du produit, par exemple la récupération du produit. D'une manière générale, la méthode de production à petite échelle doit refléter autant que possible le processus à grande échelle. Par ailleurs, des exécutions multiples doivent être effectuées sans le virus, pour veiller à ce que la petite échelle représente véritablement l'étape réelle envisagée. Une comparaison statistique avec le processus réel doit également être effectuée. S'il y a des différences inévitables, et anticipées, entre les études à petite échelle et la production à échelle réelle, il convient alors de mener certaines études de validation pour montrer que ce type de variation n'a pas d'impact sur l'aptitude de clairance du virus et ne surestime pas la destruction ou l'élimination du virus. Une fois de plus, comme mentionné, il est indispensable de veiller à ce que les travaux en laboratoire reflètent l'étape du processus de fabrication réel.

DIAPOSITIVE 16

En ce qui concerne l'inactivation, la validation doit fournir la cinétique et l'étendue de l'inactivation. Les données cinétiques permettent de savoir à quelle rapidité et avec quel degré d'efficacité l'inactivation a lieu. Par exemple, l'inactivation du PRV par la chaleur à 60° pendant 10 heures, qui aurait lieu dans deux emplacements différents pour deux produits différents, devrait permettre d'obtenir le même degré de réduction du virus. Les études cinétiques montreront peut-être que pour le premier produit, l'inactivation a eu lieu dans les 30 premières minutes, alors que pour le deuxième produit, elle a eu lieu au bout de 10 heures seulement. L'inactivation peut être plus lente quand un fabricant utilise un stabilisateur à plus forte concentration, qui stabilise aussi le virus. Dans ce cas, les données cinétiques montreront que l'inactivation a été plus robuste et efficace pour un produit et moins pour l'autre. Par conséquent, les données issues des études cinétiques sont très importantes pour établir si l'étape est efficace ou non.

Si l'étape concerne l'élimination, la FDA veut savoir où se trouve le virus éliminé.

DIAPOSITIVE 17

D'une manière générale, en ce qui concerne les produits dérivés du plasma, la FDA entend que le processus de fabrication comprenne au moins deux étapes de clairance. Les étapes d'élimination sont difficiles à réduire et à valider. Elles sont aussi intrinsèquement moins fiables. Par conséquent, il n'est pas acceptable dans un processus de fabrication de se fier complètement aux étapes d'élimination pour la clairance du virus. L'inactivation doit constituer au moins une des étapes de clairance.

En raison de la difficulté à éliminer les virus non enveloppés comme le B19 et le HAV, et parce que ces virus ne sont pas inactivés, en particulier dans le cas du B19, au moins une étape d'élimination doit être intégrée dans le processus de fabrication. Ces étapes dépendent bien entendu du type de produit. Certains produits présentent un risque de contamination plus élevé par les virus non enveloppés. Pour d'autres, le risque est très faible. Par conséquent, le degré d'élimination des virus auquel on veut parvenir dépend du processus de fabrication et du produit.

DIAPOSITIVE 18

L'autre point dont il convient de tenir compte est l'évaluation de l'effet d'une modification de fabrication sur l'aptitude du processus à opérer la clairance virale. Quand la FDA reçoit un supplément indiquant qu'une ou plusieurs modifications ont été apportées à un processus, le premier facteur à considérer est l'impact potentiel de la modification sur la clairance virale totale. Par conséquent, si des modifications sont apportées à la production et à la purification, il convient d'établir l'effet de ces modifications sur la clairance virale ; cette procédure peut nécessiter de nouvelles études de validation virale.

DIAPOSITIVE 19

Cette diapositive présente les critères généraux d'une étape efficace de clairance virale. Une clairance virale substantielle est indispensable. Les étapes de clairance virale sont considérées comme étant plus efficaces si elles sont reproductibles et contrôlables. Il y a

une meilleure garantie au regard de ces étapes, en particulier s'il est facile de les réduire et de les valider. Les étapes d'inactivation font partie pour la plupart de cette catégorie. Citons par exemple le traitement au solvant détergent et le traitement thermique. Un autre critère permettant de démontrer qu'une méthodologie de clairance est efficace est de prouver que l'impact est minimum sur la qualité du produit et sur son efficacité. En d'autres termes, le virus doit être éliminé sans endommager le produit ou sans que son efficacité soit réduite. Par ailleurs, l'étape de clairance ne doit pas produire de nouveaux antigènes, car ceux-ci peuvent provoquer l'immunogénicité.

DIAPOSITIVE 20

Les données de validation permettent d'avoir une estimation de l'aptitude du processus de fabrication à éliminer les virus. La validation ne rend pas le produit plus sûr, mais elle offre une garantie de sécurité. Il convient d'être conscient de certaines limitations intrinsèques aux études de validation. Par exemple, les souches de virus qui sont utilisées dans les études de validation peuvent être différentes de celles du virus de type sauvage. Ce fait est démontré par un certain nombre d'études qui montrent que différentes souches du même virus peuvent produire différents niveaux de clairance. Il se peut que le modèle à échelle réduite ou le modèle en laboratoire qui est utilisé dans les études de validation ne représente pas complètement l'étape réelle du processus de fabrication. Il tend aussi à surestimer la mort virale et la clairance virale.

L'autre limitation dont il faut tenir compte est celle de l'élimination par filtration, qui est susceptible de décliner à mesure que le processus de filtration se poursuit. Citons par exemple l'étape de nanofiltration. Au cours de cette étape, l'aptitude à éliminer le virus pour le volume initial de produit filtré peut être différente dans le volume ultérieur du produit. Ce phénomène a été démontré dans un certain nombre d'études. Ces limitations doivent être prises en compte dans l'évaluation des études de validation virale.

DIAPOSITIVE 21

Malgré les limitations que l'on vient de décrire, d'une manière générale, les étapes de clairance virale ont assuré une excellente sécurité virale en ce qui concerne les virus enveloppés. Les méthodologies d'inactivation disponibles se sont révélées être très efficaces pour éliminer ce type de virus.

Toutefois, il y a encore des limitations en ce qui concerne la clairance des virus non enveloppés tels que le HAV et le B19. La raison tient au fait que la plupart des étapes d'inactivation bien établies n'ont que peu ou pas d'effet sur les virus non enveloppés. Par exemple, le traitement thermique a un certain effet sur le virus de l'hépatite A, en particulier si on utilise la chaleur dans la solution ou la pasteurisation. Par contre, l'inactivation par la chaleur n'est pas efficace contre le B19, comme le révèle l'utilisation du virus modèle du B19.

DIAPOSITIVE 22

La raison pour laquelle le B19 est considéré être un problème tient à ce qu'il est un petit virus non enveloppé résistant à l'inactivation et, du fait de sa faible taille, qu'il est

difficile à éliminer. Par ailleurs, ce virus peut être présent à un titre très élevé dans les pools de fabrication du plasma.

Les nanofiltres à pores de petite taille pourraient éliminer le B19 dans une large mesure. Toutefois, l'utilisation d'un filtre à pores de petite taille n'est pas toujours pratique pour la plupart des produits que nous examinons, en raison de leur grande taille moléculaire et aussi parce qu'il n'est pas pratique de filtrer un volume très important de produit dans des filtres à pores de petite taille pendant un délai raisonnable.

DIAPOSITIVE 23

En ce qui concerne le B19, la FDA recommande de repérer les unités de plasma-aphérèse destinées au fractionnement et contenant un niveau élevé d'ADN de B19 afin de les exclure du pool de fabrication. Cette procédure s'effectue par dépistage sur mélanges d'échantillons. Le test TAN du B19 n'est effectué que si le plasma est destiné à une fabrication ultérieure. À l'heure actuelle, les dons de plasma destinés à une fabrication ultérieure subissent les tests du B19 par dépistage sur mélanges d'échantillons ; toute unité contenant un certain niveau d'ADN de B19 est exclue du pool de fabrication. La limite d'ADN de B19 pour le pool de fabrication est de 4 logs par millilitre. La raison du dépistage de l'ADN de B19 est due au titre élevé de virus dans une unité infectée et au fait que le virus est difficile à éliminer ou à inactiver, de par sa faible taille et de sa résistance à l'inactivation. Les niveaux limités d'ADN de B19 dans le pool de fabrication, auxquels s'ajoutent la présence d'un anticorps anti-B19 dans ce même pool et d'autres étapes de clairance virale qui sont intégrées dans le processus de fabrication, devraient permettre d'éliminer ou de réduire considérablement le virus résiduel et, de ce fait, le risque d'infection par le virus B19.

La FDA a publié un document d'orientation contenant ses recommandations sur le B19 dans les produits fabriqués.

DIAPOSITIVE 24

Les diapositives qui suivent présentent des références, des documents d'orientation et des coordonnées que vous pourrez trouver utiles.

DIAPOSITIVE 25

Cette diapositive présente d'autres documents de référence.

DIAPOSITIVE 26

Pour obtenir de plus amples informations, veuillez utiliser les coordonnées qui figurent ici.

DIAPOSITIVE 27

Vous pouvez également obtenir de plus amples informations sur ces sites Web.

DIAPOSITIVE 28

Ceci conclut la présentation « Sécurité virale des produits dérivés du plasma ».

Nous souhaitons remercier les personnes qui ont contribué à son élaboration. Merci.