

La Seguridad Viral de los Productos Derivados del Plasma

DIAPOSITIVA 1

Esta presentación abarcará los estudios de validación viral para los productos derivados del plasma. La FDA exige que el proceso manufacturero para productos biofarmacéuticos sea validado en términos de su capacidad de inactivar y eliminar los virus. Esta presentación dará un vistazo general a los estudios de validación, y al enfoque de la FDA para medir tales datos de validación.

DIAPOSITIVA 2

La presentación esbozará los enfoques actuales para asegurar la seguridad viral de la sangre y los productos sanguíneos. El énfasis será en los productos manufacturados, y cómo la validación viral y la depuración viral juegan un papel importante en asegurar su seguridad viral.

DIAPOSITIVA 3

Hay varias capas de seguridad para asegurar la seguridad tanto de los componentes transfundidos como de los productos fabricados. Éstas incluyen examinar a los donantes para determinar su estado de salud, y los factores de riesgo para enfermedades contagiosas. Además, se mantienen registros de aplazamiento de donantes, para eliminar las recolecciones de sangre y plasma de donantes no idóneos. El próximo paso preventivo es analizar las donaciones para detectar ciertos marcadores virales, con los que quizás estén familiarizados. Observarán la lista de estos marcadores virales en la próxima diapositiva. Las donaciones que se recolecten se colocarán bajo cuarentena hasta que los resultados de las pruebas estén disponibles. Finalmente, también hay un sistema de monitoreo para investigar cualquier tipo de reporte de evento adverso relacionado con la sangre y los productos sanguíneos, para asegurar que se corrija cualquier deficiencia.

DIAPOSITIVA 4

Este gráfico muestra las pruebas de marcadores virales requeridas o recomendadas para la sangre destinada a transfusiones y para plasma destinado para fabricar otros productos sanguíneos. Los requisitos de prueba para las donaciones de sangre son ligeramente diferentes que para las donaciones de plasma. Las donaciones de sangre son examinadas para detectar el Antígeno de Superficie de la Hepatitis B, llamado HBSAG, el antígeno de superficie para el virus de la Hepatitis B, llamado VHB, y el anti-HBc, el anticuerpo al antígeno nuclear del VHB. La prueba anti-HBc es una prueba exigida para la sangre, pero no para el plasma. La prueba de detección de la hepatitis C, llamado VHC, se realiza analizando para detectar el anticuerpo anti-VHC y el ácido nucleico, VHC-NAT. Se exigen estas pruebas para la “sangre para transfusiones” y para el “plasma para mayor procesamiento manufacturero”.

Lo mismo ocurre con el VIH. Analizamos usando tanto serología como NAT. Las pruebas de antígeno P24 han sido sustituidas por la VIH-NAT. Para el VLTH-1 y 2, se llevan a cabo pruebas de serología para la “sangre para transfusiones” pero no para el “plasma para mayor procesamiento manufacturero”. Para el Virus del Nilo Occidental, se exige la prueba del ácido nucleico para la sangre, pero no se exige ni recomienda para el “plasma para mayor procesamiento manufacturero”.

DIAPOSITIVA 5

Con respecto a los productos derivados del plasma, que son el objeto de esta charla, además de las cinco capas de seguridad antes detalladas, hay otro paso importante para asegurar la seguridad viral de estos productos – la inclusión de un paso de depuración viral en el proceso manufacturero de estos productos. Para cualquier producto fabricado, el patrocinador debe mostrar la capacidad del proceso manufacturero de depurar los virus que son objeto de preocupación para ese producto en particular. Además de ello, desde luego, también se hacen cumplir las buenas prácticas de manufactura actuales (current good manufacturing practice, o “cGMP”) con respecto al producto fabricado. En relación a la depuración viral, la FDA se asegura de que el producto que está viralmente desactivado sea segregado de productos no desactivados.

DIPOSITIVA 6

El objetivo de la depuración viral, y el motivo por el que la FDA exige estudios de validación viral, es proporcionar evidencia de que un proceso manufacturero tiene la capacidad de desactivar y remover efectivamente los virus en cuestión – los virus patogénicos que potencialmente podrían encontrarse en los donantes. Estos son virus por los que actualmente se examina a los donantes. Los pasos de la depuración están diseñados para, esencialmente, depurar el virus residual que podría sobrar en la reserva manufacturera. Por ejemplo, cuando una donación positiva es inadvertidamente incluida con el resto, o cuando una donación positiva arroja resultados negativos de la prueba porque se encontraba dentro del “periodo ventana” para las pruebas serológicas y de NAT, la depuración viral asegura que los virus no terminen en el producto final.

Además de la depuración de virus patogénicos conocidos, los estudios de validación viral también deben mostrar que los pasos de depuración viral son robustos, en el sentido de que eliminan o desactivan los virus no conocidos, o por los cuales no se han examinado a los donantes. Esto se demuestra con estudios de validación que muestren que el proceso manufacturero pudo depurar una amplia variedad de virus con diferentes características fisicoquímicas.

DIPOSITIVA 7

Observen que la depuración viral se refiere a la desactivación y/o a la eliminación viral. El paso de depuración viral en un proceso manufacturero dado podría ser deliberado – es decir, que ha sido incluido en el proceso manufacturero con el fin de depurar los virus. Por ejemplo, éstos podrían ser una inactivación química como un tratamiento con detergente solvente, que es un paso adoptado con el fin de depurar virus. Otro ejemplo es el filtrado, como el nanofiltrado, diseñado para eliminar o remover virus. Otro ejemplo es el tratamiento con calor terminal, que se usa en una variedad de productos.

Sin embargo, algunos pasos de depuración viral en los procesos manufactureros podrían no tomarse con el fin explícito de depurar virus, sino más bien son parte de los pasos generales de purificación de la proteína, que se saben que contribuyen también a la depuración de virus. Por ejemplo, algunos de los pasos de precipitación y separación en el proceso manufacturero de productos derivados del plasma y productos recombinantes también tienen capacidad de depuración viral. Otro ejemplo es el tratamiento de pH bajo, que se ha demostrado que contribuye a la depuración viral.

Cuando se estima la capacidad global de depuración viral de un proceso manufacturero dado, se evalúa cada paso de depuración por separado. La reducción logarítmica total para

un proceso dado es la suma de los pasos individuales de depuración en el proceso. Estos múltiples pasos deben funcionar con mecanismos diferentes e independientes a fin de ser aditivos, y no deben sobreestimar la capacidad de depuración del proceso manufacturero.

DIPOSITIVA 8

En las próximas dos diapositivas se cubrirá la estrategia actual que la FDA espera para realizar la depuración viral en un proceso manufacturero, con énfasis en los productos derivados del plasma.

El primer paso es la selección de los virus a ser estudiados. Obviamente, uno desea que los virus sean relevantes para el producto en cuestión, y relevantes para el material inicial. Entonces, se debe asegurar que los ensayos validados estén disponibles para permitir la detección y determinación del título de los virus bajo estudio.

Los estudios de validación viral no se realizan en el contexto del proceso manufacturero propiamente dicho, sino que se realizan a escala de laboratorio fuera del entorno manufacturero, a fin de evitar la introducción del virus al área manufacturera. Uno de los componentes importantes de la validación que la FDA busca es qué tan relevante es el modelo a pequeña escala o a escala de laboratorio con respecto al proceso manufacturero real. Una vez se establezca la relevancia de esta pequeña escala con respecto al paso del proceso manufacturero real, entonces se adulterará un paso de depuración en particular con un título alto del virus de prueba. El virus de prueba podría ser un virus relevante o podría ser un virus modelo. La etapa final será determinar la reducción logarítmica del virus para el paso que se está validando.

DIPOSITIVA 9

Como ya se mencionó, los diferentes pasos se validan por separado. La reducción logarítmica total del virus para el proceso manufacturero completo se determina sumando la reducción logarítmica contribuida por los pasos individuales. Al evaluar los estudios de depuración viral, la FDA desea asegurarse que de los parámetros críticos para un paso de depuración dado en la escala pequeña son los mismos que para el proceso manufacturero real. Para esto, se pide al fabricante que proporcione una comparación lado a lado de los parámetros críticos entre las dos escalas. Como ya se mencionó, esto se hace para asegurar la relevancia de la escala pequeña con respecto al proceso real. Si la escala pequeña no imita el proceso real, entonces el ejercicio entero será en vano en términos de proporcionar garantías con respecto a la depuración viral.

DIPOSITIVA 10

El paquete de validación suministrado a la FDA debe incluir la selección de los virus que se usaron en el estudio, así como también una justificación para dicha selección. Obviamente, los virus de prueba deben ser relevantes al material inicial. Si el producto es una célula cultivada – es decir, un producto recombinante – entonces se deben usar virus que son probables de encontrarse en cultivos de tejido para los estudios de validación. Y, si el producto es derivado de seres humanos, uno se debe enfocar en los virus patogénicos que podrían estar potencialmente presentes en la sangre y en el plasma, especialmente aquellos virus que se busca detectar con las pruebas a nivel de donante. Este enfoque podría no ser factible en todas las situaciones. Por ejemplo, algunos de los virus patogénicos podrían no crecer en cultivos de células. Por lo tanto, la disponibilidad de un cultivo idóneo podría limitar la selección de virus usados en los estudios de validación.

DIAPOSITIVA 11

Algunos virus podrán crecer deficientemente en cultivos; es decir, nunca alcanzan el alto título necesario para los estudios de validación. Además, para algunos virus, es posible que no haya disponible un ensayo confiable para determinar fidedignamente el título del virus.

En general, el enfoque al escoger los virus para el estudio de validación es usar el virus relevante si ello es factible. El virus relevante será tan cercano a lo que esperamos en un caso real de contaminación. Si el uso del virus relevante no es factible, entonces se usarán virus modelo como sustitutos para los virus reales de inquietud.

DIAPOSITIVA 12

Los virus que son adaptados para estudios de validación podrán comportarse de modo diferente que el tipo salvaje del virus de inquietud. Si se tiene que usar un virus modelo, la expectativa es usar un virus modelo que ha demostrado ser más resistente a la desactivación, si es el paso de desactivación lo que está siendo validado. Y si lo que hay que validar es la eliminación o remoción, la selección del virus modelo debe basarse en el tamaño y en similitudes físico-químicas con el virus relevante. Hay una tendencia a usar un virus modelo que da una mejor reducción logarítmica. Como ya se mencionó, si hay diferentes virus modelos disponibles para un virus de inquietud, se debe usar el virus más resistente.

DIAPOSITIVA 13

Para productos derivados del plasma, estos son los virus que la FDA espera y pide que los fabricantes usen cuando hacen sus estudios de validación viral:

VIH. El uso de este virus es un requisito, y debe incluirse en todo estudio de validación viral relativo a productos derivados de seres humanos.

Con respecto al VHB, el virus no crece en cultivos, ni tampoco hay un modelo específico para el VHB. Sin embargo, hay suficiente información que indica que algunos de los virus de ADN grande pueden representar el VHB. En el pasado, se usaron chimpancés para estudiar la depuración del VHB. Sin embargo, actualmente no se requieren o necesitan estudios con chimpancés para estudiar la validación de la depuración del VHB. Debe notarse que la efectividad de las metodologías establecidas de desactivación y remoción viral está relativamente bien establecida para ciertos virus. Al realizar estudios de validación viral, la FDA desea asegurar que los fabricantes puedan adaptar exitosamente las metodologías establecidas a sus procesos manufactureros, y lograr un nivel esperado de depuración para virus conocidos.

VHC. Este virus tampoco crece en cultivos, por lo que hay una variedad de virus modelos aceptables que se usan para la validación de la depuración.

El VHA sí crece en cultivos de células, por lo que la expectativa es que se usaría el virus real en sus estudios de validación.

Para el parvovirus B19, que es un virus no encapsulado, existe también una serie de virus pequeños no encapsulados que se usan como modelos para el B19.

En resumen, un panel de virus para los estudios de validación viral debe incluir el VIH y el

VHA usando el virus real, y debe usar virus modelos para el VHB, VHC, y el B19. Con respecto al B19, probablemente estén al tanto de que hay algunos medios de cultivo para el B19 que todavía se consideran experimentales. Por lo tanto, esperamos que el fabricante se apoye en virus modelos para el B19. Los virus modelos para el B19 normalmente tienen una alta resistencia a la desactivación, comparados con el B19 cultivado, y son por lo tanto más idóneos para los estudios de desactivación.

DIPOSITIVA 14

La validación a pequeña escala o a escala de laboratorio es otro componente importante de los estudios de validación viral en general que debe evaluarse. La pequeña escala debe incluir todos los parámetros críticos que están presentes en el proceso real. Por ejemplo, en los valores relativos a la cromatografía para el volumen, se considerarán el tamaño y la geometría. Y en el filtrado, uno espera que la presión, el volumen respecto al área de superficie del filtro, y el índice de flujo sean los mismos para el estudio a pequeña escala que para el proceso manufacturero real. Los valores absolutos, tales como la temperatura y el tiempo de incubación deben ser idénticos en la escala de laboratorio y en la escala de fabricación.

DIPOSITIVA 15

A medida que se diseña el estudio a pequeña escala, necesita ser validado observando ciertas características del producto, como la recuperación del producto. En general, el método de producción a pequeña escala debe reflejar el proceso a escala normal en la mayor medida posible. Igualmente, se deben realizar muchas tiradas de producción sin el virus, para asegurar que la escala pequeña de hecho representa el paso real considerado. También debe haber alguna comparación estadística con el proceso real. Si hay algunas diferencias inevitables entre la pequeña escala y la escala real, las cuales son esperadas, entonces deberán proporcionarse algunos estudios de validación para mostrar que este tipo de variación no impacta la capacidad general de depuración de virus, y no está sobreestimando la matanza o eliminación del virus. Una vez más, como ya se mencionó, uno debe asegurarse de que lo que se hace en el laboratorio representa el paso real del proceso manufacturero.

DIPOSITIVA 16

En el caso de desactivación, la validación debe proporcionar la cinética y extensión de la desactivación. Los datos cinéticos nos dirán qué tan rápida y eficientemente se logró la desactivación. Tomen, por ejemplo, la desactivación por calor del PRV a 60 grados por 10 horas, hecho en dos lugares diferentes para dos productos diferentes, logrando el mismo nivel de reducción de virus. Los estudios cinéticos podrán mostrar que para un producto, la desactivación ocurrió en los primeros 30 minutos, mientras que para el otro producto, la desactivación podría haberse logrado sólo después de 10 horas. La desactivación más lenta puede ocurrir cuando un fabricante usa una concentración más alta de un estabilizador, que también estabiliza el virus. Aquí los datos cinéticos mostrarían que la desactivación fue más robusta y efectiva para un producto y menos para el otro. Por lo tanto, los datos recibidos de los estudios cinéticos son muy importantes para establecer si el paso es efectivo o no.

Si el paso es la eliminación o remoción, la FDA desea ver dónde se encuentra el virus eliminado.

DIAPOSITIVA 17

En general, para un producto derivado del plasma, la FDA espera que el proceso manufacturero tenga por lo menos dos pasos de depuración. Los pasos de remoción son difíciles de reducir en escala y de validar. También son inherentemente menos confiables. Por lo tanto, en un proceso manufacturero, la dependencia absoluta en los pasos de eliminación o remoción para la depuración de virus no es aceptable. Por lo menos uno de los pasos de depuración debe ser desactivación.

Debido a la dificultad de remover virus no encapsulados, como el B19 y el VHA, y debido a que estos virus no son desactivados, especialmente en el caso del B19, se espera que se incluya por los menos un paso de remoción en el proceso manufacturero. Desde luego, éstos dependerán del tipo de productos. Algunos productos se consideran como a un riesgo más elevado de contaminación a partir de virus no encapsulados. Para otros, el riesgo es muy pequeño. Por lo tanto, cuánta capacidad de eliminación es necesaria dependerá del proceso manufacturero y del producto.

DIAPOSITIVA 18

La otra cosa que se debe considerar es evaluar el efecto de cambios manufactureros en la capacidad de depuración viral del proceso. Cuando la FDA recibe un suplemento que informa sobre uno o varios cambios en un proceso, la primera cosa que se considera es el impacto potencial del cambio sobre la depuración viral en general. Por lo tanto, si se hacen cambios en la producción y purificación, deberá determinarse el efecto de esos cambios en las depuraciones virales, y podrán requerir de nuevos estudios de validación viral.

DIAPOSITIVA 19

Los criterios generales para un paso efectivo de depuración de virus se delinean en esta diapositiva.

Se necesita de una depuración viral significativa. Los pasos que se incluyen para las depuraciones virales se consideran más efectivos si son reproducibles y controlables. Hay una mayor garantía con respecto a tales pasos, especialmente si pueden ser fácilmente reducidos en escala y validados. La mayoría de los pasos de desactivación caen dentro de esta categoría. Algunos ejemplos son los tratamientos con detergente solvente y tratamientos de calor. Otros criterios para demostrar que una metodología de depuración es efectiva es mostrar que existe un impacto mínimo en la calidad del producto y también en la potencia del producto. Esencialmente, el virus necesita ser depurado, sin dañar el producto o sin que éste se vuelva menos potente. Igualmente, el paso de depuración no debe generar nuevos antígenos que puedan causar inmunogenicidad.

DIAPOSITIVA 20

Los datos de validación proporcionan un estimado de la capacidad del proceso manufacturero de depurar los virus. La validación no hace que el producto sea más seguro, pero proporciona la garantía de seguridad. Existen algunas limitaciones inherentes a los estudios de validación que se deben tener en cuenta. Por ejemplo, las cepas de virus que se usan en los estudios de validación podrán ser diferentes que los tipos salvajes. Esto se demuestra por medio de una serie de estudios que muestran que incluso diferentes cepas del mismo virus pueden generar niveles diferentes de depuración. El modelo a escala reducida, o el modelo de laboratorio que se usa en los estudios de validación, podría no representar plenamente el paso real en el proceso manufacturero real. También hay una

tendencia a sobreestimar la matanza viral y la depuración viral.

La otra limitación que se debe tener en cuenta es la de la eliminación o remoción por filtrado, que puede declinar a medida que el proceso de filtrado procede. Un ejemplo sería un paso de nano-filtrado. En ese paso, la capacidad de depurar el virus para el volumen inicial de producto filtrado podrá ser diferente que el volumen subsiguiente del producto. Este fenómeno se ha demostrado en una serie de estudios. Estas son las limitaciones que se necesitan tomar en cuenta cuando se evalúan los estudios de validación viral.

DIAPOSITIVA 21

A pesar de las limitaciones que se acaban de indicar, los pasos de depuración viral en general han proporcionado una excelente seguridad viral con respecto a los virus encapsulados. Las metodologías de desactivación disponibles han demostrado ser muy efectivas para depurar los virus encapsulados.

Sin embargo, todavía existen limitaciones con respecto a la depuración de virus no encapsulados, tales como el VHA y el B19. La razón es que la mayoría de los pasos de desactivación bien establecidos tienen poco o ningún efecto en los virus no encapsulados. Por ejemplo, el tratamiento de calor tiene un poco de efecto en el virus de la Hepatitis A, especialmente si se usa calor en la solución o pasteurización. Sin embargo, la desactivación por calor no es efectiva en contra del B19, como se muestra con el uso de virus modelo para el B19.

DIAPOSITIVA 22

La razón por la que el B19 se considera un problema es porque es un virus pequeño no encapsulado, resistente a la desactivación, y debido a su pequeño tamaño, es difícil de remover. También, el virus podría estar presente en un título muy alto en las reservas manufactureras de plasma.

Los nano-filtros con tamaños de poro pequeño podrían eliminar el B19 en gran medida. Sin embargo, usar un filtro con tamaño de poro pequeño podría no ser práctico para la mayoría de los productos con los que lidiamos, debido a su tamaño molecular grande, y también porque no es práctico filtrar un volumen muy grande del producto a través de filtros con tamaño de poros pequeño en un lapso de tiempo razonable.

DIAPOSITIVA 23

Con respecto al B19, la FDA recomienda que las unidades de plasma fuente que contengan un alto nivel de ADN de B19 deben detectarse y excluirse de la reserva manufacturera. Esto se hace realizando pruebas de mini reservas. La prueba NAT del B19 se realiza solamente si el plasma está destinado a atravesar por más procesamiento manufacturero. Actualmente, las donaciones de plasma destinadas a mayor procesamiento manufacturero se analizarán para detectar el B19 en un formato de mini reserva, y cualquier unidad que contenga un cierto nivel de ADN del B19 se excluirá de la reserva manufacturera. El límite general de ADN del B19 para la reserva manufacturera es 4 unidades logarítmicas por mililitro. La razón para analizar para detectar el ADN del B19 es el alto título de virus en una unidad infectada, y el hecho de que el virus es difícil de eliminar o desactivar, debido a su tamaño pequeño y a su resistencia a la desactivación. Se espera que niveles limitados de ADN del B19 en la reserva manufacturera, combinados con la presencia de anticuerpos anti-B19 en una reserva manufacturera, y la contribución de

otros pasos de depuración viral en el proceso manufacturero, eliminarán o reducirán en gran medida el virus residual, y con ello se reduce el riesgo de infección del virus B19. La FDA ha emitido una orientación que esboza las recomendaciones de la FDA con respecto al B19 en productos fabricados.

DIAPPOSITIVA 24

En las próximas diapositivas encontrará una lista de referencias, orientaciones, e información de contacto que podrán ser útiles.

DIAPPOSITIVA 25

Y esta diapositiva enumera más materiales de referencia.

DIAPPOSITIVA 26

Para más información, usen la información de contacto que se indica aquí.

DIAPPOSITIVA 27

Pueden encontrar información adicional en estos sitios Web.

DIAPPOSITIVA 28

Esto concluye la presentación, “La Seguridad Viral de los Productos Derivados del Plasma”
En esta oportunidad quisiéramos reconocer a todos aquellos que contribuyeron a su desarrollo. Gracias.