



ansm
Agence nationale de sécurité du médicament
et des produits de santé

DIRECTION DE L'INSPECTION

Pôle inspection des matières premières

insmp@ansm.sante.fr

Pôle inspection des produits biologiques 1

insbio1@ansm.sante.fr

SYNTHESE D'INSPECTIONS

Thème : Activités de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant

Résumé :

Au travers d'une revue de la réglementation applicable et de l'analyse des activités des établissements inspectés, ce travail présente les spécificités liées à l'activité de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant.

Cette étude a été réalisée à partir d'une analyse rétrospective de 22 inspections conduites entre 2014 et 2019 et impliquant 15 établissements, dont 8 situés en France.

Des rappels concernant les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) applicables à cette activité ont également été intégrés à cette étude, notamment au regard de la fabrication des substances actives formulées.

Mots-clés : inspection, BPF, substance active, biotechnologies, ADN recombinant.



Table des matières

1	Présentation de l'étude	3
1.1	Eléments de contexte	3
1.2	Objectifs	3
1.3	Méthodologie	3
2	Revue de la réglementation	4
2.1	Code de la santé publique (France)	4
2.2	Bonnes pratiques de fabrication applicables aux substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant ..	4
2.3	Pharmacopée Européenne	5
3	Informations générales concernant les établissements inspectés	6
3.1	Répartition géographique	6
3.2	Effectif	6
3.3	Activités des établissements	6
3.4	Configuration des locaux et des équipements de fabrication	7
3.5	Caractéristiques des substances actives fabriquées	7
4	Analyse des résultats obtenus	8
4.1	Vue d'ensemble	8
4.2	Thématiques BPF associées aux constats relevés	9
4.2.1	Chapitres du référentiel BPF Partie II	9
4.2.2	Autres référentiels utilisés	11
4.2.2.1	Vue d'ensemble	11
4.2.2.2	Annexe 2 : Fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain	11
4.2.2.3	Annexe 11 : Systèmes informatisés	12
4.2.2.4	LD1 : Fabrication des médicaments stériles	13
4.3	Vue détaillée	13
4.3.1	Equipements de fabrication	13
4.3.1.1	Nettoyage, maintenance et étalonnage	13
4.3.1.2	Systèmes informatisés	14
4.3.2	Bâtiments et installations	14
4.3.2.1	Stockage des banques cellulaires	14
4.3.2.2	Conception	14
4.3.2.3	Utilités	14
4.3.2.4	Eau	15
4.3.2.5	Entretien	15
4.3.3	Contrôle en laboratoire	15
4.3.3.1	Gestion des résultats hors spécifications	15
4.3.3.2	Intégrité des données électroniques	15
4.3.3.3	Contrôle de la substance active	15
4.3.3.4	Contrôle de la fertilité des milieux de culture	16
4.3.4	Gestion des matières	16
4.3.4.1	Qualification des fournisseurs	16
4.3.4.2	Réception et contrôle des matières	17
4.3.4.3	Stockage	17
4.3.5	Documentation et enregistrements	17
4.3.5.1	Enregistrement de l'utilisation des équipements	17
4.3.5.2	Dossiers de production de lot	17
4.3.6	Production	17
4.3.6.1	Paramètres de procédé	17
4.3.6.2	Mélange de lots	18
4.3.6.3	Maitrise de la contamination	18
4.3.7	Management de la qualité	18
4.3.7.1	Revue de qualité produit	18
4.3.7.2	Responsabilité de l'unité qualité	18
4.4	Exigences spécifiques à la fabrication de substances actives biologiques formulées (SAF)	19
5.	Conclusion	20

1 Présentation de l'étude

1.1 Eléments de contexte

Les autorisations de mise sur le marché et les essais cliniques des médicaments issus des biotechnologies ont connu un essor important au cours de ces dix dernières années. Ces médicaments visent de nouvelles cibles thérapeutiques et sont utilisés dans le traitement de maladies graves, notamment immunologiques et oncologiques. Les enjeux sanitaires qui en découlent sont majeurs et la qualité ainsi que la sécurité de ces médicaments doivent être au niveau de l'efficacité qui en est attendue.

Les protéines obtenues par la technologie de l'ADN recombinant sont le résultat d'une modification génétique qui consiste à introduire, le plus souvent en utilisant comme vecteur un plasmide ou un virus, de l'ADN codant pour la substance souhaitée dans un microorganisme approprié (bactérie ou levure par exemple) ou une lignée cellulaire appropriée d'origine mammifère, végétale ou issue d'insectes. La cellule hôte est alors appelée système d'expression puisque l'ADN introduit peut alors être exprimé en protéines. Ces étapes correspondent à la production de biomasse ou « Upstream process ». La substance exprimée est ensuite récoltée et purifiée selon différentes techniques, comme par exemple, la précipitation, la centrifugation, la filtration ou la chromatographie. Les étapes de récolte et de purification sont communément appelées « Downstream process ».

Parmi les protéines produites par la technologie de l'ADN recombinant et utilisées comme substance active du médicament, figurent des facteurs de croissance, des cytokines, des hormones, des enzymes des vaccins et des anticorps monoclonaux.

La nature biologique des matières utilisées et les conditions des procédés de culture (pouvant offrir aux contaminants microbiens extrinsèques l'opportunité de se développer) imposent des exigences strictes en matière de conditions de fabrication et de contrôle, et ce afin de réduire les risques de contamination et de contamination croisée.

C'est dans ce sens que la réglementation applicable à la fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain a évolué avec l'annexe 2 du guide des bonnes pratiques de fabrication. La dernière mise à jour de cette annexe fait suite à la décision du directeur général de l'ANSM en date du 6 mai 2019 modifiant la décision du 29 décembre 2015 modifiée relative aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments.¹

1.2 Objectifs

Les principaux objectifs de cette étude sont :

- d'appréhender les spécificités des établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant ;
- d'analyser les principaux constats relevés dans le cadre de cette analyse rétrospective ;
- de rappeler les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) applicables à cette activité.

1.3 Méthodologie

La méthodologie mise en œuvre a impliqué :

- une revue de la réglementation applicable ;
- l'analyse des données relatives à l'activité des établissements, extraites des dossiers de télé-enregistrement (document regroupant les principales informations relatives aux activités de fabrication, d'importation et de distribution de matières premières à usage pharmaceutique pour les établissements situés sur le territoire national) et des informations transmises dans le cadre des inspections sur site ;
- l'analyse des résultats obtenus suite aux 22 inspections impliquant 15 établissements réalisées entre 2014 et 2019.

¹ [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain/\(offset\)/3](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Elaboration-de-bonnes-pratiques/Bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain/(offset)/3)

2 Revue de la réglementation

2.1 Code de la santé publique (France)

L'article L.5138-2 du code de la santé publique définit les composants des médicaments de la manière suivante :

« 1° *La ou les substances actives. Est une substance active toute substance ou tout mélange de substances destiné à être utilisé pour la fabrication d'un médicament et qui, lorsqu'utilisé pour sa production, devient un composant actif de ce médicament exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique en vue de restaurer, corriger ou modifier des fonctions physiologiques, ou d'établir un diagnostic médical ;*
2° *Le ou les excipients. Est un excipient tout composant d'un médicament autre qu'une substance active et que les matériaux d'emballage. »*

Sur le plan de l'enregistrement auprès de l'ANSM des activités relatives aux matières premières à usage pharmaceutique, l'article L.5138-1 du code de la santé publique prévoit :

- un régime d'autorisation pour les établissements exerçant des activités de fabrication, d'importation et de distribution de substances actives (substances actives pour essais cliniques incluses) ;
- un régime déclaratif pour les établissements exerçant ces mêmes activités pour les excipients.

Les modalités des demandes d'autorisation et de déclaration de ces activités ainsi que leur forme et contenu sont définies aux articles R.5138-1, R.5138-2-1 et R.5138-2-2 du code de la santé publique, ainsi que dans la décision du Directeur Général de l'ANSM du 24 février 2015.²

2.2 Bonnes pratiques de fabrication applicables aux substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant

La partie II des BPF fixe les exigences applicables à la fabrication des substances actives et elles sont complétées par l'annexe 2 du guide des BPF, relative à la fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain.

L'annexe 2 des BPF comprend deux parties :

- La partie A contient des orientations générales pour la fabrication des substances actives et des médicaments biologiques, depuis le contrôle des lots de semence et des banques de cellules jusqu'aux activités de finition et au contrôle ;
- La partie B contient d'autres orientations spécifiques à certains types de substances actives et de médicaments biologiques. Les produits issus de la technologie de l'ADN recombinant relèvent du chapitre B5 (produits recombinants), et selon leur type, des chapitres B2 (produits allergènes), B4 (vaccins), et B6 (produits à base d'anticorps monoclonaux).

Il est rappelé que la stérilisation et les procédés aseptiques sur les substances actives stériles sont couverts par la ligne directrice 1 du guide des BPF, qui inclut notamment les exigences relatives à la classification des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée.

² Décision du 24 février 2015 fixant la forme et le contenu de la demande d'autorisation des activités de fabrication, d'importation ou de distribution de substances actives, et de la déclaration des activités de fabrication, d'importation ou de distribution d'excipients prévues à l'article L. 5138-1 du code de la santé publique (parue au JORF n°0070 du 24 mars 2015) : https://www.legifrance.gouv.fr/download/pdf?id=ev8iTFInpvpX-0ILPRbnja_RnHomPM8tT8dp-IOuYrs=

La figure 1 ci-dessous rappelle certaines des exigences BPF en fonction des étapes de fabrication de la substance active biologique à partir d'un procédé type, extraites du chapitre 18 de la partie II des BPF et de l'annexe 2 des BPF.

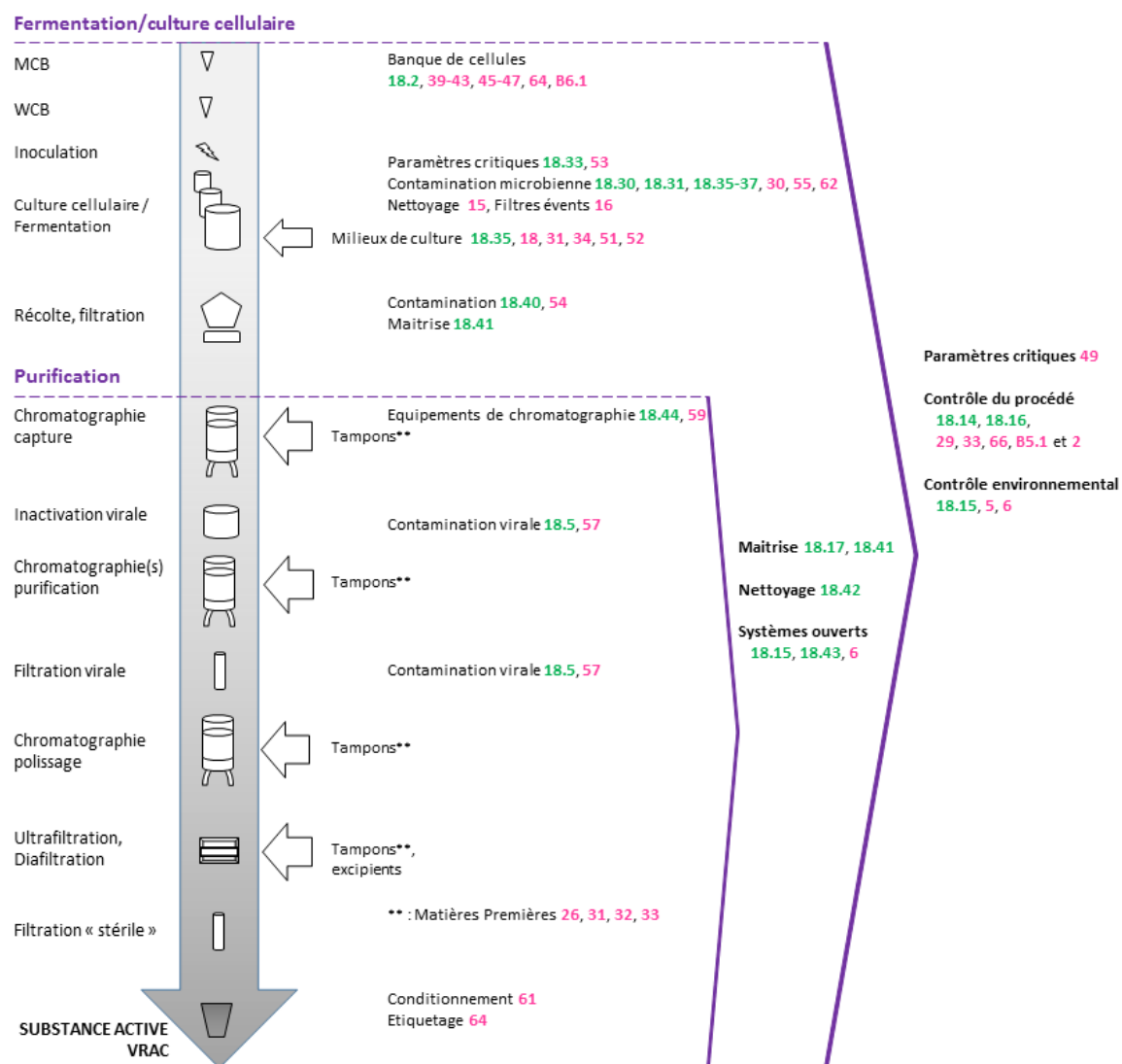


Figure 1. Illustration d'exigences de la partie II des BPF et de l'annexe 2 pour un procédé type de fabrication (en vert : Partie II des BPF, en rose : Annexe 2 des BPF)
(MCB : Master Cell Bank ou banque de cellules mère / WCB : Working Cell Bank ou banque de cellules de travail)

2.3 Pharmacopée Européenne

La monographie générale n°0784 « Produits obtenus par la méthode dite de l'ADN recombinant » définit des spécifications générales sur la fabrication et le contrôle de ces produits pour chacune des étapes clés de leur fabrication.

La monographie générale n°5.2.12 « Matières premières d'origine biologique utilisées pour la production des médicaments à base de cellules et des médicaments de thérapie génique » contient des exigences de qualité requises pour ces substances, et inclut une section relative aux protéines produites par la méthode dite de l'ADN recombinant.

Des éléments complémentaires sont également fournis par d'autres monographies plus spécifiques aux types de produits, notamment la monographie n°2031 « Anticorps monoclonaux pour usage humain » et la monographie n°0153 « Vaccins pour usage humain ».

3 Informations générales concernant les établissements inspectés

3.1 Répartition géographique

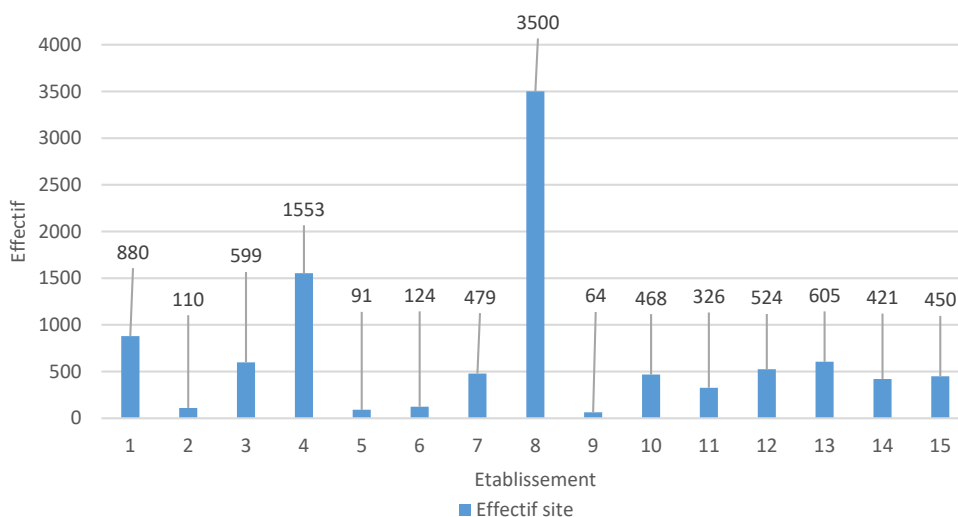
Cette analyse rétrospective a porté sur 22 inspections, conduites entre 2014 et 2019, et impliquant 15 établissements réalisant des activités de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant. Un tiers de ces inspections (soit 7 sur 22) ont été effectuées à la demande de l'agence européenne du médicament (EMA), les 15 autres inspections faisant partie du programme d'inspection de l'ANSM.

Ces 15 établissements se répartissent de la manière suivante :

- 8 situés en France ;
- 5 situés en Asie (Inde, Malaisie, Singapour, Japon) ;
- 1 situé aux Etats-Unis ;
- 1 situé en Argentine.

3.2 Effectif

Le graphique 1 ci-dessous regroupe, à titre d'information, l'effectif des différents établissements inspectés.



Graphique 1 : Effectif global des sites inspectés

3.3 Activités des établissements

7 des 15 établissements inspectés fabriquaient des lots de substances actives pour essais cliniques, dont 5 exclusivement pour cet usage.

3 établissements fabriquaient sur le même site la(les) substance(s) active(s) ainsi que la(les) spécialité(s) pharmaceutique(s) correspondante(s).

A l'exception d'un établissement réalisant uniquement des activités de type « downstream », tous les autres établissements inspectés réalisaient à la fois des activités de type « upstream » et « downstream ».

3.4 Configuration des locaux et des équipements de fabrication

Tous les établissements inspectés disposaient de locaux distincts pour les activités « upstream » et « downstream ». Par ailleurs, lorsque la fabrication de différentes substances actives sur le même site impliquait l'utilisation de systèmes d'expression spécifiques (levure et bactérie par exemple), les lignes de production correspondantes étaient totalement séparées.

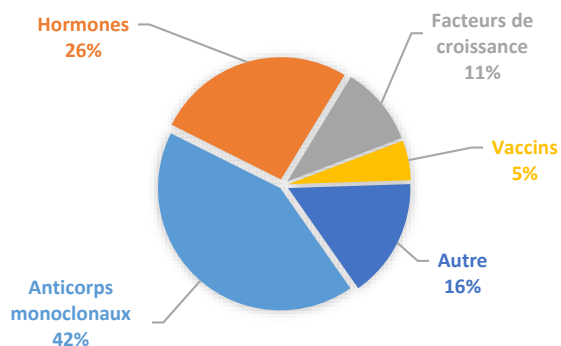
La moitié des établissements inspectés disposaient de lignes de production dédiées par produit. La plupart des autres établissements utilisaient principalement des équipements à usage unique pour la partie « upstream » (notamment des fermenteurs et des bioréacteurs) ainsi que des équipements dédiés pour les étapes de purification (résines de chromatographie notamment).

Enfin, de manière générale, les procédés utilisés mettaient en œuvre des équipements de haute technologie, parfois fabriqués sur mesure (fermenteurs, bioréacteurs, résines de chromatographie...), et la plupart des connectiques utilisées étaient à usage unique.

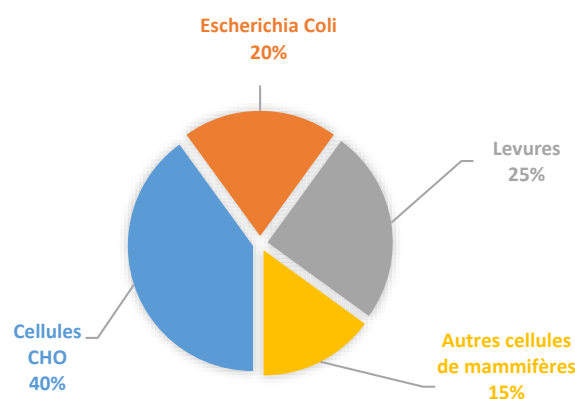
3.5 Caractéristiques des substances actives fabriquées

Les substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant étaient principalement des anticorps monoclonaux, des hormones et des facteurs de croissance, comme le montre le graphique 2 ci-dessous.

L'utilisation de cellules de mammifères, et plus spécifiquement des lignées cellulaires issues d'ovaires de hamsters de Chine (cellules CHO), constituait le principal système d'expression utilisé par les établissements inspectés (40%). Les bactéries représentaient quant à elles 20% des cas, avec des systèmes uniquement développés avec *Escherichia coli*, contrairement aux levures pour lesquelles divers systèmes d'expression ont été utilisés (cf. graphique 3).



Graphique 2 : Types de substances actives fabriquées



Graphique 3 : Système d'expression utilisé

L'ensemble des substances actives était destiné à un usage humain avec un mode d'administration sous forme injectable.

11 des 15 établissements inspectés fabriquaient des substances actives sous forme de solution, en formulation avec des excipients. Ces excipients, ajoutés aux étapes finales de fabrication, étaient la plupart du temps destinés à stabiliser la substance active et devenaient des composants du médicament en ce sens qu'ils persistaient dans la formulation finale. C'était notamment le cas lors de la fabrication des anticorps monoclonaux.

Quelquefois, la composition obtenue et l'ajustement de la concentration ainsi réalisée visaient à obtenir la formulation finale du médicament. Des étapes de filtration stérilisante et de conditionnement étaient alors réalisées sur le même site de fabrication ou sur un autre site, le cas échéant.

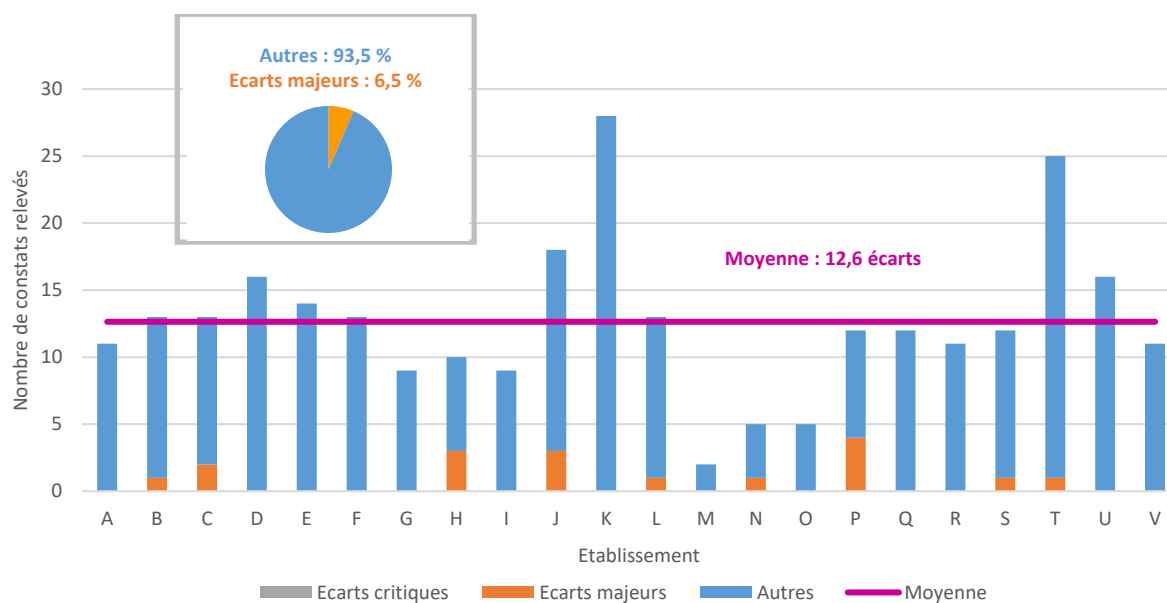
Si la fabrication d'une substance active est soumise aux exigences de la partie II des BPF, les dernières étapes de fabrication d'une substance active formulée se situent dans certains cas à la frontière avec la fabrication d'un produit intermédiaire, qui relève de la Partie I des BPF. Afin de lever toute ambiguïté,

il convient donc de se reporter aux informations contenues dans les dossiers réglementaires afin d'identifier les activités couvertes par la Partie II des BPF (fabrication de la substance active). Des informations complémentaires sont également disponibles à la question/réponse N°12 (février 2017) du document de l'EMA intitulé « *Questions and answers : EU GMP guide part II : Basic requirements for active substances used as starting materials : GMP compliance for active substance* »³

4 Analyse des résultats obtenus

4.1 Vue d'ensemble

Le graphique 4 regroupe le nombre et le niveau de criticité des 261 constats relevés lors des 22 inspections d'établissements réalisant des activités de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant.



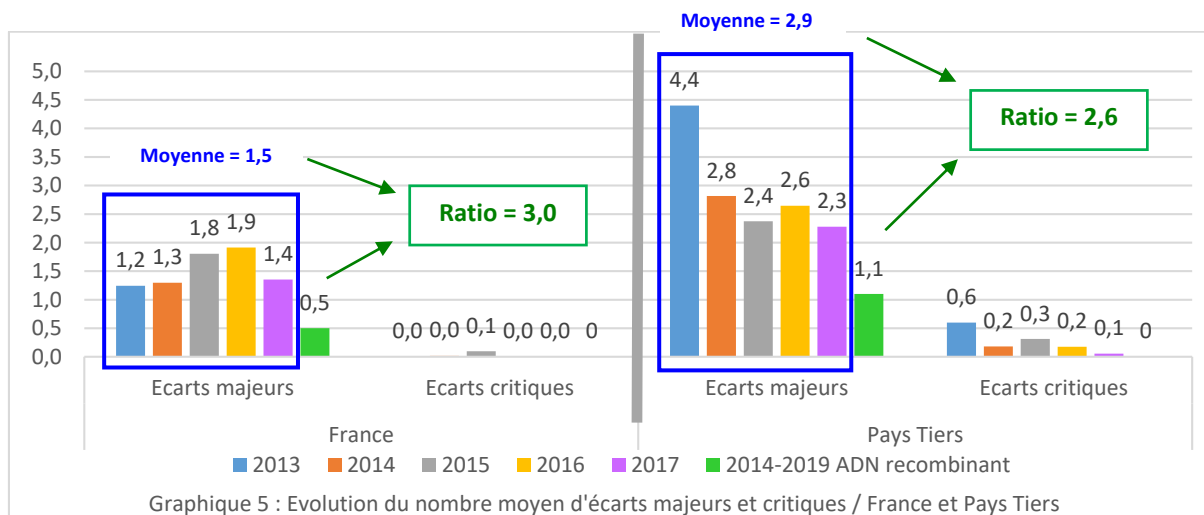
Graphique 4 : Nombre et type de constats par rapport au référentiel BPF Partie II

On peut tout d'abord constater l'absence d'écarts critiques ainsi qu'une très faible proportion d'écarts majeurs par rapport à l'ensemble des constats relevés (17 écarts majeurs sur un total de 261 constats soit 6,5%). Par conséquent, la très grande majorité des constats relevés au cours de cette étude concerne des constats classés « autres » (93,5% de l'ensemble des constats relevés).

Par ailleurs, une moyenne d'environ 13 écarts par inspection a été obtenue (tous niveaux de criticité confondus) et près de 60% des inspections réalisées (soit 13 sur 22) ont conduit à l'absence d'écart majeur.

Comme le montre le graphique 5, on constate également qu'en moyenne, environ trois fois plus d'écarts majeurs ont été relevés dans le cadre des inspections des établissements de fabrication de substances actives (tous procédés de fabrication confondus) pour la période 2013-2017, correspondant aux données issues d'une précédente étude (rectangle bleu), par rapport aux inspections des établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant pour la période 2014-2019. Par ailleurs, cette proportion varie peu lorsque l'on compare les établissements situés en France par rapport à ceux situés en pays tiers dans la mesure où elle s'établit respectivement à 3,0 et à 2,6.

³ <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/guidance-good-manufacturing-practice-good-distribution-practice-questions-answers#eu-gmp-guide-part-ii:-basic-requirements-for-active-substances-used-as-starting-materials:-gmp-compliance-for-active-substances-section>

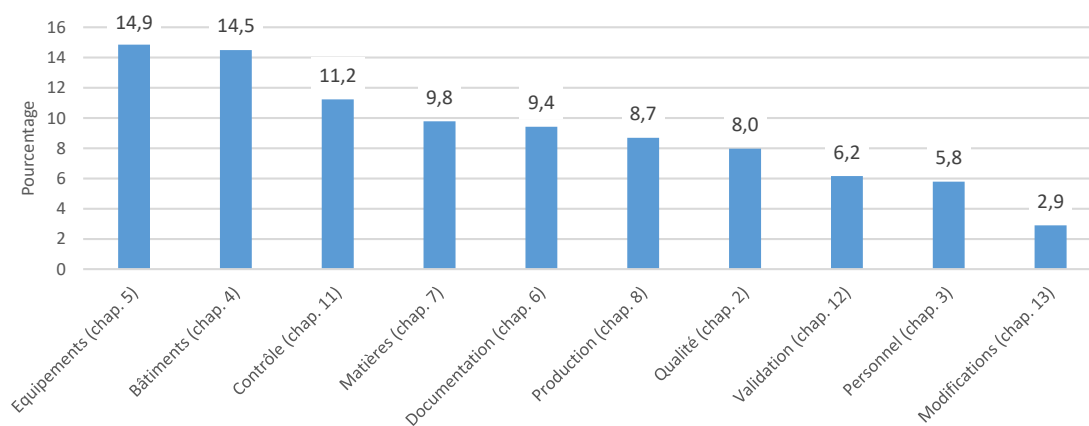


Ces différents éléments mettent en évidence un meilleur niveau global de conformité aux BPF pour les établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant par rapport à l'ensemble des établissements de fabrication de substances actives (tous procédés de fabrication confondus).

4.2 Thématiques BPF associées aux constats relevés

4.2.1 Chapitres du référentiel BPF Partie II

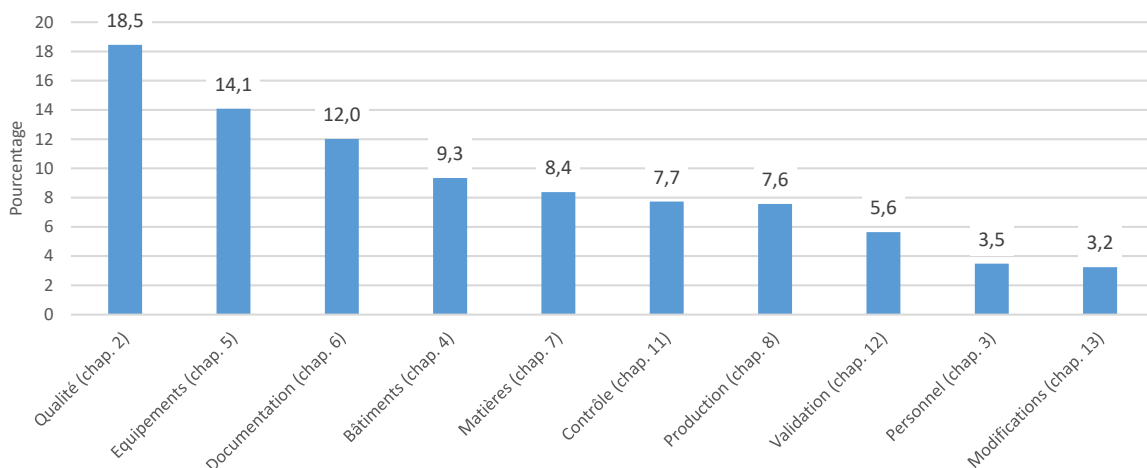
La compilation des constats relevés (tous niveaux de criticité confondus) à la suite de l'inspection des établissements de fabrication de substances actives issues de la technologie l'ADN recombinant pour la période 2014-2019 a permis d'identifier les 10 principales contributions suivantes aux différents chapitres du référentiel BPF Partie II (cf. graphique 6).



Graphique 6 : Sélection des 10 principales contributions moyennes aux chapitres du référentiel BPF Partie II (ADN recombinant / 2014-2019) - Pourcentage par rapport à l'ensemble des écarts relevés

Les chapitres relatifs aux équipements de fabrication (chapitre 5), aux bâtiments et installations (chapitre 4) et au contrôle qualité (chapitre 11) constituent les principaux axes de progrès pour ce type d'établissements.

A titre de comparaison, la compilation des constats relevés (tous niveaux de criticité confondus) à la suite de l'inspection des établissements de fabrication de substances actives (tous procédés de fabrication confondus) entre 2013 et 2017 a également été réalisée (cf. graphique 7).



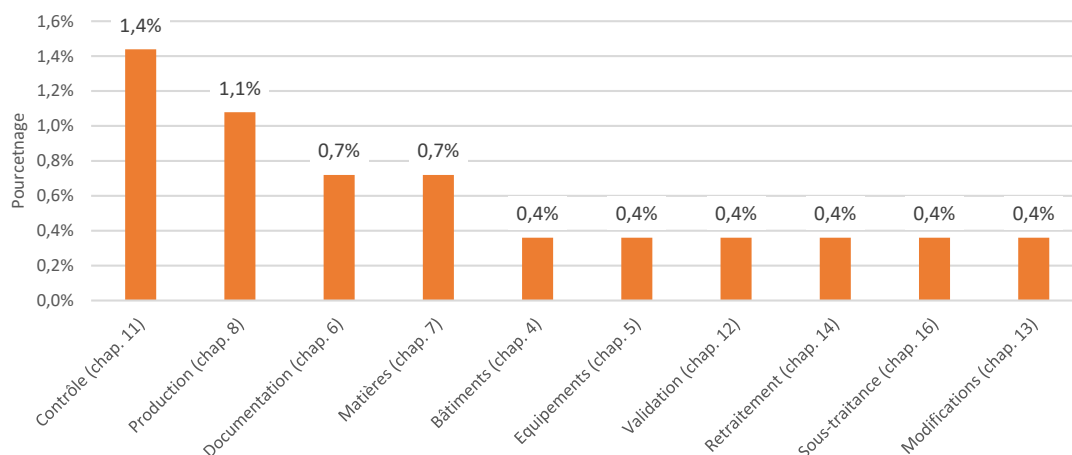
Graphique 7 : Sélection des 10 principales contributions moyennes aux chapitres du référentiel BPF Partie II (tous sites / 2013-2017) - Pourcentage par rapport à l'ensemble des écarts relevés

La comparaison des graphiques 6 et 7 permet de mettre notamment en évidence les éléments suivants :

- Le chapitre relatif aux équipements de fabrication (chapitre 5) constitue une thématique significative pour ces deux populations puisqu'il fait partie des deux premières contributions ;
- Les défaillances en lien avec le système qualité constituent la principale contribution pour les établissements de fabrication de substances actives (tous procédés de fabrication confondus) inspectés entre 2013 et 2017 alors que cette thématique est globalement mieux maîtrisée pour les établissements de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant ;
- Les carences en lien avec les bâtiments (chapitre 4) et le contrôle (chapitre 11) sont d'autres thématiques significatives pour les établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie l'ADN recombinant.

Des informations complémentaires relatives à la typologie des principaux constats relevés au sein des établissements de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN sont également disponibles au paragraphe 4.3.

Si l'on prend maintenant uniquement en compte les thématiques du référentiel BPF Partie II associées aux écarts majeurs relevés, les chapitres relatifs au contrôle qualité et à la production se détachent légèrement par rapport aux autres contributions, comme on peut le constater dans le graphique 8 suivant :

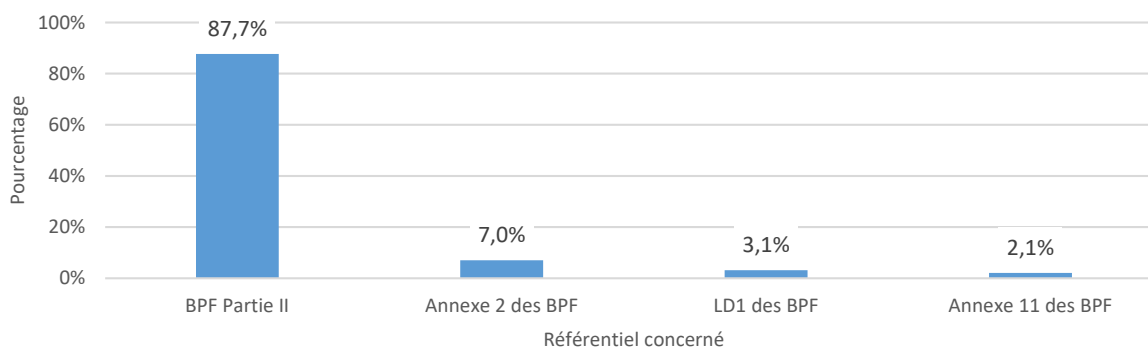


Graphique 8 : Contributions moyennes aux chapitres du référentiel BPF Partie II pour les écarts majeurs (ADN recombinant / 2014-2019) - Pourcentage par rapport à l'ensemble des écarts relevés

4.2.2 Autres référentiels utilisés

4.2.2.1 Vue d'ensemble

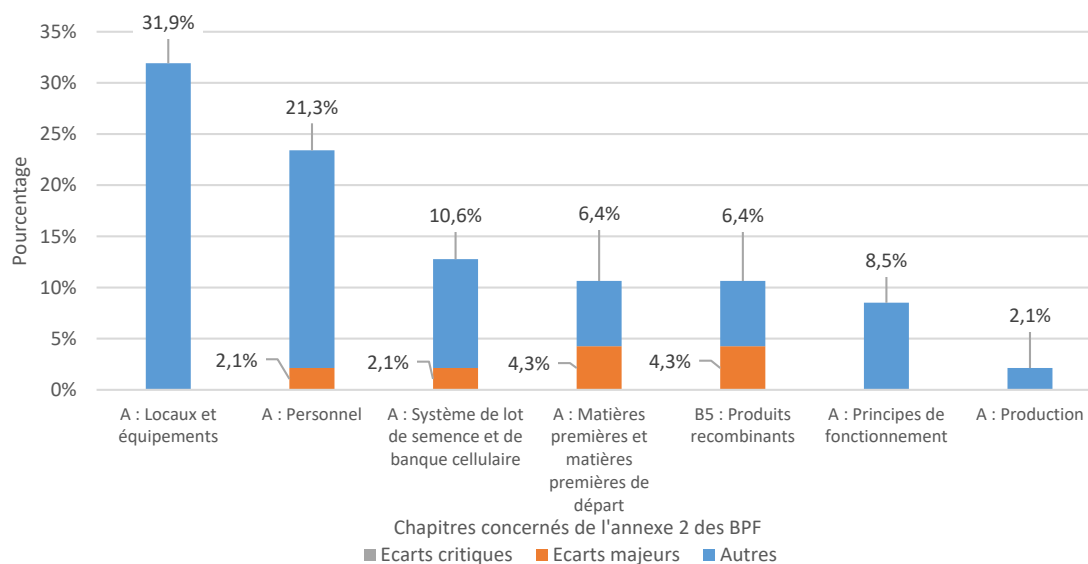
La proportion des différents référentiels utilisés par rapport au nombre total de références BPF relevées dans le cadre de cette analyse rétrospective apparaît dans le graphique 9 ci-dessous :



Graphique 9 : Proportion de chaque référentiel par rapport à l'ensemble des références BPF relevées lors de cette étude (ADN recombinant / 2014-2019)

Des informations complémentaires relatives aux principaux chapitres identifiés pour chacun de ces référentiels sont disponibles dans les graphiques 10 à 12 inclus.

4.2.2.2 Annexe 2 : Fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain



Graphique 10 : Contribution moyennes aux chapitres concernés de l'annexe 2 des BPF pour chaque niveau de criticité (ADN recombinant / 2014-2019) - Pourcentage des références BPF mentionnant l'annexe 2

Les données issues du graphique 10 confirment la relative maturité BPF des établissements de fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant puisque la très grande majorité des références BPF mentionnant l'annexe 2 concernent des constats jugés « Autres » (87%) et seuls 13% d'entre eux concernent des écarts majeurs.

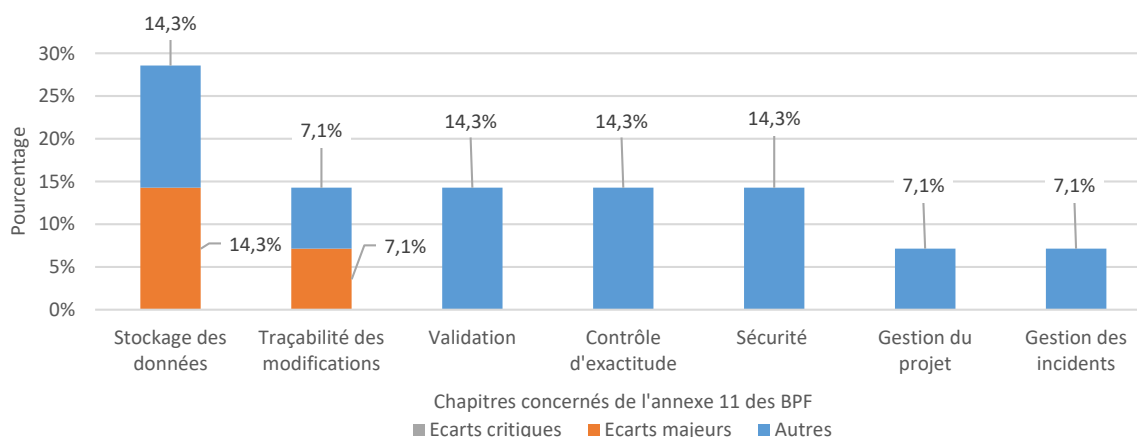
Par ailleurs, plus de la moitié de ces références BPF concernent d'une part les locaux et les équipements utilisés et d'autre part le personnel.

S'agissant des locaux et des équipements, les principaux manquements sont en lien avec la conception, la surveillance environnementale (incluant la conception des cascades de pression, leur gestion et la maintenance des équipements) ainsi que les risques de contamination associés.

En ce qui concerne le personnel, des carences en lien avec la formation et les flux en ZAC ont principalement été identifiées.

4.2.2.3 Annexe 11 : Systèmes informatisés

Au cours de ces dernières années, de nombreuses sociétés impliquées dans les activités de fabrication et de contrôle de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant ont fait évoluer leurs systèmes informatisés incluant notamment les automates de production. Par conséquent, certains constats relevés au cours de cette étude concernent des manquements aux exigences de l'annexe 11 des BPF pour les systèmes informatisés utilisés dans le cadre d'activités relevant des BPF, comme le montre le graphique 11 ci-dessous.



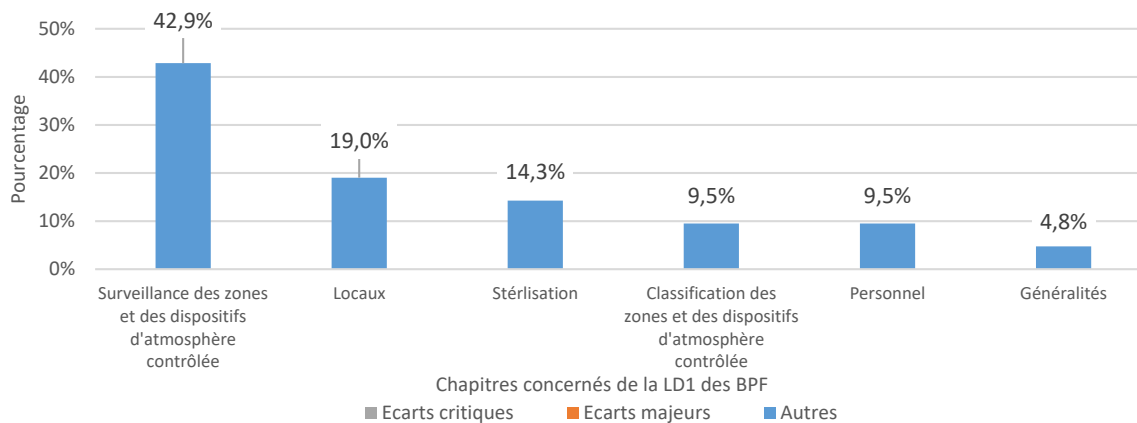
Graphique 11 : Contributions moyennes aux chapitres concernés de l'annexe 11 des BPF pour chaque niveau de criticité (ADN recombinant / 2014-2019) - Pourcentage des références BPF mentionnant l'annexe 11

Avec près de 30% des références BPF en lien avec l'annexe 11 et 14% des écarts majeurs relevés, la principale thématique concerne le stockage des données. Cela concerne essentiellement des carences dans le système de sauvegarde des données électroniques générées au sein des laboratoires de contrôle, à savoir l'absence de procédures, des défaillances dans la stratégie de sauvegarde des données, l'absence de vérification de l'accessibilité, de la lisibilité et de l'exactitude des données sauvegardées.

Les autres écarts relevés se répartissent de manière plus homogène sur plusieurs chapitres de l'annexe 11 des BPF, notamment ceux relatifs à la traçabilité des modifications, à la validation, au contrôle d'exactitude et à la sécurité (environ 14% pour chacun d'entre eux). On peut cependant noter qu'environ 7% des écarts majeurs relevés concernent des manquements en lien avec la traçabilité des modifications. Cela concerne essentiellement des carences dans la gestion des « audit trails » au sein des laboratoires de contrôle (stratégie, formation du personnel, revue).

4.2.2.4 LD1 : Fabrication des médicaments stériles

Ce référentiel a été utilisé lors de la vérification des exigences relatives à la surveillance des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée lorsque l'établissement revendiquait une classe pour ces différentes zones dans le cadre de la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant, revendiquées stériles ou « low bioburden » (faible niveau de biocharge).



Graphique 12 : Contribution moyenne aux chapitres concernés de la LD1 des BPF pour chaque niveau de criticité (ADN recombinant / 2014-2019) - Pourcentage des références BPF mentionnant la LD1

Aucune référence BPF en lien avec la LD1 n'est associée à des écarts majeurs et plus de la moitié d'entre elles concerne la surveillance des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée ainsi que les locaux.

S'agissant de la surveillance des zones et des dispositifs d'atmosphère contrôlée, les principaux manquements concernent les contrôles (particulaires et microbiologiques), la qualification des zones classées (au repos et en activité) et la documentation associée.

En ce qui concerne les locaux, des carences au niveau d'un passe-plat situé entre deux zones classées (absence d'alimentation en air filtré et absence de classification de cette zone), une mauvaise conception de la cascade de pression au niveau d'un sas matériel alimenté en air filtré et l'absence de système d'alarme en cas de déficience de l'alimentation en air filtré des zones classées ont été les principaux éléments identifiés en lien avec cette thématique.

S'agissant des constats relatifs à la stérilisation, ils concernent des manquements en lien avec la validation du procédé de stérilisation d'un autoclave.

4.3 Vue détaillée

Ce chapitre reprend les principaux manquements relevés en inspection au regard des principales contributions moyennes aux chapitres du référentiel BPF Partie II définies dans le graphique 6 (à savoir les 7 principales contributions).

4.3.1 **Equipements de fabrication**

4.3.1.1 *Nettoyage, maintenance et étalonnage*

Les problématiques de nettoyage, de désinfection et de stérilisation constituent près d'un quart des observations en lien avec les équipements utilisés. Or, ces points revêtent une importance particulière dans le cadre de la fabrication de substances actives issues de l'ADN recombinant, puisque des procédés de fermentation ou de culture cellulaire, sensibles aux contaminations par des micro-organismes, sont mis en œuvre et des procédés de purification sont ensuite utilisés afin d'obtenir une qualité microbiologique spécifiée.

Les principaux constats relevés concernent les instructions de nettoyage (ou de stérilisation, le cas échéant) des équipements, l'identification du matériel propre et leurs conditions de stockage ainsi que la durée de validité du nettoyage (ou d'une opération de stérilisation, le cas échéant).

Des carences dans l'entretien de certains équipements critiques, notamment des enregistreurs de

pression différentielle situés en zone de production ont également été identifiées. Certains manquements portent sur des insuffisances dans les stratégies de qualification et de requalification périodique des enceintes de stockage à température contrôlée.

Des manquements dans l'étalonnage de certains équipements critiques ont également été relevés, notamment en ce qui concerne l'absence de raccordement des standards de référence utilisés à des standards certifiés.

Enfin, il a également été relevé l'utilisation de procédures incomplètes et des carences dans les enregistrements relatifs aux tests d'intégrité des filtres et aux tests d'étanchéité des équipements utilisés.

4.3.1.2 Systèmes informatisés

Plusieurs constats en lien avec des systèmes de pilotage d'activités de production ont été relevés. Cela concerne notamment l'absence de prise en compte des messages d'erreur obtenus ou l'utilisation de temporisations de seuils d'alarme de température d'enceintes climatiques sans justification scientifique formalisée.

4.3.2 Bâtiments et installations

4.3.2.1 Stockage des banques cellulaires

Des manquements en lien avec la gestion du risque d'anoxie lors de la manipulation des banques cellulaires stockées dans les cuves de cryoconservation ont été relevés. Cela concerne notamment le report du taux réel d'oxygène à l'extérieur du local de stockage ainsi que les équipements de protection individuelle utilisés.

4.3.2.2 Conception

Des carences dans la conception de certains locaux (notamment schémas aérauliques et cascades de pression) ainsi que dans les flux des matières et du personnel ont été relevées, pouvant générer des risques de contamination.

4.3.2.3 Utilités

Plusieurs constats ont été relevés concernant la gestion des utilités, notamment :

- Des contrôles microbiologiques incomplets sur la vapeur propre, malgré son utilisation dans le cadre de la stérilisation d'ustensiles et d'équipements en contact avec le produit ;
- Des caractéristiques inadaptées de filtres utilisés dans les centrales de traitement d'air (CTA) desservant les zones classées ;
- L'absence de systèmes d'alerte en temps réel en cas de dysfonctionnement d'une CTA lors d'une opération de production ;
- La surveillance environnementale des zones classées incluant l'absence de stratégie basée sur une gestion de risque, des carences relatives à l'emplacement des points de prélèvements, la fréquence et la nature des contrôles réalisés, la documentation et la gestion des déviations associées ;
- La classification des zones à atmosphère contrôlée incluant notamment des insuffisances dans la méthodologie de détermination des points de prélèvement et des carences dans la description des locaux en activité.

4.3.2.4 Eau

Les principaux constats relevés en lien avec cette thématique concernent la conception des boucles d'eau, la production, le suivi de la qualité de l'eau produite (eau purifiée ou eau pour préparations injectables en fonction des étapes de fabrication) et la gestion des incidents, et plus spécifiquement :

- Des erreurs de conception conduisant à la présence d'un « bras mort » ;
- Des carences dans la stratégie de suivi de la qualité microbiologique de l'eau produite en l'absence de seuil d'alerte, de définition des points de prélèvements et d'une fréquence de prélèvement non adossée à une analyse de criticité préalable ;
- Des insuffisances dans les investigations menées à la suite d'une contamination ;
- Des manquements dans la procédure de redémarrage d'une boucle d'eau à la suite d'un incident ou d'un arrêt technique, notamment en termes de vidanges, de désinfection et de stratégie de prélèvement.

4.3.2.5 Entretien

Les principaux manquements relevés concernent la présence, dans les zones de production, d'équipements défectueux ou inadaptés au regard des activités réalisées.

4.3.3 Contrôle en laboratoire

4.3.3.1 Gestion des résultats hors spécifications

Les constats relatifs à des résultats hors spécifications représentent près d'un tiers de ceux relevés dans les laboratoires de contrôle. Ces manquements concernent principalement le non-respect des procédures approuvées, des erreurs de saisie dans les formulaires d'enregistrement (informations manquantes ou erronées), des incohérences dans certaines stratégies utilisées (notamment en termes de reprélèvements et de recontrôles) et des défaillances dans les enquêtes réalisées dans le cadre de la recherche des causes et des plans d'actions correctives et préventives non exhaustifs.

4.3.3.2 Intégrité des données électroniques

Les principaux constats en lien avec l'intégrité des données électroniques générées dans les laboratoires de contrôle concernent des manquements relatifs à :

- La gestion des profils utilisateurs et des privilèges associés ;
- La gestion des mots de passe, notamment l'utilisation d'un mot de passe générique commun à plusieurs utilisateurs ;
- La protection de l'intégrité des données électroniques, notamment l'absence de verrouillage de la date et de l'heure d'acquisition des données ;
- La fréquence de revue des « audit trails » et l'absence d'activation de cette fonction, le cas échéant ;
- L'utilisation de fichiers non validés et/ou non verrouillés pour réaliser des calculs utilisés dans le cadre de certaines analyses libératoires de substances actives ;
- L'absence de procédure décrivant les règles d'intégration manuelle des pics chromatographiques ;
- L'absence de procédures de sauvegarde des données électroniques et de fréquence de sauvegarde ;
- L'absence de vérification de l'intégrité, de l'exactitude et de la capacité à restaurer les données sauvegardées.

4.3.3.3 Contrôle de la substance active

Certains manquements concernent l'absence de comparaison, à intervalles appropriés, du profil d'impureté de la substance active avec celui décrit dans le dossier réglementaire d'enregistrement ou sa comparaison aux données historiques, comme décrit au paragraphe 11.22 de la Partie II des BPF.

4.3.3.4 Contrôle de la fertilité des milieux de culture

Comme mentionné au chapitre 2.6.12 de la Pharmacopée Européenne, le contrôle de fertilité doit être réalisé sur chaque lot de milieu, qu'il soit acheté, prêt à l'emploi ou préparé. Or, il a été constaté au cours de cette étude que cette exigence n'avait pas toujours été respectée par les établissements inspectés.

4.3.4 Gestion des matières

4.3.4.1 Qualification des fournisseurs

La maîtrise des fournisseurs constitue un élément important pour garantir la qualité des substances actives fabriquées, notamment pour les matières en contact avec le produit qui sont souvent obtenues en utilisant des technologies avancées. Cela inclut par exemple les phases stationnaires de chromatographie de purification, les membranes de filtration ou les équipements de fabrication à usage unique comme les poches de milieux de culture. Or, les principaux manquements relevés dans le cadre de la qualification et du suivi des fournisseurs de matières critiques concernaient le non-respect des procédures internes, notamment au niveau des agréments qualité et, le cas échéant, des audits des fabricants d'origine.

Par ailleurs, comme mentionné au chapitre 3.5, de nombreuses substances actives fabriquées en utilisant la technologie de l'ADN recombinant nécessitent l'utilisation d'excipients dans leur formulation finale afin de stabiliser la substance active. Par conséquent, la gestion de la qualité de ces excipients a des implications importantes pour la qualité du médicament puisque :

- des excipients de haute pureté sont nécessaires, notamment pour les formes injectables ;
- la maîtrise de la qualité des excipients utilisés est cruciale pour garantir la reproductibilité du procédé et la stabilité du médicament.

L'approbation et le suivi des fournisseurs d'excipients d'une part et la réalisation de contrôles appropriés sur les excipients d'autre part doivent donc être basés sur une évaluation documentée du risque conformément aux exigences des lignes directrices du 19 mars 2015 relatives à l'évaluation formalisée du risque visant à déterminer les bonnes pratiques de fabrication appropriées pour les excipients utilisés dans les médicaments à usage humain.

Des informations complémentaires sont également disponibles à la question/réponse N°12 (février 2017) du document de l'EMA intitulé « *Questions and answers : EU GMP guide part II : Basic requirements for active substances used as starting materials : GMP compliance for active substance* ». ⁴

⁴ <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/guidance-good-manufacturing-practice-good-distribution-practice-questions-answers#eu-gmp-guide-part-ii:-basic-requirements-for-active-substances-used-as-starting-materials:-gmp-compliance-for-active-substances-section>

4.3.4.2 Réception et contrôle des matières

Les manquements en lien avec la réception des matières représentent près de la moitié de l'ensemble des constats relevés relatifs à la gestion des matières. Cela concerne principalement :

- La traçabilité amont de certaines matières critiques ;
- L'absence d'utilisation de scellés sur les contenants de certaines matières premières critiques ;
- L'absence de vérification à réception des conditions de transport des matières thermosensibles ;
- Le transport à une température non contrôlée de matières nécessitant un stockage réfrigéré, sans justification appropriée ;
- Des imprécisions concernant la stratégie utilisée pour le prélèvement des matières à réception (prélèvement systématique, ISO-2859, $\sqrt{N} + 1$...) ;
- L'absence d'évaluation (ou une évaluation incomplète) de l'impact des activités de prélèvement sur la durée maximale de conservation des matières.

Plusieurs constats sont également spécifiques à la gestion des excipients des substances actives biologiques formulées. Ces derniers sont gérés selon les exigences de la partie II des BPF applicables aux matières premières de substance active, et non comme des excipients, qui sont des composants du médicament. Des informations complémentaires sont disponibles au paragraphe 4.4.

4.3.4.3 Stockage

Certains établissements conservent dans un même lieu l'intégralité de leur stock de banques de cellules mères. Or, comme mentionné au chapitre 46 de l'annexe 2 des BPF, il a été rappelé aux opérateurs concernés qu'il était souhaitable de fractionner les stocks de banques cellulaires et de conserver les stocks fractionnés à différents emplacements de façon à minimiser le risque de perte totale.

4.3.5 Documentation et enregistrements

4.3.5.1 Enregistrement de l'utilisation des équipements

Des manquements dans l'enregistrement de l'utilisation de certains équipements de production ont été relevés. Ces carences de traçabilité concernent notamment le nombre d'utilisation des gels/colonnes de chromatographie au regard du nombre maximum de cycles décrit dans les dossiers réglementaires d'autorisation correspondants.

4.3.5.2 Dossiers de production de lot

Certains constats faisaient état d'informations manquantes lors de la revue des dossiers de production de lot. Cela concerne notamment les modalités de préparation des solutions contenant les excipients de la substance active formulée, les instructions de sélection des fractions à la suite d'une étape de purification par chromatographie sur colonne ou les tests d'intégrité des filtres.

Des carences dans les corrections apportées aux données enregistrées au regard des exigences du chapitre 6.14 de la partie II des BPF ont également été relevées.

4.3.6 Production

4.3.6.1 Paramètres de procédé

Plusieurs manquements en lien avec les opérations de production concernaient les durées limites, et notamment celles relatives au stockage des matières premières, des intermédiaires ou de certains équipements (chromatographie et diafiltration). Cela concerne notamment les intermédiaires obtenus après l'étape de récolte et ceux obtenus aux différentes étapes de purifications chromatographiques.

4.3.6.2 *Mélange de lots*

Des défaillances dans les activités de mélange de lots de substances actives au regard des exigences du chapitre 8.4 de la partie II des BPF ont été relevés. Cela concerne l'absence de contrôle des fractions individuelles avant mélange afin de confirmer leurs conformités aux spécifications appropriées ainsi que des carences dans les données utilisées dans le cadre de la validation du mélange.

4.3.6.3 *Maitrise de la contamination*

Des manquements aux points 5 et 6 de la partie A de l'annexe 2 des BPF ont été observés. Cela concerne notamment des carences dans la mise en place d'un contrôle environnemental issu d'une approche de gestion du risque qualité au niveau des étapes du procédé identifiées comme critiques, et plus spécifiquement celles qui ne sont pas réalisées en système clos, exposant de ce fait le produit à l'environnement immédiat du local.

Par ailleurs, des insuffisances dans la prise en compte des principes de la LD1 des BPF lors du choix des niveaux de classifications environnementales et des contrôles associés ont été relevées.

4.3.7 *Management de la qualité*

4.3.7.1 *Revue de qualité produit*

Plus d'un tiers des constats relatifs au management de la qualité concernent les revues de qualité produit (RQP), et plus spécifiquement :

- L'absence de paramètres permettant de justifier de la régularité des procédés de fabrication mis en œuvre ;
- L'absence de revue de l'efficacité des actions correctives identifiées lors de la précédente RQP ;
- Des insuffisances dans les conclusions obtenues à la suite de l'interprétation des résultats des études de stabilité ;
- La présence d'erreurs et/ou d'imprécisions dans certaines informations reportées.

4.3.7.2 *Responsabilité de l'unité qualité*

La plupart des constats en lien avec cette thématique concernent le processus de libération des substances actives et les règles de délégation en cas d'absence de la personne en charge de la libération des substances actives.

Des insuffisances dans les investigations à mener dans le cadre du traitement d'une déviation ainsi que dans le suivi de certains plans d'actions correctives ont également été identifiées.

4.4 Exigences spécifiques à la fabrication de substances actives biologiques formulées (SAF)

La partie II et l'annexe 2 des BPF sont applicables à la fabrication des SAF. Cependant, selon les principes de gestion du risque qualité appliqués à la formulation d'une substance active biologique, les exigences BPF suivantes doivent être prises en compte, notamment lorsque les étapes de formulations sont décrites dans la partie du dossier réglementaire d'enregistrement relative à la substance active :

- 1) Gestion des excipients :
 - a) Les spécifications des excipients constitutifs de la SAF doivent être documentées (BPF Partie I : 4.14) et ces derniers doivent être contrôlés selon les spécifications de la Pharmacopée Européenne lorsqu'elle est applicable ;
 - b) Les fabricants de médicaments doivent appliquer les exigences suivantes pour les excipients constitutifs de la SAF :
 - i) Approbation, suivi et audits des sources d'excipients basé sur une gestion du risque (BPF Partie I : 5.29) ;
 - ii) Accord entre le fabricant du médicament et le fabricant de l'excipient via un cahier des charges ou une spécification formelle (BPF Partie I : 5.28) ;
 - c) L'échantillonnage de ces excipients doit être réalisé conformément à la LD8 des BPF ;
 - d) Des échantillons de référence des excipients doivent être conservés sous la responsabilité du fabricant du médicament (BPF Partie I : 1.9 (viii) et LD19) ;
 - e) La revue qualité du médicament biologique doit comporter une revue de ces excipients (BPF Partie I : 1.10 (i)) ;
- 2) Stabilité du médicament fabriqué à partir d'une SAF :
 - a) Les lots de substances actives formulées stockés pendant des périodes prolongées devront être pris en compte dans le programme de suivi de la stabilité du médicament fabriqué à partir d'une SAF (BPF Partie I : point 6.28, Annexe 2 Partie A point 67) ;
- 3) Gestion de la sous-traitance de la fabrication de la SAF :
 - a) Le fabricant du médicament doit gérer la sous-traitance de la fabrication d'une SAF selon les exigences applicables à une activité de sous-traitance de fabrication d'un produit intermédiaire (BPF Partie I : Chapitre 7).

Ces exigences sont reprises dans la question/réponse N°12 (février 2017) du document de l'EMA intitulé « *Questions and answers : EU GMP guide part II : Basic requirements for active substances used as starting materials : GMP compliance for active substance* ». ⁵

⁵ <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/guidance-good-manufacturing-practice-good-distribution-practice-questions-answers#eu-gmp-guide-part-ii:-basic-requirements-for-active-substances-used-as-starting-materials:-gmp-compliance-for-active-substances-section>

5. Conclusion

Au travers de la revue de la réglementation en vigueur, de l'étude des activités réalisées par les établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant et de l'analyse des principaux constats relevés lors des 22 inspections conduites entre 2014 et 2019, les spécificités inhérentes à cette activité ont pu être identifiées.

De manière générale, cette analyse rétrospective a permis de mettre en évidence un meilleur niveau global de conformité aux BPF pour les établissements impliqués dans la fabrication de substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant par rapport à l'ensemble des établissements de fabrication de substances actives (tous procédés de fabrication confondus). Cependant, des axes de progrès ont également été identifiés, principalement en ce qui concerne les équipements de fabrication, les bâtiments et installations ainsi que le contrôle qualité.

De nombreux équipements et consommables à usage unique, souvent issus de technologies de pointe, sont mis en œuvre lors de la fabrication de substance active issues de la technologie de l'ADN recombinant. Or, la qualité et la sécurité de ces équipements et consommables est fondamentale pour garantir la qualité des substances actives fabriquées. De plus, certains d'entre eux sont parfois fabriqués à façon et leur assemblage ainsi que leur décontamination peuvent faire intervenir différents acteurs. Il importe donc que la segmentation et la complexification de la chaîne de fabrication ne résultent pas en une perte de maîtrise pour les fabricants des substances actives issues de la technologie de l'ADN recombinant.

Enfin, la ténuité de la frontière entre les étapes finales de fabrication d'une substance active formulée et la fabrication d'un intermédiaire de médicament a conduit à préciser le niveau des exigences BPF applicables à la fabrication des substances actives formulées, notamment lorsque l'étape de formulation est décrite dans la section du dossier réglementaire relative à la fabrication de la substance active.