

## ETAT DES LIEUX SUR LES HEPARINES

<b>I. INTRODUCTION</b> .....	<b>2</b>
<b>II. RAPPEL DU CONTEXTE</b> .....	<b>2</b>
<b>III. REGLEMENTATION APPLICABLE / GUIDES EN VIGUEUR</b> .....	<b>3</b>
<b>IV. VOIES D'OBTENTION DE L'HEPARINE PURIFIEE</b> .....	<b>4</b>
IV.1. Procédé d'obtention .....	4
IV.2. Activités réalisées par les différents acteurs .....	5
IV.3. Contrôle de l'origine de l'héparine .....	5
IV.4. Sources d'approvisionnement pour les sites de fabrication en France .....	6
<b>V. BILAN DES INSPECTIONS RECENTES</b> .....	<b>7</b>
V.1. Collaboration entre autorités compétentes .....	7
V.2. Inspections en France .....	8
V.3. Inspections à l'international .....	8
V.3.1 Campagne d'inspections récentes (2012/2013).....	8
V.3.2 Campagne d'inspections de 2008 à 2012.....	9
<b>VI. BILAN DES CONTROLES</b> .....	<b>10</b>
VI.1. Prélèvements réalisés durant la campagne d'inspection Chongqing Imperial (nov. 2012) .....	10
VI.2. Programme de surveillance des héparines par la Direction des Contrôles de l'ANSM .....	11
<b>VII. EVALUATION ET GESTION DES RISQUES</b> .....	<b>12</b>
VII.1. Evaluation de la sécurité virale des produits ainsi que du risque de transmission des agents des encéphalopathies spongiformes animales (EST).....	12
VII.2. Autres risques liés à l'utilisation frauduleuse de sources animales non approuvées.....	12
VII.3. Risques liés à la mise en œuvre d'un traitement chimique oxydant supplémentaire .....	13
VII.4. Risques liés à la contamination par la chondroïtine persulfatée .....	13
<b>VIII. CONCLUSION</b> .....	<b>14</b>
<b>IX. LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>15</b>
<b>X. ACRONYMES</b> .....	<b>15</b>

Diffusion

Site internet de l'ANSM

## I. INTRODUCTION

L'héparine est un anticoagulant utilisé depuis plus de 60 ans en prévention ou en traitement des thromboses (caillot dans une veine ou une artère). Il s'agit d'un médicament très couramment utilisé, en particulier en milieu hospitalier pour des besoins vitaux. Sa disponibilité constitue donc un enjeu majeur pour le traitement des patients dans les pathologies thrombotiques. C'est un mélange complexe de molécules d'un glycosaminoglycane sulfaté d'origine naturelle présent dans les tissus des mammifères. Pour les marchés européens et états-unis, les héparines sodique, calcique<sup>1</sup> ou de basse masse moléculaire<sup>2</sup> (HBMM) sont exclusivement fabriquées à partir de muqueuse intestinale d'origine porcine.

Pour répondre aux besoins mondiaux en héparine, près de 500 millions de porcs sont nécessaires et proviennent de 55 à 60% de République Populaire de Chine. La découverte en mars 2013 de plusieurs milliers de carcasses de porcs dans le Huangpu, le fleuve de Shanghai, rappelle l'impact qu'aurait une épidémie porcine chinoise sur la production mondiale d'héparine<sup>3</sup>.

Cette synthèse a pour but de dresser un état des lieux relatif à la qualité et à l'approvisionnement des héparines à partir des résultats des enquêtes et des inspections réalisées.

## II. RAPPEL DU CONTEXTE

Dans le contexte de la contamination frauduleuse des héparines porcines issues de fournisseurs chinois par de la chondroïtine persulfatée (CP) intervenue en 2008 et ayant causé des morts en Allemagne et aux USA, l'Agence française a été amenée à prendre des mesures dans la gestion de cette crise.

En mars 2008, un contrôle du marché des héparines fabriquées en France a été mis en place, quelle que soit l'origine des matières premières et son marché de destination. Indépendamment de la recherche de CP par les méthodes préconisées, la recherche d'une possible contamination par d'autres espèces a été effectuée par un laboratoire indépendant.

En avril 2008, l'Agence a informé les opérateurs des mesures immédiates à prendre concernant autant le contrôle d'espèce que la présence d'impuretés.

Ainsi, la mise en place de mesures a été demandée par l'Agence aux opérateurs avant même que la révision des monographies, applicable au 1<sup>er</sup> août 2008, rendue nécessaire par la crise sanitaire de la contamination par de la chondroïtine persulfatée soit engagée par la Pharmacopée européenne (PE).

La France a par ailleurs participé activement à la révision des monographies PE des héparines, notamment sur les aspects liés à la recherche d'origine d'espèces et à l'absence de matériel provenant des autres espèces au moyen d'essais appropriés.

Depuis 2010, la monographie PE des héparines exige la recherche de traces de chondroïtine persulfatée par les techniques de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN <sup>1</sup>H) et de chromatographie liquide haute pression (CLHP).

Des inspections régulières basées sur les principes de gestion du risque qualité des sites de fabrication en France sont diligentées avec pour un des objectifs le suivi de la traçabilité des approvisionnements et des contrôles à réception de matières premières. Aucune non-conformité majeure en inspection n'a été relevée depuis la crise de 2008. Afin de renforcer la connaissance de la chaîne d'approvisionnement de l'héparine, depuis les abattoirs jusqu'au fabricant de la substance active, une campagne d'inspection en France et en pays tiers a été réalisée en 2012 et 2013.

<sup>1</sup> L'héparine calcique est obtenue par traitement de l'héparine sodique avec du chlorure de calcium.

<sup>2</sup> Les héparines de basse masse moléculaire sont obtenues par fractionnement ou dépolymérisation de l'héparine d'origine naturelle qui satisfait, selon le cas, à la monographie *Héparine sodique* (0333) ou *Héparine calcique* (0332) pour administration parentérale, sauf exception justifiée et autorisée.

<sup>3</sup> <http://www.theguardian.com/world/2013/mar/22/dead-pigs-chinese-river-rises>

### III. REGLEMENTATION APPLICABLE / GUIDES EN VIGUEUR

Les référentiels de bonnes pratiques, opposables ou non opposables, applicables aux héparines sont listés ci-après :

- Partie II des Bonnes Pratiques de Fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments ;

Type de fabrication	Application de ces bonnes pratiques aux étapes (indiquées dans les cases grisées) utilisées dans ce type de fabrication				
Les substances actives issues de sources animales	Collecte d'organes, de liquides ou de tissus	Découpe, mélange et/ou traitement préliminaire	Introduction de la matière première de départ de la substance active dans le procédé	Isolement et purification	Traitements physiques et conditionnement

- Annexe 2 des Bonnes Pratiques de Fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain ;

Type et source de la matière	Exemple de produit	Application de ce guide aux étapes de fabrication indiquées en gris			
Sources animales ou végétales : non transgéniques	<b>Héparines</b> , insuline, enzymes, protéines, extraits allergéniques, immunosérums, MTI	Collecte de plante, d'organe, de tissu ou de liquide	Découpe, mélange et/ou traitement préliminaire	Isolement et purification	Formulation, répartition

L'héparine est une substance active d'origine biologique et sa fabrication est soumise aux Bonnes Pratiques de Fabrication dès l'étape de collecte du mucus à partir des intestins de porcs. Des exigences croissantes des BPF doivent être appliquées tout au long du procédé, de l'extraction du mucus jusqu'à l'héparine purifiée, en passant par les étapes intermédiaires d'obtention du brut de l'héparine brute et de l'héparine brute. Par ailleurs, l'étendue de l'application de principes BPF aux abattoirs est définie dans la section B1.2 de l'annexe 2 des BPF.

- Pharmacopée européenne [monographies n° 0332 (héparine calcique), n° 0333 (héparine sodique), et n° 0828 (héparines de basse masse moléculaire)]. Les monographies en vigueur précisent que l'héparine sodique/calcique peut être préparée soit à partir de poumon de bœuf, soit à partir de muqueuse intestinale, soit de porc, soit de bœuf, soit de mouton. Le «soit» étant considéré comme exclusif.
- Un projet de révision des monographies PE de l'héparine, présenté dans le volume 25.1 de Pharmeuropa de janvier 2013, est actuellement en cours d'examen :
  - o il est proposé de restreindre l'objet de la monographie à l'héparine d'origine porcine, certaines des exigences récemment introduites n'étant pas applicables aux héparines d'autres origines. Il est en outre apparu, après une enquête conduite auprès des autorités nationales, que tous les produits à base d'héparine présents sur le marché européen sont d'origine porcine ;
  - o une disposition introduite lors de la dernière révision exigeait que soient vérifiées l'identité de l'espèce source et l'absence de matériel provenant d'autres espèces susceptibles de contamination croisée. Des indications reflétant les pratiques actuelles ont été ajoutées pour préciser cette disposition : *"la méthode utilisée pour confirmer l'identité de l'espèce source, ainsi que l'étape du processus où elle est appliquée, ont été validées pour leur capacité à permettre d'identifier la présence d'héparine d'autres espèces à une teneur de 0,1 pour cent (m/m, en termes d'héparine). Pour la vérification de l'identité des espèces, l'adéquation des méthodes fondées sur la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) de séquences d'ADN spécifiques de l'espèce a été largement établie. Si une méthode de ce type a été choisie, elle est également utilisée pour rechercher l'ADN porcine et établir qu'il est présent à une teneur constante, en accord avec le procédé de production utilisé"*.

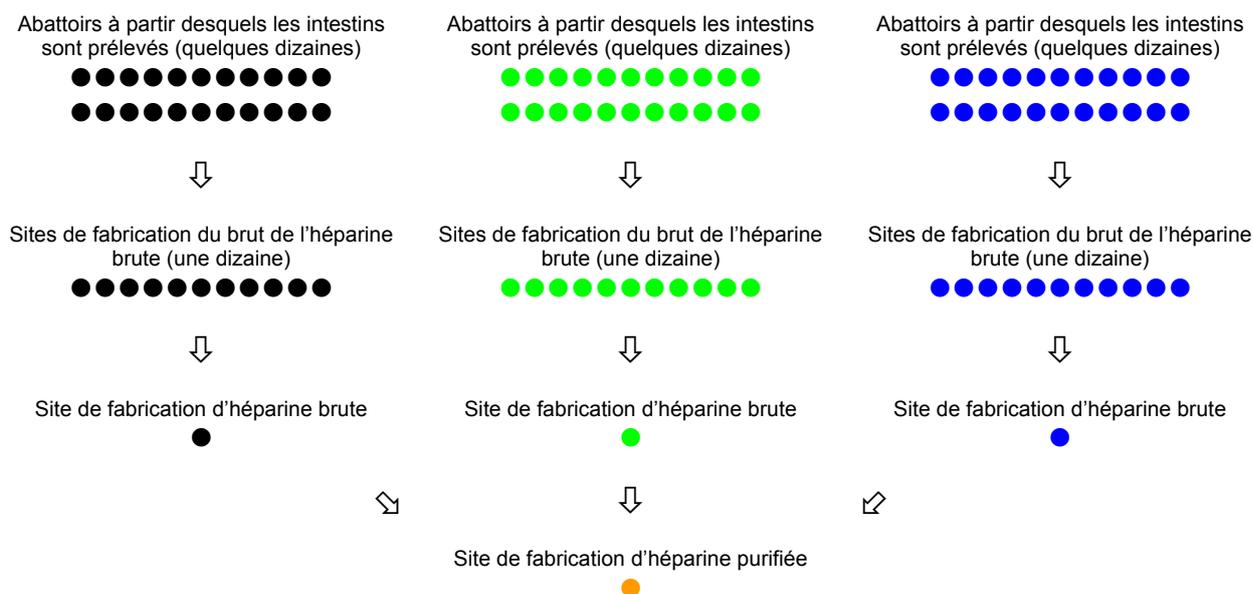
- «Biologics Working Party guideline on the use of starting materials and intermediates collected from different sources in the manufacturing of non-recombinant biological medicinal products» (**Annexe 1**). Date d'application : 01 décembre 2013. Le mucus est défini comme la matière première de départ de l'héparine purifiée ainsi que des héparines de basse masse moléculaire. Cette nouvelle définition doit être prise en compte dans les dossiers d'autorisation de mise sur le marché.

## IV. VOIES D'OBTENTION DE L'HEPARINE PURIFIEE

### IV.1. Procédé d'obtention

La fabrication d'héparine met en jeu un nombre très important d'acteurs, ce qui rend la chaîne d'approvisionnement très complexe.

A titre d'exemple, une chaîne d'approvisionnement théorique d'un site de fabrication d'héparine purifiée est donnée ci-dessous :



Un lot d'héparine purifiée peut être obtenu à partir de plusieurs lots d'héparine brute, eux-mêmes produits sur des sites différents. De même, un site de fabrication d'héparine brute peut ainsi être approvisionné en brut d'héparine brute par plusieurs sites indépendants, chaque site de fabrication du brut de l'héparine brute étant lui-même approvisionné en intestins porcins par plusieurs abattoirs.

Cette complexité nécessite la mise en place de systèmes de gestion de la qualité robustes au niveau de chaque maillon de la chaîne afin d'assurer la traçabilité des opérations. A titre d'exemple, le schéma ci-dessus représente plus de **100 acteurs** dans la chaîne d'approvisionnement pour le site de fabrication d'héparine purifiée.

## IV.2. Activités réalisées par les différents acteurs

<b>Etapes</b>	<b>Acteurs</b>
Collecte des intestins de porcs (avec stabilisation optionnelle du mucus)  ↓	Abattoirs
Collecte du mucus à partir des intestins (avec stabilisation optionnelle du mucus)  ↓  Digestion du mucus et purification par traitement sur résine pour obtenir le brut de l'héparine brute	Sites de fabrication du brut de l'héparine brute
↓  Traitement sur résine et purification pour obtenir l'héparine brute	Site de fabrication de l'héparine brute
↓  Purification/oxydation <sup>4</sup> pour obtenir l'héparine purifiée	Site de fabrication de l'héparine purifiée

## IV.3. Contrôle de l'origine de l'héparine

Le procédé d'inactivation virale de l'héparine est classiquement réalisé par un traitement en milieu oxydant lors de l'étape d'obtention de l'héparine sodique purifiée à partir de l'héparine sodique brute. Cependant, réaliser un traitement oxydant lors de l'obtention de l'héparine sodique brute conduit à dégrader tout acide désoxyribonucléique (ADN) ce qui ne permet plus la détection potentielle par la méthode PCR<sup>5</sup> d'ADN de ruminants à ce stade.

Afin de fiabiliser la détection potentielle d'ADN de ruminants dans l'héparine et d'éviter ainsi toute contamination croisée, les fabricants de médicaments doivent s'assurer au moyen d'audits de la réalisation des analyses PCR sur de l'héparine n'ayant subi aucun traitement oxydant (brut de l'héparine brute ou héparine brute).

Trois publications récentes<sup>6</sup> montrent que la technique de la RMN <sup>1</sup>H peut constituer un outil approprié pour la mise en évidence de la nature des oxydants utilisés dans le processus de purification de l'héparine. La présence d'un singulet à 2.10 ou 2.18 ppm est respectivement le marqueur d'un traitement par du permanganate de potassium ou de l'acide peracétique.

<sup>4</sup> Le procédé d'inactivation virale est réalisé par un traitement en milieu oxydant (KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) lors de l'étape d'obtention de l'héparine purifiée à partir de l'héparine brute.

<sup>5</sup> Une nouvelle méthode PCR, plus sensible, a été validée et mise en ligne en juin 2013 sur le site de l'US-FDA (**Annexe 2**).

<sup>6</sup> P.Mourier et al, J Pharm Biomed Anal **2011** Jan 25;54(2):337-44 ;

D.Beccati et al, Carbohydrate Polymers 82 **2010** 699-705 ;

Mourier et al J Pharm Biomed Anal **2012** Aug-Sep;67-68:169-75.

#### **IV.4. Sources d'approvisionnement pour les sites de fabrication en France**

Pour le marché européen, les différentes héparines (sodique/calciq/ HBMM) sont exclusivement fabriquées à partir de muqueuse intestinale d'origine porcine. Il est à noter que le cheptel porcine élevé au sein de l'Union européenne comprend environ 150 millions de têtes<sup>7</sup>, ce qui rend nécessaire l'importation d'héparine sodique en provenance de pays tiers à l'Europe afin de répondre aux besoins du marché.

Les deux sites de fabrication en France de produits issus de l'héparine sont :

- **1) ASPEN ex- Glaxo Welcome Production (Notre Dame de Bondeville)**

ASPEN fabrique la nadroparine calciq (HBMM) à partir de l'héparine sodique purifiée pour les spécialités Fraxiparine<sup>®</sup> et Fraxodi<sup>®</sup>.

Les fabricants de l'héparine sodique purifiée utilisée pour la production de nadroparine calciq sont exclusivement états-uniens et européens, le mucus porcine étant d'origine nord-américaine et européenne.

La chaîne d'approvisionnement inclut la transformation du mucus en matière première (après digestion enzymatique et fixation sur résine), la production d'héparine sodique brute et enfin la purification finale.

- **2) Sanofi Chimie (Ploërmel)**

Sanofi Chimie fabrique de l'héparine sodique purifiée à partir de mucus intestinal de porc en provenance d'abattoirs français ou à partir d'héparines sodiques brutes de différentes origines (Europe, Etats-Unis, République Populaire de Chine). L'héparine sodique purifiée est l'intermédiaire de la fabrication de l'énoxaparine sodique, substance active du Lovenox<sup>®</sup>. La fabrication de l'énoxaparine sodique est achevée soit sur le site Aventis Pharma Manufacturing à Singapour ou celui de VLG Chem à Villeneuve la Garenne.

Le site de Ploërmel fabrique également deux autres héparines purifiées (sodique et calciq) à partir principalement d'héparine brute.

---

<sup>7</sup> <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/conjinforap201305pcfr.pdf>

## V. BILAN DES INSPECTIONS RECENTES

### V.1. Collaboration entre autorités compétentes

L'application des textes est régulièrement vérifiée lors des inspections quels que soient la catégorie d'établissements (fabricants, distributeurs ou importateurs), les lieux de fabrication des médicaments (France et pays tiers, sachant que pour le territoire de l'Union européenne, ce sont les autorités nationales compétentes concernées qui sont en charge des inspections) et la catégorie de médicaments (princeps et génériques).

D'un point de vue global, les inspections confirment une mondialisation des acteurs intervenant dans la chaîne de production et de distribution des substances actives, plus particulièrement en Asie. Cette dispersion des opérateurs rend plus difficile leur suivi et leur contrôle tant par les donneurs d'ordre au travers d'audits que par les autorités compétentes par les inspections.

L'action de l'ANSM s'inscrit donc dans un cadre coordonné avec les autres Etats Membres de l'UE et la DEQM, tout particulièrement pour ce qui concerne les inspections dans des pays situés en dehors de l'Union. Ce cadre est porté principalement par le caractère obligatoire de la reconnaissance mutuelle des inspections faites par les autres Etats Membres de l'UE et de l'échange d'information. Il faut donc envisager la capacité d'inspection non seulement sur les seules ressources françaises mais aussi en y ajoutant celles des autres Etats Membres et de la DEQM ainsi que celles d'Etats ayant conclu des accords spécifiques avec l'Union européenne.

L'ANSM et ses homologues des agences européennes et internationales coordonnent en conséquence leurs actions d'inspections afin d'optimiser la surveillance de ces activités en pays tiers. Des inspections conjointes et des échanges concernant la programmation des inspections, organisées en liaison avec l'EMA et la DEQM notamment, permettent ainsi de couvrir les sites lointains et d'échanger des informations sur les résultats de ces inspections. Une mutualisation des résultats des inspections est réalisée en intra-européen via une base de données qui contient tous les certificats de conformité délivrés par les autorités nationales de régulation concernées y compris pour des inspections extracommunautaires (EudraGMDP<sup>8</sup>).

Néanmoins, compte tenu du nombre important d'opérateurs intervenant dans la chaîne d'approvisionnement de l'héparine, des abattoirs jusqu'au site de purification, il est à noter que la majeure partie des sites, notamment l'amont de la chaîne, ne seront jamais inspectés même dans le cadre d'un effort coordonné des autorités. L'effort d'inspection est donc principalement dirigé vers les étapes de fabrication de l'héparine brute et purifiée.

Cette stratégie de surveillance par les autorités s'établit dans un contexte réglementaire harmonisé au niveau communautaire dans lequel la responsabilité quant à la qualité des substances actives incombe en premier lieu aux fabricants de médicaments, dont la Personne Qualifiée (Pharmacien Responsable en France) en est le garant.

---

<sup>8</sup> <http://eudragmp.ema.europa.eu/>

## **V.2. Inspections en France**

Les inspections<sup>9</sup> récentes des 2 sites de fabrication des substances actives précités sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Etablissement	Dates d'inspection
ASPEN ex-Glaxo Wellcome Production (Notre Dame de Bondeville)	29 - 31 mai 2012 13 - 15 mai 2008
Sanofi Chimie (Ploërmel)	23 - 25 octobre 2012 15 - 17 décembre 2009 21 - 23 mai 2008

Ces inspections ont permis de s'assurer que les acteurs de toute la chaîne d'approvisionnement sont régulièrement audités par les fabricants, incluant des visites d'abattoirs. Globalement, les fréquences d'audit établies par les fabricants sont :

- d'une fois par an pour les sites producteurs d'héparine sodique purifiée ;
- d'une fois tous les 3 ans pour les sites réalisant la transformation du mucus en matière première ou la production d'héparine sodique brute.

Ces inspections n'ont pas relevé de dysfonctionnement majeur ou critique et ont souligné une conformité aux BPF maîtrisée pour ces deux fabricants.

Il est à noter qu'ASPEN et Sanofi Chimie sont par ailleurs régulièrement inspectés par l'US-FDA. Les dernières inspections de Sanofi Chimie (mars 2012) et d'ASPEN (septembre 2013) ont conclu à la conformité des activités.

## **V.3. Inspections à l'international**

### **V.3.1 Campagne d'inspections récentes (2012/2013)**

Cette campagne s'est principalement concentrée sur trois sites de République Populaire de Chine :

- Nanjing King-Friend Biochemical Pharmaceutical Co. Ltd. (NKF) ;
- Shenzhen Hepalink Pharmaceutical Co. Ltd. (SHP) ;
- Chongqing Imperial Bio-chem (CIB).

Les deux premiers fabricants sont deux acteurs majeurs de la production d'héparine en République Populaire de Chine et fournissent à la fois le marché européen et états-unien. Le troisième fabricant faisait l'objet d'une demande de variations dans plusieurs pays européens comme producteur et fournisseur de l'intermédiaire héparine sodique brute.

### **Inspections Nanjing King-Friend Biochemical Pharmaceutical Co. Ltd. et Shenzhen Hepalink Pharmaceutical Co. Ltd.**

Ces inspections ont été réalisées respectivement du 18 au 21 décembre 2012 et du 8 au 11 janvier 2013 par les autorités états-uniennes.

Il est à noter qu'il s'agissait des premières inspections inopinées réalisées par l'US-FDA en République Populaire de Chine et qu'aucun dysfonctionnement significatif n'a été relevé lors de ces inspections.

Un point intéressant est toutefois à souligner concernant des lots d'héparine brute d'origine NKF refusés par un fabricant pharmaceutique situé aux Etats-Unis pour présence de traces d'ADN de ruminants à hauteur de 0,4-0,5 ppm.

L'origine avancée de cette contamination serait liée à l'alimentation des porcs<sup>10</sup>, associée à un nettoyage insuffisant des intestins avant l'opération de collecte du mucus.

<sup>9</sup> Les inspections des sites de production d'énoxaparine ne sont pas incluses dans cet état des lieux.

<sup>10</sup> Le porc étant un animal omnivore, son régime alimentaire comporte aussi bien des aliments d'origine végétale qu'animale (dont potentiellement de la viande de ruminants).

## Inspection Chongqing Imperial Bio-chem (RP Chine)

Cette inspection a été réalisée du 5 au 16 novembre 2012 par les autorités Irlandaises, Danoises et Françaises.

La totalité de la chaîne d'approvisionnement a été revue au cours de l'inspection :

- deux abattoirs ;
- un des sites de fabrication du brut de l'héparine brute ;
- le laboratoire sous-traitant réalisant l'analyse RMN <sup>1</sup>H ;
- le site de fabrication de l'héparine brute ;
- le siège de l'établissement Chongqing Imperial Bio-chem.

Il a été relevé lors de l'inspection du fabricant d'héparine sodique brute 34 écarts aux BPF dont 3 critiques et 9 majeurs. Par ailleurs, l'inspection du site fabricant du brut de l'héparine brute a relevé 12 écarts dont 1 critique et 2 majeurs.

L'analyse des constats met en évidence qu'environ 40% des écarts observés sont relatifs à la gestion des matières. Deux des quatre écarts critiques (1 pour le fabricant de brut d'héparine brute et 1 pour le fabricant d'héparine brute) sont également liés à des manquements dans ce domaine.

Deux rapports de non conformités décrivant les actions entreprises ont été rendus publics sur la base de données communautaire EudraGMPD<sup>11</sup>. Cette source d'héparine n'a pas été approuvée pour le marché européen.

### V.3.2 Campagne d'inspections de 2008 à 2012

Une compilation des historiques d'inspections de fournisseurs d'héparines (purifiée et brute) localisés en pays tiers par les autorités compétentes a été réalisée pour la période 2008 - 2012.

Les sources utilisées pour cette recherche ont été :

- les données EMA quant à la liste des inspections pays tiers réalisées par les autorités compétentes ;
- le récapitulatif à mars 2012 de l'origine des héparines pour les autorisations de mise sur le marché (AMM) enregistrées en France ;
- les données alimentées dans la base EudraGMDP par les Etats Membres ;
- l'historique d'inspections de l'ANSM ;
- les historiques d'inspections des autres autorités disponibles en ligne, notamment pour ce qui concerne l'US-FDA.

Cette étude a conduit à l'identification d'environ 40 acteurs de la chaîne d'approvisionnement amont de l'héparine, parmi lesquels 19 établissements sont localisés en République Populaire de Chine. Globalement, sur la période 2008 – 2012, 44 inspections ont été diligentées par les autorités compétentes [ANSM/US-FDA/TGA/DEQM/ZLG (GE)/AEMPS/MHRA/IGZ (NL)].

D'une manière générale, il a été relevé que le niveau de conformité aux BPF de ces sites était satisfaisant. Les sites pour lesquels des manquements importants ont été relevés ont fait l'objet de suites administratives et n'approvisionnent pas le marché européen.

---

<sup>11</sup> <http://eudragmp.ema.europa.eu/> ; NCS # 2012/5767 et 2012/5768

## VI. BILAN DES CONTROLES

### VI.1. Prélèvements réalisés durant la campagne d'inspection Chongqing Imperial (nov. 2012)

Il s'agissait de la première campagne de prélèvements, réalisée à différents stades de fabrication de l'héparine (brut de l'héparine sodique brute / héparine sodique brute), dans le cadre d'une surveillance européenne de la chaîne de fabrication de l'héparine sodique en République Populaire de Chine.

Les 28 échantillons prélevés étaient de quatre types :

- brut d'héparine sodique brute (17) ;
- héparine sodique brute (3) ;
- héparine sodique brute de qualité «sans protéines»<sup>12</sup> (7) ;
- résine échangeuse d'ions utilisée pour l'obtention d'héparine sodique brute (1).

Les échantillons ont été testés sur la période 2013/2014 par les laboratoires de Contrôles (OMCLs) de cinq états membres : Suède, Royaume-Uni, Allemagne, Italie et Danemark.

Les contrôles se sont déroulés en 3 phases :

- 1) Analyses par RMN <sup>1</sup>H [Suède] :
  - identification de l'héparine ;
  - recherche de chondroïtine persulfatée ;
  - dosage du sulfate de dermatan (impureté de l'héparine) ;
- 2) Dosages biologiques [Royaume-Uni et Allemagne] ;
- 3) Analyses par PCR [Italie, Suède, Danemark]  
L'objectif était de déterminer la présence d'ADN porcine et l'absence d'ADN de ruminants. Trois méthodes différentes ont été mises en œuvre :
  - A : méthode du laboratoire de contrôle des autorités italiennes ;
  - B : méthode validée en 2013 par l'US-FDA ;
  - C : méthode enregistrée dans le dossier d'AMM du fabricant d'héparine HBMM à l'origine de la demande de variation.

Les résultats communiqués à l'ANSM en février 2014 font apparaître les points suivants :

- 1) les résultats des contrôles des phases 1 et 2 sont tous conformes aux spécifications :
  - présence d'héparine ;
  - absence de chondroïtine persulfatée (limite de détection de la méthode : 0.1%) ;
  - présence de sulfate de dermatan (entre 3 et 12%) ;
  - résultats des dosages biologiques conformes aux spécifications du fabricant d'héparine de base masse moléculaire ;
- 2) les résultats des contrôles PCR de la phase 3 n'ont pas mis en évidence d'utilisation avérée de mucus de ruminants dans les processus de fabrication des lots examinés.  
La mise en œuvre de 3 méthodes PCR différentes dans cette étude, méthodes différant à la fois au niveau des techniques d'extraction et d'amplification, a conduit à mettre en évidence un besoin de standardisation afin de fiabiliser les résultats obtenus et pouvoir tirer les conclusions appropriées. Un projet en ce sens est porté au niveau européen et des discussions sont en cours avec les OMCLs concernés et la DEQM. Dans une deuxième phase, il est projeté de proposer à l'US-FDA et aux autres autorités de s'engager dans ce travail collaboratif de standardisation.

---

<sup>12</sup> La production d'héparine sodique brute de qualité «sans protéines» fait intervenir une étape de traitement par le peroxyde d'hydrogène.

## **VI.2. Programme de surveillance des héparines par la Direction des Contrôles de l'ANSM**

Afin d'effectuer une surveillance renforcée de la qualité des héparines mises sur le marché en France, une enquête portant à la fois sur des médicaments (fabricants : Sanofi-Aventis et Panpharma) et des matières premières entrant dans la fabrication de ces médicaments a été réalisée en 2013.

Cette surveillance s'inscrivait également dans le cadre du programme européen au sein du réseau des OMCLs.

Le protocole d'étude incluait les contrôles de 13 lots de médicaments ainsi que de 14 lots de matières premières (6 lots d'héparine calcique purifiée et 8 lots d'héparine sodique purifiée).

Dans le cas des médicaments, des analyses physicochimiques et biologiques ont été réalisées conformément aux dossiers de demande de mise sur le marché.

Dans le cas des matières premières, seules des analyses physicochimiques ont été réalisées :

- impuretés et contaminants par électrophorèse capillaire (chondroïtine persulfatée/sulfate de dermatan) ;
- substances apparentées par CLHP/IEC (sulfate de dermatan/sulfate de chondroïtine/autres impuretés) ;
- impuretés nucléotidiques par UV.

Tous les résultats ont été conformes aux spécifications en vigueur.

Pour les matières premières, il est important de noter qu'une comparaison de ces résultats avec ceux de la campagne de prélèvements en République Populaire de Chine développée au paragraphe précédent n'est pas possible, car ces derniers concernaient des matières brutes non encore purifiées analysées avec des techniques différentes.

## **VII. EVALUATION ET GESTION DES RISQUES**

### **VII.1. Evaluation de la sécurité virale des produits ainsi que du risque de transmission des agents des encéphalopathies spongiformes animales (EST)**

Dans le cadre de dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché, l'évaluation de la sécurité d'un produit d'origine biologique comme les héparines repose sur la qualité de la matière première utilisée (espèce, origine géographique, tissu, état sanitaire, traçabilité, contrôles) et le procédé de fabrication. En l'occurrence, les exigences générales sur la sécurité virale ainsi que sur la réduction du risque EST sont fournies par la Pharmacopée européenne aux *chapitres 5.1.7 et 5.2.8*. Des recommandations supplémentaires comprenant les études de validation virale sont fournies par la *Note explicative relative aux études de validation virologique : planification, contribution et interprétation des études validant l'inactivation et l'élimination des virus (CPMP/BWP/268/95)*.

Néanmoins, si le dossier d'AMM constitue un engagement sur les contrôles mis en œuvre et le procédé permettant d'obtenir un médicament dont la qualité est corrélée à l'efficacité et à la sécurité du médicament, il n'a pas pour objet de garantir l'absence de toute possibilité d'accident ou de fraude.

Suite aux travaux de l'INRA sur la technique ELISA développée dans le but de détecter de possibles contaminations par des produits bovins, ovins et caprins, l'Agence a réalisé un bilan en 2008 des dossiers et conduit une enquête de traçabilité auprès de tous les titulaires d'AMM en France d'héparine. Le but était de dresser un état des lieux de la sécurité virale des héparines extraites à partir d'intestins de porc et plus particulièrement des mesures mises en place afin de maîtriser la qualité de la matière première brute et notamment de s'assurer de l'origine d'espèce du matériel de départ (enquête de traçabilité des matières premières brutes pour la fabrication d'héparine). Les éléments fournis par les firmes ont permis de faire une analyse de risque relative à la contamination des matières premières porcines par des tissus de ruminants, et donc de quantifier le risque potentiel théorique maximal de contamination par des prions.

Par ailleurs, afin de conforter l'analyse de risque effectuée sur la base des informations transmises, une série d'inspections régulières des deux fabricants en France ASPEN, ex-Glaxo Wellcome Production, et Sanofi Chimie et d'audits par ces fabricants de leurs fournisseurs de matières premières, a été effectuée afin de vérifier sur place la maîtrise de la traçabilité ascendante.

### **VII.2. Autres risques liés à l'utilisation frauduleuse de sources animales non approuvées**

La monographie PE de l'héparine en vigueur autorise plusieurs espèces (poumon de bœuf ; muqueuse intestinale de porc/mouton/bœuf) mais exige que soient vérifiées l'identité de l'espèce source et l'absence de matériel d'autres espèces pouvant être la source de contamination croisée.

Le risque lié à une utilisation de mucus de ruminants existe mais reste maîtrisé dans la mesure où d'une part une surveillance des opérateurs est assurée par les autorités et les fabricants de médicament et d'autre part une recherche systématique sur chaque lot d'héparine de la présence de protéine animale autre que porcine est effectuée. Par ailleurs, le risque EST/ESB est réduit par la mise en place de traitements appropriés dans les procédés de fabrication de l'héparine sodique purifiée à partir d'héparine sodique brute.

Cependant, l'utilisation frauduleuse d'une héparine résultant d'un mélange d'héparines issues de diverses espèces sources (porcine et ruminants) pourrait être à l'origine d'autres risques potentiels :

- le profil d'impureté d'une héparine issue des deux espèces pourrait être différent et déclencher des réactions immunogènes (les tests de l'USP et de l'EP ne permettent pas de distinguer des protéines de source différentes) ;
- la traçabilité de la chaîne d'approvisionnement ne serait plus assurée afin d'apporter la garantie de l'origine et de l'état sanitaire des animaux utilisés.

### **VII.3. Risques liés à la mise en œuvre d'un traitement chimique oxydant supplémentaire**

Le procédé d'inactivation virale de l'héparine est classiquement réalisé par un traitement en milieu oxydant ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) lors de l'étape d'obtention de l'héparine sodique purifiée à partir de l'héparine sodique brute. Cependant, une étape d'oxydation préalable peut également être mise en œuvre dans certains procédés de fabrication d'héparine sodique brute d'origine chinoise.

L'ADN étant dégradé en milieu oxydant, cette pratique ne permet plus la détection potentielle par la méthode PCR d'ADN de ruminant à partir d'héparine sodique brute et pourrait être utilisée par des fraudeurs pour masquer l'utilisation de mucus de ruminants.

Il n'a pas été démontré qu'une telle étape d'oxydation supplémentaire avait un impact défavorable sur la qualité de l'héparine. Cependant plusieurs facteurs doivent être pris en considération :

- la pureté de l'agent oxydant utilisé ;
- l'oxydation pourrait avoir un impact sur la structure des impuretés présentes en début du procédé et conduire à des problèmes de purification de l'héparine ;
- les signaux RMN  $^1\text{H}$  / RMN  $^{13}\text{C}$  caractéristiques d'autres impuretés peuvent être masqués dans le spectre RMN de l'héparine et de ce fait ne pas être détectés ;
- la qualité de l'ADN porcin qui serait rajouté en final pour masquer l'opération de destruction de l'ADN d'origine de ruminants n'est pas connue.

### **VII.4. Risques liés à la contamination par la chondroïtine persulfatée**

Le risque est maîtrisé avec la recherche systématique de traces de chondroïtine persulfatée par les techniques de RMN  $^1\text{H}$  et de CLHP sur tous les lots d'héparine sodique.

## VIII. CONCLUSION

Les campagnes d'inspections des sites producteurs d'héparine en France, aux USA et en République Populaire de Chine réalisées en 2012 et 2013 ont permis de mettre en évidence l'extrême complexité de la chaîne d'approvisionnement au niveau de la production de l'héparine d'origine chinoise. Ces inspections ont également permis d'évaluer le niveau de contrôle mis en place par les opérateurs, des abattoirs jusqu'à la substance active.

Les deux établissements localisés en France (ASPEN, ex-Glaxo Welcome Production, et Sanofi Chimie) présentent un niveau de conformité aux bonnes pratiques acceptable. Ces établissements assurent un contrôle régulier des acteurs de toute la chaîne d'approvisionnement (héparine sodique purifiée, héparine brute et brut de l'héparine brute) au travers d'audits incluant la visite d'abattoirs.

Par ailleurs, la première campagne de prélèvement à différents stades de la chaîne de fabrication de l'héparine sodique en République Populaire de Chine a été réalisée durant l'inspection de Chongqing Imperial et les échantillons prélevés ont été testés sur la période 2013/2014 par les laboratoires de Contrôle de 5 Etats membres : Suède, Royaume-Uni, Allemagne, Italie et Danemark.

Cette campagne a fait ressortir un besoin de standardisation des méthodes PCR utilisées afin de fiabiliser les résultats obtenus et ainsi pouvoir tirer les conclusions appropriées. Un projet en ce sens est porté au niveau européen et des discussions sont en cours avec les OMCLs concernés et la DEQM. Dans une seconde phase, il est projeté de proposer à l'US-FDA et aux autres autorités de s'engager dans ce travail collaboratif de standardisation.

Les maillons faibles identifiés de la chaîne d'approvisionnement de l'héparine sodique purifiée sont les sites de fabrication du brut de l'héparine sodique brute et de l'héparine sodique brute. L'amélioration de la qualité et de la sécurité de cette activité repose sur :

- la responsabilité de l'industrie pharmaceutique sur la qualification de l'ensemble des acteurs de la chaîne d'approvisionnement de l'héparine sodique, des abattoirs jusqu'au site de fabrication de l'héparine sodique brute, en passant par les sites de fabrication du brut de l'héparine sodique brute ;
- la mise en œuvre des moyens suffisants pour qualifier tous les acteurs. La fréquence et la durée des audits devront être adaptées à la complexité de la chaîne d'approvisionnement ;
- l'approvisionnement de l'industrie pharmaceutique en héparine sodique brute auprès d'opérateurs chinois enregistrés et régulièrement inspectés par la Chinese Food and Drug Administration (CFDA).

A ce titre, un guide de l'US-FDA à l'usage des opérateurs, pour le contrôle de l'héparine sodique brute, a été rendu public en juin 2013 : "Heparin for Drug and Medical Device Use: Monitoring Crude Heparin for Quality" (**Annexe 3**).

Plusieurs recommandations aux industriels y sont proposées afin de renforcer la chaîne d'approvisionnement de l'héparine :

- contrôle de chaque lot (et de chaque réception) d'héparine brute afin de s'assurer de l'origine exclusivement porcine et de l'absence de contamination par de la chondroïtine persulfatée ;
- connaissance de l'identité et du rôle des fabricants / re-conditionneurs / distributeurs de l'héparine brute et réalisation d'audits réguliers ;
- rejet de tout lot d'héparine brute contenant des traces de chondroïtine persulfatée ou d'ADN de ruminants.

## **IX. LISTE DES ANNEXES**

- Annexe 1 : “Biologics Working Party guideline on the use of starting materials and intermediates collected from different sources in the manufacturing of non-recombinant biological medicinal products”. Date d’application : 01 décembre **2013** ;
- Annexe 2 : “Development of a Multiplex Real-Time PCR Assay for the Detection of Ruminant DNA in Raw Materials used for Monitoring Crude Heparin for Quality”, Sharla M. Peters and al. US-FDA (June **2013**) ;
- Annexe 3 : “Guidance for Industry Heparin for Drug and Medical Device Use: Monitoring Crude Heparin for Quality”, June **2013**.

## **X. ACRONYMES**

### **ADN**

Acide désoxyribonucléique

### **AMM**

Autorisation de mise sur le marché

### **ANSM**

Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé, autorité compétente française

### **BPF**

Bonnes pratiques de fabrication

### **CLHP**

Chromatographie liquide haute pression

### **CP**

Chondroïtine persulfatée

### **DEQM**

Direction européenne de la qualité du médicament

### **EMA**

Agence européenne des médicaments

### **ESB**

Encéphalopathie spongiforme bovine

### **EST**

Encéphalopathies spongiformes animales

### **IEC**

Chromatographie d’échange d’ions

### **INRA**

Institut national de la recherche agronomique

### **ELISA**

Enzyme linked immuno sorbent assay (dosage d’immunoabsorption par enzyme liée)

### **HBMM**

Héparine de basse masse moléculaire

### **OMCLs**

Laboratoires officiels de contrôle des médicaments

### **PCR**

Réaction d’amplification en chaîne par polymérase

### **PE**

Pharmacopée européenne

### **RMN <sup>13</sup>C**

Résonnance magnétique nucléaire du carbone

### **RMN <sup>1</sup>H**

Résonnance magnétique nucléaire du proton

### **UE**

Union européenne