

Numéro unique de document : CP042016013  
Date document : 08 Février 2016  
Direction : Direction des Contrôles  
Pôle : Standardisation Pharmacopée Normalisation  
Personne en charge : Frédérique Barbosa

## Comité Français de la Pharmacopée « Produits Biologiques et Thérapies Innovantes » – N°7

CP04 Séance du 18 Janvier 2016

Nom des participants		Statut	Présent	Absent /excusé
Pascal	ANGER	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Danièle	BENSOUSSAN	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Brigitte	BIREBENT	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nathalie	BOIRET-DUPRE	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Stéphanie	BUCHER	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Luc	CAMOIN	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Stéphane	CORNEN	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jacqueline	DAYAN	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sandy	DOUTHE DARMON	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Nathalie	DUBOIS	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dominique	FACCENDA	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Emma	FOURNIALS	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Céline	GUIGUE	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Sylvie	GUYOMARD-DEVANLAY	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jacques	LECHENET	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Virginie	LEDUC	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Céline	LORTEAU	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Laurent	MALLET	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Isabelle	MARTINACHE	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Catherine	MICHALSKI	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Christine	MIRAS	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Christopher	PAYAN	Membre	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jean-Marc	PERSON	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Thierry	PRONCE	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Benoit	RAMOND	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sylvie	UHLRICH	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Murielle	ANDRE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Marie-Christine	ANNEQUIN	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Frédérique	BARBOSA	Représentant de l'Ansm Secrétaire de séance	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nom des participants		Statut	Présent	Absent /excusé
Frédéric	BEAULIEUX	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Guillaume	BELIARD	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Agnès	BERTOCCHI	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Patrice	CHAGNAUD	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Natacha	CHARLIER-BRET	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Xavier	CHENIVESSE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yves	CORTEZ	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Nathalie	DELESALLE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Laure	DELIGNIVILLE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Marie-Thérèse	DUFFOUR	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muriel	DURAN CORDOBES	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dominique	GARCIA	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Muriel	GIRARD	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ramla	HAMADA	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Gérard	HUYGHE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Stéphanie	JAMBON	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jehanara	KORIMBOCUS	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jérôme	LAPORTE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Catherine	LEFEBVRE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Valérie	LIEVRE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Stéphane	MAISONNEUVE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Karine	MEUNIER	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Sylvie	MORGEAUX	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wahiba	OUALIKENE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jean-Claude	OURLIN	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Béatrice	PANTERNE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Christian	PITOT-BELIN	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Michèle	PLANA	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sonia	PRIEUR	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Valérie	RIDOUX	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Séance du 18 Janvier 2016 de 13h00 -17h30

Ordre du Jour	
13 h30	Début de la séance
<b>1</b>	<b>Introduction</b>
1.1	Adoption du compte rendu du CFP « Produits biologiques et thérapies innovantes » n°6 du 6 octobre 2015 CP042015043
<b>2</b>	<b>Dossiers à examiner en séance / Groupe BET Pha 27.4</b>
	Gestion des conflits d'intérêts
2.1	<b>Révision</b> - <b>Essai d'activation des Monocytes (2.6.30)</b> PA/PH/Exp. BET/T (14) 5 ANP
<b>3</b>	<b>Programme de travail</b>
3.1	Groupe 6B
3.2	Groupe HCP
3.3	Groupe LBP
<b>17h30</b>	<b>Fin de la séance</b>

La séance est ouverte à 13H30.

Après avoir vérifié que le quorum est atteint, la secrétaire de séance ouvre la séance du comité Français de la Pharmacopée (CFP) « Produits Biologiques et Thérapies Innovantes ».

La secrétaire de séance rappelle aux participants que les séances du CFP sont enregistrées (enregistrement audio) conformément au règlement intérieur.

## 1 – Introduction

### 1.1 Adoption du compte-rendu du CFP « Produits biologiques et thérapies innovantes » n°5 du 19 juin 2015 CP042015033

Le compte rendu de la réunion n°6 du CFP « Produits Biologiques et Thérapies Innovantes » du 6 Octobre 2015 est adopté.

La secrétaire de séance propose aux participants une date pour le prochain CFP.

**Vendredi 13 Mai 2016 13H30-17H30**

**Absence de conflits d'intérêts par rapport aux points à l'ordre du jour  
- Chapitre général -**

L'ordre du jour est inversé, le retour sur la Commission européenne de pharmacopée et les groupes de travail sont abordés ci-après avant les échanges sur le chapitre 2.6.30.

## 2– Programme de travail

### Retour d'information des groupes de la Pharmacopée Européenne réunis depuis Octobre 2015.

Un retour bref de la Commission 153 de Novembre 2015 a été fait.

#### Groupe RCG (Raw Cell Material) chap 5.2.12 :

Ce dossier du Pharmedropa 26.4, étudié au CFP Bio du 19 janvier 2015 a nécessité de nouveaux commentaires lors du passage en Commission Européenne de Pharmacopée. L'ensemble des commentaires a été pris en considération, notamment des points de nature bloquante :

- La référence à la monographie « sérum bovin (2262) »
- Le titre en français « Matières premières d'origine biologique utilisées pour la production de médicaments à base de cellules et de médicaments de thérapie génique » en remplacement de « Matières premières utilisées pour la production de produits cellulaires à finalité thérapeutique et de médicaments de thérapie génique »

#### Groupe 15 (vaccin pour usage humain), les monographies suivantes ont été adoptées :

- Vaccin pour usage humain (**0153**) Pharmedropa 27. 1, CFP Bio n°4 9 avril 2015
- Immunonéphélométrie pour le dosage des composants de vaccin (**2.7.35.**) Pharmedropa 27. 1, CFP Bio n°4 9 avril 2015
- Substrats cellulaires pour la production de vaccins à usage humain (**5.2.3.**) Pharmedropa 26.4, CFP Bio n°3 19 janvier 2015
- La demande de révision *Haemophilus influenzae* type b discutée en séance du CFP Bio du 6 octobre 2015 a bien été transmise mais n'a pu être prise en compte à la Commission Européenne de Pharmacopée de novembre 2015. Elle sera mise à l'ODJ du groupe 15 de février 2016 et passera en Commission Européenne de Pharmacopée de mars 2016.

**Groupe P4Bio**, la monographie suivante a été adoptée :  
Teriparatide (2829) Pharmeuropa 27. 1, CFP Bio n°4 9 avril 2015.

Les prochains groupes devant se réunir dans les 3 mois sont : groupe 1, CTP, 6, 15, 15V, P4Bio, MAB, 6B et BET.

## 2.1 Groupe 6B

Demandes de révisions :

**1527** : « Immunoglobuline humaine anti-D pour administration par voie intraveineuse »

Création de sous-groupes pour discuter de l'opportunité et des modalités de révision des monographies :

**1643** : « Facteur VIII de coagulation humain (ADN r) » ; le sous-groupe est constitué de représentants de : ANSM, NIBSC, PEI, Canada, Baxter, Novonordisk.

**2522** : « Facteur IX de coagulation humain (ADN r), solution concentrée de » ; le sous-groupe est constitué de représentants de : ANSM, NIBSC, PEI, Canada, Baxter.

**1646** : plasma humain (mélange de) traité pour viro-inactivation. Le taux d'anticorps anti-VHA va faire l'objet d'une enquête publique.

Mise en place d'une **BSP** (Biological Standardisation Programme) afin d'établir un test permettant de détecter une activité procoagulante dans les solutions d'Immunoglobulines humaines.

## 2.2 Groupe HCP (Host Cell Protein)

A ce jour, le compte rendu de la dernière réunion qui s'est tenue le 18 décembre 2015 et le document mentionnant les décisions prises en groupe vis-à-vis des commentaires reçus, ne nous sont pas encore parvenus. Un retour sera donc fait ultérieurement au comité.

## 2.3 Groupe LBP (Live Biotherapeutic Products)

Le groupe Life biotherapeutic products (LBP) s'est réuni pour la deuxième fois les 24-25-26 novembre 2015 à l'EDQM à Strasbourg.

Ce groupe s'est étoffé et est constitué de 2 représentants français, 1 anglais (fabricant), 2 allemands (BFarm et fabricant), 1 danois (fabricant), 2 Italiens (autorité compétente), 1 espagnol absent.

L'objectif de ce groupe est de préparer une monographie sur les LBP qui sont définis comme étant des médicaments contenant des organismes vivants (ex bactéries et levures). Les médicaments à base de bactéries mais inactivés par la chaleur ne sont pas des LBP. De même, ce qui est développé actuellement dans le champ de la transplantation fécale ou dérivés de cette technique ne fait pas partie du champ d'application de cette monographie.

Un retour sur une enquête élaborée lors de la première réunion (LBP Survey) nous a été présenté : 29 participants issus de 15 pays ont répondu à cette enquête. Un état des lieux des produits avec le nom des souches et leurs concentrations, la forme galénique et la voie d'administration a été récapitulé dans un tableau. Plusieurs catégories de bactéries sont ressorties de cette enquête: Les plus représentées sont les bactéries dites lactiques (*Lactobacillus* et *Bifidobacterium*), puis *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ; *Bacteroides*, *Bacillus clausii*, *Mycobacterium bovis*. Concernant les levures, *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces boulardii* sont représentées.

Le dénombrement sur gélose est assez classique mais le contrôle de la contamination microbienne pose problème. Le chapitre 2.6.12 exclut d'ailleurs son application aux LBP. Le groupe doit réfléchir aux différents scénarios. Par exemple pour *E.coli*, comment s'assurer d'une éventuelle contamination par un autre *E.coli* ?

Les voies d'administration orales et vaginales sont les 2 citées dans cette enquête.

Le travail du groupe LBP a consisté à retravailler sur le draft de la monographie initié en septembre 2014. Parallèlement le chapitre 2.6.12 (Contrôle microbiologique des produits non stériles: Essais de

dénombrement microbien) a été relu et analysé dans sa totalité. Compte tenu de l'impossibilité de suivre un tel chapitre pour les LBP, un chapitre 2.6.12 "like" référencé 2.6.36 spécifique du contrôle microbiologique des LBP va être préparé. De même comme certains milieux de culture sont différents de ceux du chapitre 2.6.13 (recherche de microorganismes spécifiés), un chapitre 2.6.13 "like" sera également élaboré. Enfin, le chapitre 5.1.4 (qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stérile), devra éventuellement être complété.

Une circulation des documents au sein du groupe et un retour avant fin février est planifiée.

### 3 – Dossiers à examiner en séance/ Groupe BET Pha 27.4

#### 3.1 Essai d'activation des Monocytes (2.6.30) PA/PH/Exp. BET/T (14) 5 ANP

Une enquête a été réalisée en février mars 2013 par l'EDQM.

En juin 2014 lors de la Commission Européenne de Pharmacopée, une demande de révision a été faite par le groupe BET dans l'objectif d'apporter des précisions sur la préparation des échantillons et d'introduire la recherche de pyrogènes de nature non endotoxinique.

La compilation de l'ensemble des commentaires reçus a été transmise sous forme de tableau à l'ensemble des participants. Les commentaires grisés ne sont pas abordés en séance.

Les références de pages et lignes sont celles correspondant à la version française du document pdf mis en enquête publique référencé ci-dessus.

► **Page 3 ligne 4** Proposition d'alerter le lecteur sur la nécessité de se référer aux recommandations en fin de chapitre. En effet beaucoup de commentaires nous sont parvenus avec des demandes de précisions qui auraient pu être évitées par une lecture attentive des recommandations. Il est proposé de compléter comme suit :

Trois méthodes sont décrites dans le présent chapitre [mentionnant les sources monocytaires et leur qualification](#).

Méthode A. Essai quantitatif

Méthode B. Essai semi-quantitatif

Méthode C. Essai de comparaison à un lot de référence

[De plus, des compléments d'information utiles à la mise en place des techniques sont intégrées dans la partie « Recommandations pour la réalisation de l'essai » en fin de chapitre.](#)

► **Page 4 ligne 1:** Valeur seuil

La valeur seuil est la moyenne des réponses obtenues pour le blanc lors des 4 répétitions.

A la première lecture, on ne comprend pas exactement ce qu'est cette valeur seuil. Pour plus de clarté et une meilleure compréhension, il est proposé de remonter les lignes 8-9 en ligne 1 comme suit :

« La limite de détection (LD) est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage. La LD est la concentration en endotoxine qui correspond à la valeur seuil.

La valeur seuil peut se calculer à l'aide de l'expression suivante :

$\bar{X}$  = moyenne des réponses obtenues pour le blanc lors des 4 répétitions ( $R_0$ ),

$s$  = écart type des réponses obtenues pour le blanc lors des 4 répétitions ( $R_0$ ).

La valeur seuil est exprimée en unités appropriées [au système de détection](#) du marqueur choisi ([ex cytokine pro-inflammatoire](#)).

Pour les besoins de l'essai, la LD est exprimée en équivalent-endotoxine par millilitre. »

► **Pages 4 et 5.** Pour une meilleure lisibilité du texte, un réagencement du point 5 « sources et qualification » est proposé en séance comme suit, accompagné de quelques modifications d'ordre éditoriales :

5 Source de cellules et qualification

5.1 Critères de sélection des donneurs de sang

5.1.1 Sang Total

- 5.1.2 Cellules mononucléées du sang périphérique (cmSP)
- 5.2 Lignées de cellules monocytaires continues
- 5.3 Cellules cryo-conservées
- 5.4 Qualification des cellules provenant de mélanges de dons
- 5.5 Qualification des lignées de cellules monocytaires continues
- 5.6 Qualification des cellules cryo-conservées

Cette proposition sera faite à la Pharmacopée Européenne. Dans le cas d'une « non acceptation » sous motif d'être en dehors du scope de la révision, cette demande sera réitérée lors de la prochaine demande de révision.

► **Page 5 point 5-4 « qualification des cellules provenant de mélanges de dons » lignes 13-16 et 5-5 « qualification des cellules cryo-conservées » lignes 26-27**

Suite à l'enquête publique, des commentaires et questions d'un prestataire pour l'industrie pharmaceutique concernant l'utilisation du mélange de sang cryo-préservés ou de cellules dans le cadre de la recherche de pyrogène de nature non endotoxinique (NEP) ont été reçus. Celui-ci alerte sur le risque d'utilisation de sang ou de cellules cryo-conservés plus difficile.

Certaines réponses aux questions posées se trouvent en fin de chapitre dans la partie « recommandations pour la réalisation de l'essai ». C'est pour cette raison que **Page 3 ligne 4** (voir commentaire correspondant ci-dessus), nous pensons nécessaire d'interpeller le lecteur sur le fait d'aller regarder les recommandations.

Les commentaires seront transmis à la Pharmacopée Européenne, pour leur montrer d'une part le bien fondé de notre premier commentaire et d'autre part avertir sur la nécessité d'apporter des précisions ou de réitérer des informations à différents endroits du texte pour plus de lisibilité et ainsi d'éviter des interprétations erronées.

Concernant les recommandations pour la réalisation de l'essai page 12 lignes 12-17 faisant état que la réponse aux contaminants non endotoxinique peut différer d'un donneur à l'autre, l'article de janvier 2016 de Karin Nordgren « *leukoreduction system chambers provide a valuable source of functional monocytes for the monocyte activation test by comparison with internationally validated methods* » J. Immunol. Method 428 (2016) 42-49 montre qu'il existe une variabilité inter-donneur importante vis à vis des NEP.

Pour répondre au questionnement, on peut dire :

- Pour la recherche des NEP, le test doit s'effectuer sur chaque don de sang avec au minimum 2 ligands non endotoxiques en plus de l'endotoxine sur chaque donateur individuel avant mélange.
- L'effet « donneur » doit être vérifié avant de « pooler »
- Page 5 lignes 20-21, il est écrit « les mélanges de cellules cryo-conservées sont préparés avant la congélation ou immédiatement après la décongélation à partir de dons unitaires cryo-conservés »
- L'applicabilité de la méthode est produit spécifique
- L'utilisation de pool de donneur doit être qualifiée pendant la validation produit spécifique
- L'effet donneur est produit-dépendant et doit être évalué par l'utilisateur lors du choix de la méthode (voir recommandations, pages 11-12 « choix de la méthode »).
- Implicitement, il y a nécessité d'une entente préalable entre le fournisseur et l'utilisateur

Pour connaître plus précisément ces effets donneurs, des études comparatives « dons individuels » « pool » « effets donneurs » en complément de l'article du NIBSC de janvier 2016 seraient très utiles.

► **Page 5, lignes 29-30 Paragraphe 5-6 Lignées de cellules monocytaires continues**

« *Les lignées de cellules monocytaires sont appropriées pour la détection des endotoxines bactériennes, mais d'un usage limité pour celle des pyrogènes non endotoxines* »

Suite à l'enquête publique, un prestataire nous informe de l'utilisation effective de cellules de type MonoMac 6 (MM6) pour détecter les NEP. Un tableau informatif de tests de différents types de NEP : Peptidoglycan *S. aureus*, LTA, Flagelin, Heat-killed *Staphylococcus aureus*, PAM3CSK4 nous a été fourni et sera transmis à la Pharmacopée Européenne.

Suite à ces informations, il sera proposé de revoir la phrase comme suit :

« Les lignées de cellules monocytaires continues sont appropriées pour la détection des endotoxines bactériennes et doivent faire l'objet d'une validation avec un panel de substances de nature non endotoxinique approprié. »

La question des NEP de type fongique est évoquée en séance et sera évoquée à la Pharmacopée Européenne. Des avis divergent sur la question de la sensibilité des cellules MM6 : selon une thèse de 2010, les MM6 ne seraient pas sensibles à *Candida albicans* et *Aspergillus niger* mais selon un article de Moesby 1999, il y aurait nécessité d'ultra sonication de ces préparations NEP au préalable pour que cela fonctionne.

► **Page 6, point 6-2, lignes 39-41**

Une question était posée sur le terme « analyse » et le manque de clarté de ce paragraphe. Compte tenu de l'exemple page 6 à partir de la ligne 42, on comprend qu'analyse est ici un terme global englobant toute la méthode de comparaisons (le protocole, l'analyse statistique des résultats).  
Ce commentaire n'est pas retenu.

► **Page 7, point 6-2, lignes 6-7**

Il est écrit : « Une fois la validation effectuée pour le produit considéré, l'essai est conduit en routine avec des cellules provenant de 4 donneurs indépendants ~~ou d'un seul mélange, ou encore avec des cellules provenant d'un même niveau de passage d'une lignée de cellules monocytaires humaines~~ »

Plusieurs questionnements nous sont parvenus sur ce point.

Cette modification importante exprime que la méthode C (même après la validation spécifique du produit) doit être effectuée avec des cellules de 4 donneurs individuels (soit 4 tests différents pour 1 produit).

Les « pools » de sang total ou cellules ne peuvent pas être utilisés pour la méthode C.

► **Page 7, point 6-2, lignes 8-12**

Un commentaire nous a été fait concernant l'analyse en lignes parallèles. La proposition sera de faire référence au chapitre 5.3 « Analyse statistique des résultats des dosages et essais biologiques » qui en 3.2 décrit les modèles en lignes parallèles.

► **Page 7, point 6-3, lignes 16-17**

Suite à des précisions demandées, nous vous informons que la Pharmacopée Européenne est en train d'élaborer des références de pyrogènes non endotoxiques.

Concernant l'applicabilité de la méthode, le texte est clair, et précise de tester 2 ligands NEP en validation puis 1 NEP en routine. Les remarques concernant ce paragraphe ne feront pas l'objet d'un retour à la Pharmacopée Européenne

► **Page 7, point 7-1-1, (tableau commentaire 28)**

Un commentaire nous a été fait sur le traitement des valeurs aberrantes.

Il est proposé dans ce commentaire de rajouter dans le texte la possibilité de retrait d'une valeur aberrante et éventuellement de la remplacer par des dilutions additionnelles et qu'au moins 1 dilution valide (avec 4 réplicats) suffise à la validité du test.

Divers points de vue ont été échangés :

- Pour rappel dans le tableau 2.6.30-1, un nombre de réplicats de 4 est préconisé, ne pourrait-on pas proposer pour l'analyse des résultats un minimum de 3 réplicats permettant l'exclusion 'une valeur aberrante ou de permettre le retest d'une dilution ?

- Il n'existe pas d'autres monographies où la question de la gestion des valeurs aberrantes est abordée. C'est à chaque laboratoire d'avoir sa stratégie d'analyse et le laboratoire doit pouvoir la démontrer et la défendre lors d'une visite d'inspection. Un chapitre de la Pharmacopée Européenne doit-il aller autant dans le détail ?

Suite à ces discussions, la demande suivante sera exposée à la Pharmacopée Européenne: d'une part sur la nécessité ou pas de préciser la possibilité de retrait d'une valeur aberrante, d'autre part sur la légitimité de faire 4 réplicats (3 ne serait-il pas suffisant ?).

Faut-il préciser les modalités de retrait d'une valeur aberrante avec au moins 2 ou 3 réplicats selon le nombre de réplicats choisi au départ ?

Un document « gestion des valeurs aberrantes » interne à un prestataire réalisant le MAT sera transmis à la Pharmacopée Européenne pour information (autorisation de diffusion donnée par le prestataire car d'accès libre sur son site internet).

#### ► **Méthode B et vaccin**

Des commentaires généraux informent d'une difficulté pour appréhender le choix de la méthode B et C. La difficulté du choix entre ces 2 méthodes sera transmise à la Pharmacopée Européenne.

Un commentaire concernant la thématique des vaccins donne comme information que la méthode B n'est pas utilisable pour ces produits déjà riches en pyrogènes.

Ce commentaire n'a pas reçu un avis favorable avec pour explication que le MAT méthode B peut être utilisé pour un vaccin dans le cas où on est capable d'avoir 3 dilutions négatives inférieures à la DMS (Dilution Maximale Significative) et si on a des pourcentages de recouvrement valides.

Le paragraphe « recherche de facteurs d' interférences » explique très clairement comment procéder pour faire le choix de la méthode. Les « recommandations » donnent des informations complémentaires.

Si on doit diluer au-delà de la DMS, on ne peut plus appliquer la méthode B. C'est alors la méthode C qui doit être choisie et on compare alors avec un lot de référence.

Point important :

Le nombre de dilution fixé à « 3 » (DMS, DMS/2, DMS/4) semble être limitant à la mise en place du test MAT. Il sera demandé à la Pharmacopée Européenne si la nécessité d'avoir 3 dilutions négatives est indispensable. Ne pourraient-elles pas être restreintes à 2 dilutions négatives pour faciliter la mise en place de ce test déjà très délicat, sachant que la méthode C nécessite d'utiliser un produit référence qui n'est pas toujours disponible.

#### ► **Page 9 point 7-2-2 lignes 46**

Un commentaire exprime une nouvelle modalité de méthode B. Ce commentaire reprend la problématique exposée dans le commentaire précédent sur la nécessité de 3 dilutions englobant la MVD/4. Les dilutions sont DMS/2, DMS, 2DMS et il n'y a plus DMS/4. Un tableau est fourni expliquant l'interprétation des différents scénarios de résultats possibles et les conclusions à leur attribuer.

Ce commentaire n'est pas retenu, on ne peut pas diluer au-delà de la DMS (2DMS)

Ci-dessous, un exemple simple pour démonstration :

*Ex : CLC = 10 UI/ml et LD = 1 UI/ml*

*DMS = CLC x C/LD = 10/1 = 10*

*Un Echantillon Non Conforme à 15 UI/ml : à la dilution au 1/20 (2 DMS comme proposé), la concentration de l'échantillon dilué est à 0.75 UI/ml et sera donc négatif alors qu'il est Non Conforme.*

#### ► **Page 10 Méthode C point 7-3-1 mode opératoire ligne 26**

Pour être explicite, Il sera précisé « .....cellules qualifiées [provenant de 4 donneurs différents](#) »

#### ► **Page 13, point 2-5 validation croisée, lignes 17-26**

Dans le chapitre 5.1.10 « **recommandation pour la réalisation de l'essai des endotoxines bactériennes** » est écrit : « Il est donc recommandé d'effectuer, en même temps que les expériences de validation de l'essai des endotoxines bactériennes (BET), des expériences de validation croisée avec le MAT, en utilisant les 3 mêmes lots ».

Un commentaire exprime le fait de bien préciser que la validation MAT BET est nécessaire pour passer du BET au MAT sur un produit qui était déjà testé en BET et pour lequel on a suspicion de contamination non

endotoxinique et que le passage du test pyrogène sur lapin au MAT ne nécessite pas de validation croisée avec le BET.

Réponse et Proposition :  
Le commentaire n'est pas retenu car :

- Ce paragraphe 2-5 validation croisée, ne concerne que le remplacement du LAL en cas de contamination par du non endotoxinique ; le remplacement du pyrogène sur lapin est traité dans le paragraphe 3 « remplacement de l'essai des pyrogènes sur le lapin par l'essai d'activation des monocytes ». Il est écrit également « L'essai des pyrogènes sur lapin (voir chapitre 2.6.8 pyrogènes) ne doit être réalisé pour la validation croisée que si aucune méthode MAT (A, B ou C) ne peut être validée pour un produit donné »

- Dans l'introduction, toutefois, il semble nécessaire de préciser que le MAT a pour vocation d'être développé dans le cas de suspicion de possibles contaminants non endotoxiniques. Cela n'est pas précisé alors que dans le chapitre 5.1.10 est écrit « L'essai d'activation des monocytes (2.6.30) constitue une méthode appropriée pour exclure la présence de pyrogènes non endotoxiniques dans des substances ou produits. »

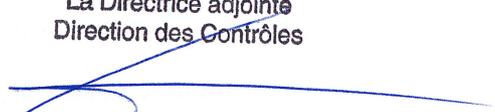
- Pour information, un chapitre sur les « méthodes substitutives aux tests in vivo » est en cours d'élaboration afin de ne pas imposer forcément la validation d'une méthode in vitro par rapport à une méthode in vivo surtout quand on ne peut pas établir une corrélation, ce qui est le cas pour le test des pyrogènes. Il sera demandé d'y faire référence en révisant le chapitre dès sa parution.

Commentaire fait en séance sur la pertinence de tester 3 lots :

A l'heure du PAT et du QBD, les industriels se doivent de tester un certain nombre de lots. On devrait parler plutôt de 3 lots minimum ou bien de ne pas préciser 3 lots, point relatif aux BPF.

– FIN de séance: 16h40 –

La Directrice adjointe  
Direction des Contrôles

  
**Frédérique BARBOSA**