

01/2005:1056

VACCIN DE L'HÉPATITE B (ADNr)**Vaccinum hepatitis B (ADNr)****DÉFINITION**

Le vaccin de l'hépatite B (ADNr) est une préparation de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), une protéine constitutive du virus de l'hépatite B, qui peut être adsorbé sur un support minéral tel que l'hydroxyde d'aluminium ou le phosphate hydraté d'aluminium. L'antigène est obtenu par la méthode dite de l'ADN recombinant.

PRODUCTION**DISPOSITIONS GÉNÉRALES**

Il doit être démontré que le vaccin suscite chez l'homme la formation d'anticorps spécifiques protecteurs et que le procédé de production donne de façon constante des vaccins qui satisfont aux exigences de pouvoir immunogène et d'innocuité.

Le procédé de production fait l'objet d'une validation permettant de démontrer que le produit satisfait à l'essai de toxicité anormale des immunosérums et vaccins pour usage humain (2.6.9), s'il lui était appliqué.

Le vaccin de l'hépatite B (ADNr) est obtenu par l'expression du gène codant pour l'HBsAg dans des cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) ou de mammifères (cellules d'ovaires de hamster chinois (CHO) ou d'autres lignées cellulaires appropriées), de la purification de l'HBsAg qui en résulte et de la transformation de cet antigène en une préparation immunogène. Le choix et l'innocuité des cellules utilisées sont approuvés par l'Autorité compétente.

Le vaccin peut contenir soit le produit du gène S (protéine majeure), soit une combinaison des produits des gènes S et pré-S2 (protéine moyenne), soit une combinaison des gènes S, pré-S2 et pré-S1 (grande protéine).

Préparation de référence : est utilisée comme préparation de référence une partie d'un lot représentatif dont on a démontré que le pouvoir immunogène chez l'animal est au moins égal à celui d'un lot qui, lors d'études cliniques conduites chez de jeunes adultes sains, a produit 95 pour cent au moins de séroconversion après immunisation primaire complète. Le critère de séroconversion correspond au taux d'anticorps neutralisants reconnu comme protecteur ; un taux égal ou supérieur à 10 mUI/ml d'anticorps contre L'HBsAg est reconnu comme étant protecteur.

CARACTÉRISATION DE LA SUBSTANCE

Des études de développement sont effectuées pour caractériser l'antigène. La structure complète protéinique, lipidique et en hydrates de carbone est déterminée. Les caractéristiques morphologiques des particules d'antigène sont déterminées par microscopie électronique. La densité moyenne des particules d'antigène est déterminée par une méthode physico-chimique, telle que la centrifugation en gradient de densité. Les épitopes antigéniques sont caractérisés. La structure primaire de la partie protéinique est caractérisée, par exemple par détermination de la composition en acides aminés, par une analyse séquentielle partielle d'acides aminés et par la cartographie peptidique.

CULTURE ET RÉCOLTE

L'identité, la pureté microbienne, la rétention du plasmide et la régularité du rendement sont déterminées à des stades appropriés de la production. Si des cellules de mammifères sont employées, des essais d'agents étrangers et de mycoplasmes sont effectués selon les prescriptions de *Essais des agents étrangers dans les vaccins viraux pour usage humain* (2.6.16) en utilisant 200 ml de récolte dans l'essai de recherche d'autres agents étrangers sur cultures cellulaires.

ANTIGÈNE PURIFIÉ

Seul un antigène purifié satisfaisant aux essais ci-après peut être utilisé dans la préparation du vrac final.

Protéines totales. La teneur en protéines totales est déterminée par une méthode validée. La teneur se situe dans les limites approuvées pour le produit spécifique.

Teneur en antigène et identification. La quantité et la spécificité de l'HBsAg sont déterminées par comparaison soit avec l'étalon international de HBsAg sous-type *ad* soit avec une référence interne, par une méthode immunochimique appropriée (2.7.1), par exemple un dosage radioimmunologique (RIA), un dosage par immunoabsorption à enzyme conjuguée (ELISA), par immunoempreinte (de préférence avec un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope protecteur) ou par un essai de diffusion radiale simple. Le rapport antigène/protéines se situe dans les limites approuvées pour le produit spécifique.

La masse moléculaire de la bande principale trouvée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE) effectuée dans des conditions réductrices correspond à la valeur attendue en fonction des séquences connues des acides nucléiques et du polypeptide, ainsi que de la glycosylation éventuelle.

Pureté antigénique. La pureté de l'antigène est contrôlée par comparaison avec la préparation de référence par chromatographie liquide ou par toute autre méthode appropriée telle que l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS-PAGE avec coloration par le bleu acide 92 et l'argent. Une méthode est appropriée notamment si elle présente une sensibilité suffisante pour détecter un contaminant potentiel à une concentration de 1 pour cent de protéine totale. Au minimum 95 pour cent des protéines totales sont constituées de l'antigène de surface de l'hépatite B.

Composition. La teneur en protéines, lipides, acides nucléiques et hydrates de carbone est déterminée.

ADN résiduel de la cellule hôte et du vecteur. Si le vaccin est produit sur des cellules de mammifères, la teneur en ADN n'est pas supérieure à 10 pg dans la quantité d'antigène purifié équivalant à une dose humaine unitaire de vaccin.

Césium. Si un sel de césium est utilisé pendant la production, un essai de césium résiduel est effectué sur l'antigène purifié. La teneur se situe dans les limites approuvées pour le produit spécifique.

Stérilité (2.6.1). L'antigène purifié satisfait à l'essai de stérilité. Effectuez l'essai en utilisant 10 ml pour chaque milieu.

En fonction de la méthode de production, d'autres essais sur l'antigène purifié peuvent être nécessaires, par exemple un essai de sérum animal résiduel si des cellules de mammifères ont été utilisées pour la production ou des essais de résidus des substances chimiques utilisées dans l'extraction et la purification de l'antigène.

VRAC FINAL

Un conservateur antimicrobien et un adjuvant peuvent être incorporés au vaccin.

Seul un vrac final satisfaisant aux essais ci-après peut être utilisé dans la préparation du lot final.

Conservateur antimicrobien. Déterminez, s'il y a lieu, la teneur en conservateur antimicrobien par une méthode chimique ou physico-chimique appropriée. Cette teneur n'est pas inférieure à 85 pour cent ni supérieure à 115 pour cent de la teneur voulue.

Stérilité (2.6.1). Le vrac final satisfait à l'essai de stérilité. Effectuez l'essai en utilisant 10 ml pour chaque milieu.

LOT FINAL

Seul un lot final qui satisfait à chacun des essais décrits sous Identification, Essai et Activité peut être libéré. Si les essais de formaldéhyde libre (le cas échéant) et de teneur en conservateur antimicrobien (le cas échéant) ont été effectués avec de bons résultats sur le vrac final, ils peuvent ne pas être répétés sur le lot final. Si le titrage d'activité est effectué *in vivo* et que des résultats satisfaisants ont été obtenus sur le vrac final, il peut ne pas être répété sur le lot final.

IDENTIFICATION

La détermination de l'activité ou, dans les cas appropriés, le profil électrophorétique, servent également à identifier le vaccin.

ESSAI

Aluminium (2.5.13) : au maximum 1,25 mg par dose humaine unitaire, si l'adsorbant utilisé est de l'hydroxyde d'aluminium ou du phosphate d'aluminium hydraté.

Formaldéhyde libre (2.4.18) : au maximum 0,2 g/l.

Conservateur antimicrobien. Déterminez, s'il y a lieu, la teneur en conservateur antimicrobien par une méthode chimique ou physico-chimique appropriée. Cette teneur n'est pas inférieure à la valeur établie comme seuil d'efficacité ni supérieure à 115 pour cent de la teneur indiquée sur l'étiquette.

Stérilité (2.6.1). Le vaccin satisfait à l'essai de stérilité.

Pyrogènes (2.6.8). Le vaccin satisfait à l'essai des pyrogènes. Injectez à chaque lapin l'équivalent d'une dose humaine.

ACTIVITÉ

Le vaccin satisfait au titrage d'activité du vaccin de l'hépatite B (ADNr) (2.7.15).

ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique :

- la quantité d'HBsAg par récipient,
- le type de cellules utilisé pour la production du vaccin,
- le nom et la quantité de l'adsorbant utilisé,

- que le vaccin doit être agité avant emploi,
- que le vaccin ne doit pas être congelé.