

## 12

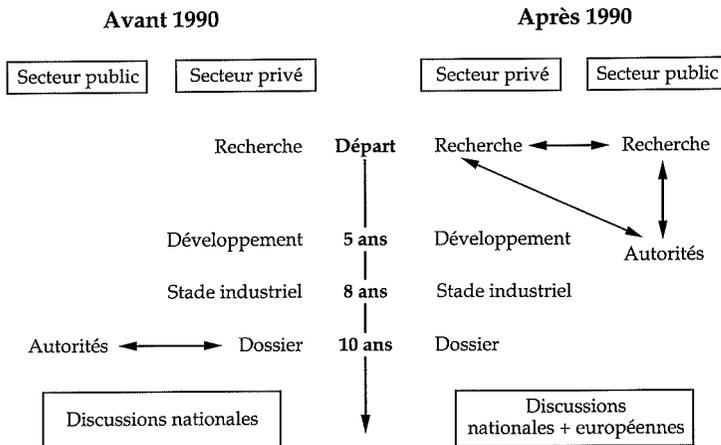
## Vaccins nouveaux - Réglementations européennes

Depuis la découverte du premier vaccin contre la variole, des progrès scientifiques majeurs ont transformé l'image des soins préventifs pour les populations du globe. Depuis 1980, 14 vaccins nouveaux ou améliorés sont apparus, complétant la panoplie des premiers vaccins largement utilisés au XX<sup>e</sup> siècle. Il s'agit en particulier des combinaisons vaccinales associant les vaccins contre la diphtérie, le tétanos, la coqueluche, la poliomyélite, les infections à *Haemophilus influenzae* de type b, ou l'association des vaccins contre l'hépatite A et l'hépatite B. Les vaccins, médicaments composés de matériels dérivés de micro-organismes, doivent répondre à des exigences particulières de qualité, ils requièrent des essais biologiques pour évaluer leur activité, leur efficacité et leur innocuité (Plotkin et Mortimer, 1994). Depuis quelques années, des modifications concernant l'évaluation et le contrôle ont été introduites dans la réglementation des vaccins et les autorisations de mise sur le marché délivrées par les autorités nationales de Santé publique. L'action des autorités françaises s'inscrit dans la démarche d'harmonisation entreprise à l'échelle européenne, et dans le contexte mondial sous l'égide de l'Organisation mondiale de la santé.

### Cadre de la politique vaccinale en France

La mise sur le marché d'un vaccin est l'aboutissement d'une dizaine d'années de recherche et de développement. Jusqu'à récemment, les contacts entre autorités de santé du secteur public et industries s'établissaient tardivement. La tendance actuelle est aux contacts précoces entre autorités de santé, autorités d'enregistrement et industriels (figure 12.1), favorisant le développement d'une démarche de santé publique cohérente.

Comme pour tout médicament, la mise à disposition des vaccins passe par une série de procédures réglementaires appliquées par les fabricants français, fournisseurs pour les programmes de vaccination, et les pouvoirs publics.



**Figure 12.1 : Evolution des relations entre le secteur public et le secteur privé au cours du développement d'un vaccin.**

### Institutions

La définition de la politique nationale de santé publique française dans le domaine des vaccinations s'entoure des avis de deux instances : le Conseil supérieur d'hygiène publique qui propose au Ministère de la santé toute modification ou nouvelle vaccination, et le Comité technique des vaccinations, au sein duquel peuvent siéger des représentants de l'Agence du médicament, chargé de donner son avis au Ministre chargé de la Santé sur la mise en œuvre des mesures concernant la politique vaccinale, notamment en matière de recommandations ou d'obligations vaccinales. Les informations épidémiologiques sont relayées par la Direction générale de la santé à partir du Réseau national de santé publique, du réseau national télématique, du réseau des médecins sentinelles et des centres nationaux de référence.

### Agence du médicament, autorité nationale

Le rôle de l'Agence du médicament, créée par la loi du 4 janvier 1993, est de garantir la qualité des médicaments mis sur le marché, qu'ils soient importés ou fabriqués en France. Son action s'inscrit dans le programme mondial des vaccins et des vaccinations placé sous l'égide de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). En effet, la France a souscrit à la déclaration de l'Assemblée mondiale de la santé réunie en 1992, impliquant l'utilisation exhaustive par tous les Etats membres de vaccins de qualité, conformes aux normes de l'OMS. L'Agence du médicament en tant qu'organisme de contrôle, est compétente pour s'assurer que les fabricants respectent les normes fixées par l'OMS ou la Pharmacopée européenne.

Les vaccins se distinguent des autres médicaments par le fait qu'ils sont obtenus à partir d'organismes vivants et qu'ils possèdent fréquemment une

structure moléculaire complexe. Ils posent donc des problèmes de qualité particuliers en raison de la nature biologique des matériels de départ, du procédé de fabrication, des épreuves nécessaires pour les caractériser. Les mécanismes par lesquels l'autorité nationale française confirme l'assurance de qualité fournie par les fabricants de vaccins, tant sur le plan réglementaire que scientifique, évoluent régulièrement afin de s'adapter aux progrès technologiques.

### **Agence européenne**

Par règlement du conseil des communautés européennes de juillet 1993, une nouvelle institution de l'Union européenne (UE) a été créée : l'Agence européenne pour l'évaluation des médicaments (EMA). Cette institution, dont le siège est à Londres, est chargée de la coordination des évaluations scientifiques des médicaments qui font l'objet de procédures européennes d'autorisation de mise sur le marché, de la surveillance des médicaments autorisés dans l'union, du contrôle des bonnes pratiques de fabrication, des bonnes pratiques de laboratoire et des bonnes pratiques cliniques. Elle est également compétente pour délivrer conseils et informations sur le médicament. L'Agence fait appel aux experts des Etats de l'UE pour assurer l'évaluation dont elle est chargée au sein du comité des spécialités pharmaceutiques.

### **Lois et décrets**

Assurer la qualité, l'innocuité et l'efficacité d'un produit biologique est en priorité de la responsabilité du fabricant, mais c'est à l'autorité sanitaire nationale de chaque Etat membre, participant à un système de certification (OMS, Europe), qu'il incombe d'établir les procédures destinées à garantir que les produits sont conformes aux normes établies. Cette responsabilité s'exerce dans un cadre réglementaire s'appuyant sur une législation appropriée. L'article R-5135 du Code de la Santé publique transpose en droit français la Directive européenne 89-342-CEE du 3 mai 1989 qui prévoit des dispositions spécifiques pour les médicaments immunologiques (vaccins, toxines, sérums) qui imposent le contrôle des médicaments utilisés pour l'immunisation primaire des jeunes enfants ainsi que les médicaments immunologiques nouveaux par leur conception ou leur procédé de fabrication. La loi du 8 décembre 1992 et le décret d'application 94-19 du 5 janvier 1994 prévoient des règles précises sur les précautions à prendre pour les personnes qui manipulent ces produits, par celles qui les administrent aux patients et par les patients eux-mêmes. L'Agence du médicament a entrepris de procéder à la réévaluation et à la validation des autorisations de mise sur le marché délivrées antérieurement au 1<sup>er</sup> décembre 1976.

### **Procédures d'enregistrement**

Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 1998, deux procédures d'enregistrement sont désormais applicables aux vaccins. La première procédure mise en place, et la plus

novatrice, est sans doute la procédure centralisée issue de la procédure de concertation. Elle présente l'originalité de conduire à la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché valable sur l'ensemble du territoire de l'UE. Dans un premier temps seuls les médicaments issus des biotechnologies y étaient obligatoirement soumis (vaccins hépatite B recombinants), mais actuellement les autres médicaments innovants peuvent l'emprunter si les laboratoires le souhaitent. La seconde, issue de la procédure multi-Etats est la procédure de reconnaissance mutuelle d'une première autorisation octroyée par un Etat membre. Ainsi une demande d'autorisation de mise sur le marché obtenue dans un pays doit faire l'objet d'une reconnaissance mutuelle par les autres Etats. Sur la base de l'avis scientifique de l'Agence européenne, une décision d'arbitrage est prise par la commission et transposée en droit national par les Etats concernés.

### **Certification des vaccins**

Comme pour tous les autres médicaments, l'évaluation médico-technique d'un vaccin est l'étape fondamentale préalable à la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). Cette évaluation porte sur les aspects pharmaceutique (qualité et sécurité virale) et pharmaco-toxico-clinique conduisant à l'appréciation du rapport bénéfice-risque lié au vaccin faisant l'objet de l'évaluation.

### ***Evaluation médico-technique***

La qualité pharmaceutique d'un vaccin est appréciée au regard des caractéristiques des composants du produit, notamment du degré de pureté du principe actif, des modalités de préparation et des caractéristiques de la forme pharmaceutique, et enfin de la reproductibilité et de la stabilité des performances du produit. Tous ces éléments qui doivent faire l'objet de contrôles appropriés, conditionnent la qualité globale d'un médicament immunologique et sa capacité à apporter une dose protectrice, avec chaque unité thérapeutique. Cette qualité devra se vérifier depuis la libération du produit sur le marché jusqu'à la date de péremption.

Bien que la démarche d'évaluation de la qualité pharmaceutique reste identique pour les trois grandes classes de médicaments, chimique, biologique (humaine ou animale), ou ceux contenant un principe actif à base de plantes, certaines spécificités doivent être respectées dans l'analyse de la qualité des vaccins. En effet, on peut définir les vaccins comme des principes actifs d'origine biologique provenant de systèmes de production auxquels participent des organismes vivants. L'évaluation de la qualité d'un médicament biologique est basée sur quelques paramètres fondamentaux.

La matière première de départ du principe actif étant celle d'un système biologique, elle présente une variabilité intrinsèque. L'origine et l'amplitude de cette variabilité doivent être connues et maîtrisées. La matière première de

départ doit être évaluée par des contrôles physico-chimiques et biologiques permettant de mieux connaître ses caractéristiques et d'appréhender sa sécurité virale. En effet, certains agents peuvent être initialement présents dans le matériel de départ (virus humains ou animaux, agents transmissibles non conventionnels comme l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine).

Le procédé de production du principe actif doit permettre d'obtenir un principe actif le plus reproductible possible, malgré la variabilité de la matière première de départ. La reproductibilité globale du vaccin sera d'autant meilleure que le procédé d'obtention est lui-même suffisamment maîtrisé : connaissance exacte du procédé mis en œuvre, des milieux de culture, maîtrise des conditions des cultures cellulaires, validation de ce procédé par analyses de lots. Du point de vue de la sécurité virale, des procédures de contrôle très strictes de l'inactivation doivent être mises en place au cours de la production afin de réduire au maximum les risques de contamination (bactéries, virus ou agents transmissibles non conventionnels, mycoplasmes, levures). Dans le cas des vaccins, en particulier pour ceux apparus il y a une vingtaine d'années, de nombreux principes actifs biologiques sont encore difficiles à définir à l'échelle moléculaire ; aussi restent-ils caractérisés par leur procédé de production.

La caractérisation d'un principe actif biologique diffère de celle des principes actifs issus de la chimie par une plus grande masse moléculaire et une structure globale plus complexe. Il s'agit souvent de mélanges de plusieurs espèces moléculaires pas toujours bien identifiées. La caractérisation de ce principe actif est primordiale. En effet, elle n'est pas exclusivement évaluée par des contrôles physico-chimiques, car il est toujours difficile d'analyser la globalité d'une structure moléculaire, notamment les configurations spatiales de certaines molécules. Des contrôles d'activité biologique sont également mis en œuvre, permettant sur des critères précis de montrer que le produit obtenu *in fine* est bien celui attendu, non seulement en termes d'activité, mais aussi en termes d'impuretés résiduelles (par exemple contaminants protéiques d'extraction dans le cas des vaccins hépatite B recombinants).

La méthodologie d'évaluation de la qualité est établie par le département d'évaluation des produits biologiques de l'Agence du médicament qui fait appel à des experts virologues pour les aspects de sécurité virale, ainsi qu'à des experts ayant compétence en pharmacie galénique et analytique, en purification des protéines, en immuno-hématologie, en biotechnologie.

Pour les vaccins viraux vivants atténués ou inactivés, la sécurité virale est évaluée sur : (i) la base de la caractérisation de la souche virale utilisée (origine, description de l'isolement, de l'adaptation sur lignées cellulaires en vue de la préparation d'un lot de semence virale primaire et de travail, contrôles microbiologiques, notamment virologiques effectués sur les lignées cellulaires utilisées et sur les lots de semence virale) ; (ii) la caractérisation de la lignée cellulaire utilisée pour la production du vaccin (description de la préparation des banques cellulaires primaire et de travail, description de la

préparation d'une banque cellulaire tardive, contrôles microbiologiques, notamment virologiques, effectués sur ces banques) ; (iii) la description du procédé de fabrication et de production du vaccin (inoculation de la banque cellulaire de travail par le lot de semence virale de travail, description des étapes de purification, du mode de régénération et de décontamination des colonnes de chromatographie, contrôles microbiologiques notamment virologiques en cours de production) ; (iv) la description du traitement d'inactivation, dans le cas de vaccins viraux inactivés, et la présentation de l'étude de validation de l'inactivation virale (cinétique d'inactivation).

L'évaluation toxico-pharmaco-clinique comporte, d'une part des essais toxicologiques et pharmacologiques qui comprennent notamment une étude expérimentale d'immunogénicité chez l'animal, et d'autre part des essais cliniques incluant des études d'immunogénicité, de tolérance et d'efficacité chez l'homme.

### ***Autorisation de mise sur le marché***

Le dossier de demande d'AMM d'un vaccin expose et argumente les différents aspects de l'évaluation médico-technique selon un format type utilisé au niveau européen. Il est déposé devant la commission d'AMM.

La partie pharmaceutique comprend des informations sur les points suivants : composition, procédé de fabrication et sa validation, contrôle des matières premières, des produits intermédiaires, du produit fini (description des principes actifs, spécifications, données scientifiques), stabilité du principe actif et du produit fini qui va conditionner la durée de vie du produit.

L'ensemble des informations qui documentent la sécurité virale d'un vaccin est présenté conformément aux recommandations européennes (note explicative III/5512/93 : « *Contribution to part II of the structure of the dossier for applications for marketing authorization-viral safety studies* » – december 1994).

Les informations pharmaco-toxico-cliniques présentent les résultats des études requises chez l'animal et les résultats des études cliniques de tolérance, d'immunogénicité et d'efficacité.

Finalement, ce n'est que lorsqu'un avis favorable aura été prononcé par chacun des trois groupes d'évaluation (pharmaceutique, sécurité virale et toxico-clinique) et approuvé par la commission d'AMM que le directeur général de l'Agence du médicament prendra la décision d'octroyer l'AMM du vaccin.

Les services de pharmacovigilance de l'Agence du médicament seront alors responsables de la surveillance et du recensement des effets indésirables après commercialisation du vaccin.

## De l'évaluation au contrôle

En France, le Code de la Santé publique dispose que le ministre chargé de la Santé peut, sur proposition de l'Agence du médicament, exiger que les entreprises exploitant des médicaments immunologiques soumettent à l'Agence du médicament des échantillons de chaque lot en vrac et du produit fini avant sa commercialisation, et pendant une durée déterminée. Ainsi, les lots de vaccins destinés au marché français ou à d'autres pays de l'Union européenne, les lots destinés à l'exportation hors de l'Europe ou aux programmes mondiaux de vaccination de l'OMS, sont contrôlés quotidiennement à l'Agence du médicament, ainsi que les séries de lots successifs d'un même vaccin, afin de vérifier la régularité de la production.

Des contrôles peuvent également avoir lieu à la demande des services de l'inspection de l'Agence du médicament qui procèdent aux vérifications des conditions de production des vaccins au regard des bonnes pratiques de fabrication en vigueur, et qui vérifient par ailleurs la conformité aux spécifications des dossiers d'AMM correspondant aux produits.

L'Agence du médicament dispose de laboratoires de contrôle qui lui permettent de vérifier l'activité biologique, la qualité et l'innocuité des vaccins. Ces laboratoires procèdent, de manière indépendante, à une expertise technique du lot de vaccin et à l'examen des pièces technico-réglementaires approuvées dans le dossier d'AMM. Ainsi, il est procédé de manière systématique à l'examen du protocole analytique décrit dans le dossier d'AMM ainsi qu'à l'étude des éléments du dossier de chaque lot de vaccin transmis par l'inspection ou le fabricant. Il s'agit de s'assurer de l'adéquation entre les deux documents, de la validation des méthodes de contrôle (analytiques, biologiques, microbiologiques) et de la présence de procédures suffisamment détaillées pour être reproduites. Elles doivent refléter l'état d'avancement du progrès scientifique et être réactualisées en fonction de la pharmacopée ou norme prise en référence. Lorsque les pièces du dossier de lot et les résultats des contrôles auront été validés, un certificat de libération de lot est délivré par l'Agence du médicament, qui permettra la mise sur le marché du lot de vaccin.

### Contrôles en laboratoire

Les contrôles spécifiques pratiqués pour les vaccins (lot final) concernent l'identité, l'activité, la sécurité microbiologique et la stabilité. Les contrôles d'activité peuvent mettre en œuvre des essais *in vitro* pour les vaccins viraux vivants ou des mesures de charge antigénique pour les vaccins inactivés. Des essais d'activité *in vivo* sont également pratiqués chez l'animal pour les vaccins viraux et bactériens.

Comme tous les autres médicaments, les vaccins peuvent être soumis à des essais pharmaco-techniques caractéristiques de la forme pharmaceutique, à l'étude des excipients et des conservateurs ; la recherche d'impuretés, de substances apparentées ou de produits de dégradation, peut être également

pratiquée. Ainsi des contrôles physico-chimiques sont réalisés, soit en routine soit par sondage, et donnent des informations sur les caractéristiques particulières d'une protéine pour certains vaccins. Il peut s'agir aussi de la détermination de l'osmolarité du produit, du pH, de l'humidité résiduelle dans le cas des produits lyophilisés ou de la recherche de molécules comme le conservateur, l'agent d'inactivation, l'aluminium dans les vaccins adsorbés. Des critères de qualité sont également appliqués aux lignées cellulaires diploïdes ou continues utilisées pour la production des vaccins viraux. Différents essais sur animaux sont pratiqués visant, entre autres, à évaluer le pouvoir tumorigène et à vérifier l'absence de contamination par des agents étrangers.

Dans le cas des vaccins viraux vivants, les essais d'identité et d'activité sont très semblables ; ils sont basés sur des méthodes de titrages biologiques dans les systèmes cellulaires adéquats permettant de déterminer le titre infectieux en virus vaccinal par dose humaine par rapport à une préparation de référence. L'activité d'une préparation de référence a été préalablement établie lors d'études collaboratives européennes ou internationales initiées par le Conseil de l'Europe ou l'OMS. Dans le cas de certains vaccins viraux vivants, des épreuves de vérification de l'absence de neurovirulence (vaccin polio Sabin), de viscérotropisme (vaccin fièvre jaune) sont mises en œuvre pour qualifier des lots de semence ou des récoltes virales avant mélange pour constituer un produit vac final.

Dans le cas des vaccins viraux inactivés, il s'agit d'essais *in vitro* de mesure de la charge antigénique. La plupart du temps ce sont des méthodes immuno-enzymatiques ELISA ou RIA qui sont utilisées permettant de déterminer une teneur en antigène vaccinant par dose humaine. Des méthodes immuno-chimiques reposant sur une liaison sélective, réversible et non covalente entre des antigènes et des anticorps, sont encore utilisées. Il en est ainsi de l'immunodiffusion radiale qui, dans le cas des vaccins grippaux, permet de quantifier la teneur en antigène hémagglutinine respectivement pour les souches H1N1, H3N2 et B.

Pour de nombreux vaccins viraux et bactériens seuls des essais *in vivo* chez l'animal sont applicables. Dans certains cas l'activité du vaccin est déterminée dans un test d'immunogénicité par comparaison de la quantité nécessaire pour induire la formation d'anticorps spécifiques chez l'animal (souris, rat, cobaye) à la quantité nécessaire d'une préparation de référence pour produire le même effet. Ces essais d'activité *in vivo* comportent des critères de validité concernant le choix des animaux et leur répartition en groupes, l'analyse statistique, la détermination des limites de confiance (Pharmacopée européenne, 1997b). Pour certains vaccins bactériens, l'activité est évaluée par détermination de la dose nécessaire pour protéger l'animal contre les effets d'une dose létale de toxine (diphtérie, coqueluche, tétanos) ou d'une dose de virus dans le cas du vaccin antirabique par exemple (test NIH). Cette dose est comparée à celle d'une préparation de référence étalonnée en unités internationales et assurant la même protection.

Dans le cas des vaccins issus de la recombinaison génétique, l'unité de masse n'est pas appropriée pour quantifier l'activité biologique de produits dérivés de l'ADN recombinant : « x » milligrammes d'un même matériel n'ont pas la même activité biologique selon les fabricants.

La comparaison entre les essais *in vivo* et *in vitro* est très difficile, voire impossible (Mire-Suis et coll., 1997). L'inconvénient des méthodes dites de liaison (immuno-essais, récepteur-ligand) est de ne pas mesurer la capacité d'une protéine à induire une réponse biologique. L'inconvénient des tests sur les animaux est d'être soumis à de grandes variations et de soulever des problèmes éthiques et économiques. Certains estiment que les épreuves *in vivo* sont plus appropriées car elles prennent en compte le produit dans sa globalité : biodisponibilité, demi-vie sérique, toxicité. D'autres, au contraire, estiment qu'il est erroné de vouloir estimer l'activité biologique du produit par un test chez l'animal. Les essais biologiques *in vivo* et *in vitro* doivent permettre d'apprécier la régularité de la production ; leurs précision, répétabilité et reproductibilité doivent être évaluées et validées avant introduction en routine.

Des essais de sécurité microbiologique avec recherche et dosage des endotoxines bactériennes et des substances pyrogènes sont entrepris systématiquement. Des tests d'innocuité et de sécurité comme la recherche de toxicité aiguë ou subaiguë, des essais de mutagenèse et de tolérance locale peuvent être mis en œuvre plus sporadiquement. Très récemment le test de toxicité anormale a été supprimé pour certains vaccins de la Pharmacopée européenne pour lesquels d'autres essais d'innocuité sont mis en œuvre par ailleurs. Ce test, abondamment pratiqué dans le passé, à la fois par les fabricants et par les autorités de contrôle, est basé sur le taux de mortalité de souris et de cobayes ayant reçu une dose humaine de vaccin par voie intrapéritonéale. Cependant, l'analyse statistique des très nombreux résultats accumulés par les contrôleurs et fabricants a permis de conclure au manque de sensibilité du test réalisé en dose unique et à un rapport coût (animaux)/bénéfices (rarissimes positifs) défavorable à son maintien (Schwanig et coll., 1997).

### **Méthodes génétiques, alternatives aux méthodes de contrôle *in vivo***

Une priorité est donnée depuis quelques années au remplacement des essais sur animaux et à l'élimination des réactifs toxiques mis en œuvre dans certaines méthodes. La Commission européenne a déclaré son intention de réduire l'emploi d'animaux d'expérience, chaque fois qu'il est possible, dans les procédés analytiques de la Pharmacopée (article 23, directive 86/609/EEC). Ainsi a été introduite une obligation morale et dans certains pays, légale, d'appliquer la règle des trois R (*the 3R's*) pour « *replace, reduce, refine* ». Ces dispositions ont dynamisé le développement de programmes de recherche et de validation de méthodes et/ou modèles alternatifs aux bio-essais.

Depuis 1991, le Centre européen de validation des méthodes alternatives (ECVAM) a identifié les axes prioritaires, dont le contrôle de qualité des

vaccins incluant les tests de toxicité anormale et spécifique, les tests d'activité des anatoxines diphtérique, tétanique et de la valence coquelucheuse et surtout le test de neurovirulence pratiqué chez le singe pour qualifier chaque lot de vaccin poliomyélitique monovalent entrant dans le vaccin trivalent oral. Actuellement le test de neurovirulence effectué pour chaque type de vaccin poliomyélitique recommande l'utilisation d'une trentaine de singes par essai. Ce nombre a été déterminé de manière à assurer la validité de l'analyse statistique (WHO, 1990 ; Wood et coll., 1994). De nouveaux tests alternatifs ont été envisagés parmi lesquels on peut citer la méthode MAPREC (*Mutant analysis by PCR and restriction enzyme cleavage*) appliquée au contrôle du vaccin polio oral. Il s'agit d'un essai de biologie moléculaire permettant de quantifier les mutations qui peuvent survenir pendant le processus de production de souches de poliovirus Sabin (Chumakov et coll., 1991). Des essais collaboratifs initiés par l'OMS et la Food and drug administration (FDA), auxquels l'Agence du médicament a participé, ont montré la robustesse et la reproductibilité de la méthode rendant possible dans un avenir proche son application au contrôle des lots de vaccin polio Sabin dans un test *in vitro* standardisé.

Toujours pour le vaccin polio, une équipe japonaise a proposé l'établissement d'un nouveau modèle expérimental animal permettant d'identifier les déterminants de la neurovirulence des virus polio (Horie et coll., 1994). Le clonage du gène du récepteur des poliovirus humains a rendu possible l'infection de cellules autres que celles de primates. Des souris transgéniques ont ainsi pu être infectées avec les trois types de poliovirus et reproduire la paralysie poliomyélitique. Il s'agit donc maintenant d'établir les modalités des tests et scores de neurovirulence (Wood, 1997).

La notion de sécurité virale prend une importance scientifique et réglementaire croissante et justifie le développement de méthodologies toujours plus sensibles et spécifiques. Les applications des méthodes de biologie moléculaire seront nombreuses pour les contrôles des vaccins de l'an 2000. Citons en particulier les méthodes de PCR et *nested* PCR (Larzul, 1993) appliquées au contrôle de qualité et de sécurité des médicaments biologiques, ou encore une application de la méthode PCR appelée PERT (*PCR enhanced reverse transcription*) permettant de détecter dans un produit biologique des molécules de *reverse* transcriptase indiquant la présence résiduelle de rétrovirus (Pyra et coll., 1994). Les premiers résultats obtenus par cette dernière méthode montrent une sensibilité de détection très supérieure à celle des essais de *reverse* transcriptase conventionnels (Weissmahr et coll., 1997). Des progrès sont également survenus dans le développement des méthodes d'identification génomique des lignées cellulaires utilisées pour la production des vaccins viraux : méthode de visualisation directe de séquences répétitives d'ADN ; utilisation d'amorces spécifiques de séquences « exon » conservées entre espèces cellulaires permettant d'amplifier des allèles spécifiques intra- ou interespèces ou amplification de certains loci (Stacey et coll., 1997).

## Référentiels-Normes

Comme pour toutes les autres classes de médicaments, les normes relatives à la fabrication et aux moyens de contrôle de la qualité des médicaments biologiques étaient, encore récemment, élaborées par les pharmacopées nationales. Il y a une trentaine d'années, lors de la création des institutions européennes, un accord fut signé par les huit Etats fondateurs de la Convention européenne constituant ainsi les principes d'un projet de coopération internationale que constituait l'élaboration d'une Pharmacopée européenne (série des traités européens n° 50). L'objectif de la Pharmacopée européenne est de participer à la protection de la santé publique par le biais de l'élaboration de spécifications communes reconnues, destinées à être utilisées par les professionnels de la santé et, de façon générale, par tous ceux concernés par la qualité des médicaments et la sécurité de leur emploi (Pharmacopée européenne, 1997a). L'existence de ces spécifications facilite la libre circulation des vaccins au sein de l'espace européen et constitue une garantie de qualité pour les produits exportés hors de l'Europe. Une concertation se développe depuis quelques années avec les deux autres grandes pharmacopées mondiales que sont les pharmacopées américaine et japonaise afin de disposer de textes harmonisés dans ces trois pharmacopées (ICH : *International conference on harmonization*).

En ce qui concerne l'exportation des médicaments biologiques vers les pays en développement, il est admis que les recommandations émises par l'OMS dans des rapports techniques généraux ou spécifiques à un vaccin servant de référentiel (OMS, 1992a et b ; WHO, 1995). En effet, la plupart des pays importateurs sur les continents africain, sud-américain ou asiatique ne disposant pas de pharmacopée locale ou étant approvisionnés en vaccins par l'OMS via l'UNICEF se réfèrent aux critères de qualité proposés par l'OMS.

## Mise à disposition du public

En France, la plupart des vaccins sont disponibles dans les officines de pharmacie, à l'exception de certains dont la délivrance est réservée à l'usage hospitalier et aux centres de vaccination habilités par arrêté ministériel, notamment dans le cadre de la prévention du voyageur contre les maladies infectieuses endémiques comme la fièvre jaune ou la rage. Certains vaccins destinés à une population cible limitée, en raison d'un risque professionnel ou d'une situation épidémiologique spécifique à une région (encéphalite à tiques sévissant dans l'Est de la France et en Europe de l'Est, encéphalite japonaise pour les voyageurs exposés, leptospirose des égoutiers), font l'objet d'une autorisation temporaire d'utilisation, nominative ou de cohorte, délivrée par l'Agence du médicament.

## Europe des vaccins

Le traité de Maastricht, signé en 1992, prévoit la construction d'une Europe de la santé qui devrait assurer la même qualité et le même niveau d'accès aux soins pour tous les Européens. Ainsi, l'idée d'une nécessaire harmonisation en matière de vaccins et vaccinations s'est progressivement développée, soutenue par le principe de la libre circulation des biens et des personnes sur le territoire de l'Union.

### Cadre réglementaire pharmaceutique européen

Il est à noter que les vaccins étaient initialement exclus des dispositions européennes, puis la CEE a finalement souhaité l'adoption de normes techniques spécifiques et un certain nombre de dispositions applicables aux vaccins sont apparues : les règlements d'application générale et obligatoire dans tous les Etats membres sans transposition en loi nationale ; les directives contraignantes en termes de résultats mais pour lesquelles l'Etat membre a le choix du mode d'application ; la recommandation qui n'est pas obligatoire mais qui constitue un avis pressant ; la décision qui est contraignante dans tous ses éléments.

Ces dispositions devraient permettre :

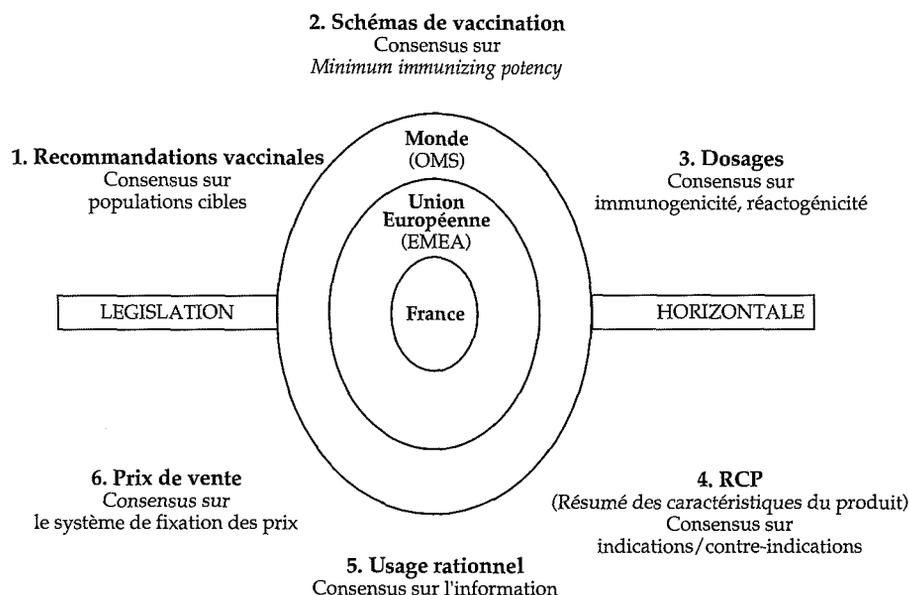
- d'améliorer le degré de protection de la santé publique ;
- la libre circulation des médicaments dans l'espace européen ;
- de tendre vers l'harmonisation de la sécurité, efficacité et sécurité des médicaments ;
- de tendre vers l'harmonisation des essais toxico-pharmaco-cliniques, des étiquetages, de l'information ;
- de tendre vers la clarification des critères de fixation des prix des médicaments au niveau européen ;
- la reconnaissance mutuelle des décisions des Etats membres.

L'inconvénient de cet arsenal juridique est d'être encore lourd à manipuler en raison de la complexité des situations des différents Etats membres ou candidats de l'Union européenne. Ainsi, les vaccins peuvent être selon les Etats classés en liste 1 ou liste 2 (sur prescription médicale ou non). De même, le plus gros problème concerne l'harmonisation des schémas de vaccination qui demeure actuellement mais qui devrait être partiellement résolu dans le futur avec les AMM européennes.

### Harmonisation européenne

Dans le domaine des vaccins divers groupes de travail et notamment celui du Comité des spécialités pharmaceutiques (CSP, Agence européenne pour l'évaluation des médicaments, Londres) travaillent dans le sens d'une harmonisation accrue. La première étape de cette démarche d'harmonisation a été

l'élaboration d'un référentiel de qualité des vaccins communs aux Européens (Pha1 1rmacopée européenne) suivie de l'identification de six points clés : recommandations vaccinales, schémas de vaccinations, dosages, résumé des caractéristiques du produit, usage rationnel, prix de vente (figure 12.2).



**Figure 12.2 : Les six points clés de l'harmonisation européenne en matière de vaccins.**

*Minimum immunizing potency* : dose minimale reconnue efficace pour une classe de produits ; OMS : Organisation mondiale de la santé ; EMA : Agence européenne pour l'évaluation des médicaments.

Il apparaît que la première étape doit concerner les recommandations, les schémas et dosages pour les vaccins dits « génériques » c'est-à-dire ceux utilisés dans les calendriers de vaccination de la plupart des états membres : DTCoq®, vaccins polio oral et injectable, rougeole-oreillons-rubéole.

Il est admis que l'harmonisation ne peut concerner des produits très spécifiques comme les vaccins hépatite B pour lesquels les procédés de fabrication sont très particuliers à chaque fabricant.

Il y a un consensus pour harmoniser la « *Minimum immunizing potency* » correspondant à une dose minimale reconnue efficace pour une classe de produits, indépendamment de la marque du produit. Il faut savoir que deux éléments fondamentaux interviennent dans cette discussion : l'immunogénicité des produits, qui peut être affectée par un schéma accéléré, et leur réactogénicité qui peut être affectée par l'achèvement du programme (effets

indésirables lors des rappels). Ainsi on reconnaît que les vaccins anti-*Haemophilus* ne peuvent pas pour l'instant faire l'objet de recommandations communes dans la mesure où les protéines porteuses qui servent à les fabriquer sont différentes et que, selon les produits, les recommandations vont de 2 à 3 doses. De même, les nouvelles combinaisons vaccinales sont peu documentées et aucune recommandation ne peut émerger pour l'instant.

Plusieurs exemples de difficultés dans l'obtention de consensus peuvent être cités :

- Cas des vaccins antitétaniques. Un consensus existe concernant la primovaccination mais non pour les rappels chez l'adulte : rappel après 5 doses, tous les 10 ans ou à 50 ans ou pas de rappel après 5 doses effectives. Il n'y a pas non plus d'accord sur la dose minimum de rappel pour l'adulte ; dans ce cas il est plutôt suggéré de se référer à la dose vaccinale réduite qui permet d'obtenir 95 % de séroconversions  $> 0,01$  UI/ml.
- Cas des vaccins antidiphtériques. Un consensus existe concernant la primovaccination mais non pour les rappels : par exemple, 2 rappels avant 6 ans avec dose réduite ( $< 30$  UI) aux Etats-Unis. Comme pour les vaccins antitétaniques, il n'y a pas non plus d'accord sur la dose minimum pour le rappel mais il est plutôt suggéré de se référer à la dose vaccinale (réduite) qui permet d'obtenir 95 % de séroconversions  $> 0,01$  UI/ml. Chez l'adulte, il n'y a pas d'accord sur le lien entre diminution des anticorps et recrudescence de la maladie, mais, néanmoins, des recommandations existent sur l'utilisation d'un dosage réduit  $< 30$  UI. En cas d'épidémies, on recommanderait l'injection d'une seule dose de rappel pour les enfants de moins de 10 ans ayant déjà reçu une dose ou ayant déjà eu un schéma primaire complet ou dont la dernière dose remonterait entre 1 à 5 ans. Sinon les enfants n'ayant jamais été vaccinés recevraient systématiquement 3 doses et ceux de plus de 10 ans recevraient une dose  $< 30$  UI.
- Cas des vaccins coquelucheux à germes entiers. Le consensus concernant la primovaccination est établi mais en cas d'épidémie européenne il n'y aurait pas de recommandation, mais plutôt incitation à mettre en place un schéma accéléré. Dans la combinaison vaccinale avec le DTCoq, on considère que la valence coqueluche doit être identique en quantité et en qualité ; l'association DT avec le vaccin coquelucheux acellulaire est peu documentée quant à la baisse d'induction d'anticorps antidiphtériques. L'association du vaccin coquelucheux avec le vaccin anti-*Haemophilus* ne semble pas induire de potentialisation ou interférence. On ne dispose encore d'aucune information dans le cas d'association avec les vaccins antiméningococcique ou antihépatite B.

### **Usage rationnel du médicament**

Une directive de 1992 relative à l'harmonisation des notices et étiquetages permet de trouver pour les vaccins les mêmes informations : composition quantitative et qualitative, mode d'administration, péremption et excipients dans la notice.

### **Transparence des mécanismes de fixation des prix et conditions de remboursement**

Il est apparu que de nombreuses différences non conformes aux traités de la CEE concernant les mécanismes de fixation des prix des médicaments existaient dans les Etats membres.

Une directive a été adoptée qui impose la publication des critères de fixation des prix, la motivation des décisions, le respect des délais de fixation des prix pour les industriels et la mise en place d'une banque de données indiquant les prix usine et prix de vente ainsi que le coût de la posologie journalière du traitement. Son objectif est de rendre transparentes les mesures économiques pour les dépenses de santé. Malgré cela, de nombreux problèmes demeurent :

- L'observation de la directive ne signifie pas forcément l'harmonisation des systèmes de réglementation de prix.
- L'harmonisation des systèmes de réglementation de prix ne signifie pas forcément l'harmonisation des prix.
- L'harmonisation des prix de vente ne signifie pas forcément l'harmonisation des taux de remboursement dans la mesure où les systèmes de soins et de couvertures sociales ne sont pas homogènes en Europe.

### **Législation horizontale**

En dehors de réglementations spécifiques aux vaccins, il existe des législations dites « horizontales » du fait qu'elles couvrent un thème commun à plusieurs secteurs. C'est le cas des dispositions législatives sur l'utilisation et la dissémination des Organismes génétiquement modifiés (OGM), sur la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition aux agents biologiques, sur la préservation des espèces biologiques, qui intéressent à la fois la santé, la sécurité sur les lieux de travail et la protection de l'environnement, ainsi que sur la protection des inventions biotechnologiques qui limitent la brevetabilité de la matière vivante. Elles doivent désormais être prises en compte dans le développement de vaccins constitués par le pathogène recombiné génétiquement ou par des vecteurs viraux, en particulier lorsqu'il s'agit de vaccins oraux facilitant la dissémination.

### **Prospective - « Task Force on Vaccines and Viral Diseases »**

Il y a quelques années, à l'initiative de trois commissaires européens, une réflexion sur l'industrie et la recherche en Europe s'est mise en place. Le thème d'une « task force » sur les vaccins est apparu dont les buts sont les suivants : mobiliser et coordonner la recherche sur les vaccins en Europe, apporter une réponse rapide et efficace aux industriels et aux problèmes de société, renforcer la politique de l'Union européenne dans les domaines de la coopération entre le secteur public et le secteur privé, optimiser les ressources des programmes de coopération, et enfin accentuer la participation des Etats

membres dans les programmes de surveillance épidémiologique aux niveaux nationaux et européen.

### **Développement des vaccins dans l'Union Européenne**

L'intérêt de ce thème est évident en matière de santé publique : sur les 50 millions de morts par an dans le monde, 17 millions sont dues aux maladies infectieuses. La vaccination peut prévenir la mort de 3 millions d'enfants par effet direct (protection des individus, baisse du nombre d'individus infectés), mais aussi par effet indirect en limitant la circulation des pathogènes. Les priorités qui se dessinent sont : la lutte contre la rougeole, les infections respiratoires aiguës, le Sida, l'hépatite C, la tuberculose et bien sûr les maladies parasitaires.

L'impact économique de la vaccination est considérable puisque les dépenses de santé de l'Europe de l'Ouest évaluées à 632 billions d'ECU en 1990 sont estimées à 1 340 billions d'ECU en 2025.

Les vaccins prophylactiques permettent d'éviter les maladies et de diminuer les dépenses de santé. L'éradication de la polio devrait permettre l'économie de 1/2 milliard de dollars en l'an 2000 et de 3 milliards de dollars en 2015. Une dépense de 1 dollar pour le vaccin triple rougeole-oreillons-rubéole permet l'économie de 21 dollars et une dépense de 1 dollar pour le vaccin DTCoq permet l'économie de 29 dollars. Il a été estimé que la vaccination faisait tomber de 154 à 21 millions d'ECU le coût du traitement de 20 000 patients atteints d'hépatite B pendant 20 ans.

Les économies générées par la vaccination tiennent compte des heures de travail non perdues et/ou des journées d'hospitalisation épargnées. De ce point de vue et en raison du vieillissement des populations européennes, il semble que les personnes âgées de plus de 65 ans puissent faire l'objet de campagnes de vaccination spécifiques comme par exemple la grippe. Les vaccins thérapeutiques, notamment dans la prévention des cancers, s'avèrent potentiellement générateurs d'économies.

### **Marché européen du vaccin**

Les firmes commercialisant des vaccins ont de plus en plus tendance à se regrouper et la production européenne couvre 65 % des besoins des pays en développement, 90 % des besoins en Europe et 33 % du marché mondial. L'accès au marché des vaccins nouveaux est régulé par l'avancée des recherches dans le secteur privé et public, les autorisations des autorités nationales de santé, le prix et la disponibilité des produits. En fait, les principaux clients des firmes pharmaceutiques sont les systèmes de santé publiques liés aux politiques gouvernementales qui *in fine* auront une influence directe sur la taille du marché du produit. On peut signaler que les prix des vaccins sont plus faibles en Europe qu'aux États-Unis ou au Japon. Le marché mondial des

vaccins représente environ 10 % de celui des produits pharmaceutiques en général et subit une croissance de 12 % par an en Europe alors qu'elle est d'environ 7 % par an dans le monde.

En termes de stratégies, il faut environ 250 millions de dollars et 8 à 12 ans de recherche pour développer un nouveau vaccin. A titre de comparaison, le NIH (*National Institute of Health*, Etats Unis) dépense annuellement 300 millions de dollars pour la recherche. En Europe, du fait de la fragmentation des financements, le montant global des dépenses pour la recherche est difficilement évaluable.

### Priorités scientifiques et technologiques en Europe

Le dernier point majeur qui ressort de cette réflexion européenne est la nécessité d'établir des priorités de santé publique, et également de mettre en commun les ressources méthodologiques, scientifiques et techniques dédiées à la recherche sur les vaccins et à l'épidémiologie infectieuse.

Le consensus qui se dessine au niveau européen en termes de santé publique concerne les priorités suivantes :

- Les vaccins contre les maladies infectieuses d'impact socio-économique majeur pour lesquels il faut prévoir une amélioration par la technologie de l'ADN recombinant ou une réduction de doses : grippe, rougeole, diphtérie, tétanos, poliomyélite, parasitoses, infections par le VIH, hépatites C, dengue, infections par le virus respiratoire syncytial, papillome, tuberculose, shigelloses, infections à *Escherichia coli* entéro-toxigéniques, infections à *Helicobacter pylori*.
- Les vaccins contre les cancers et maladies chroniques avec pour but d'obtenir soit la régression des tumeurs, soit de mettre en place une immunothérapie qui induise une réponse de la tumeur puis sa suppression, soit sa prévention par la thérapie génique.

Les priorités scientifiques techniques et organisationnelles portent sur :

- La recherche sur les mécanismes moléculaires et cellulaires de la réponse immunitaire.
- La création d'un « *European mucosal immunology network* » portant sur les animaux transgéniques et la vaccinologie vétérinaire.
- Les innovations technologiques radicales (vaccins ADN, vecteurs, adjuvants, vaccins à base de plantes) ou progressives (combinaisons vaccinales, expérimentation animale avec de nouveaux modèles, sécurité des vaccins et recherche des agents étrangers dans les vaccins).
- Les essais cliniques concernant les maladies à l'impact socio-économique élevé.
- La dynamisation des réseaux d'échanges entre académies et industries.

**En conclusion**, les progrès de la vaccinologie ont été extrêmement rapides ces dernières années et le potentiel des vaccins pour l'amélioration des soins de

santé à l'échelle mondiale est immense. Parallèlement aux progrès technologiques et à la mondialisation des programmes et des échanges, la mise au point de procédés capables de garantir la qualité des vaccins et des produits biologiques en général a été entreprise. Dans ce domaine, les applications et adaptations des méthodes de biologie moléculaire constituent un progrès considérable.

L'harmonisation européenne des politiques et des efforts scientifiques et techniques en matière de vaccins est conditionnée par les priorités nationales ou régionales, les différences organisationnelles, sociologiques, épidémiologiques. Néanmoins, on estime qu'aucun obstacle définitif ne devrait exister dans la mise en place d'une politique vaccinale commune.

## BIBLIOGRAPHIE

ANONYMOUS. European Commission COST/STD initiative. *Vaccine* 1996, **14** : 582-731

CHUMAKOV KM, POWERS LB, NOONAN KE, RONISON IB, LEVENBOOK IS. Correlation between amount of virus with altered nucleotide sequence and the monkey test for acceptability of oral poliovirus vaccine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, **88** : 199-203

HORIE H, KOIKE S, KURATA T, SATO-YOSHIDA Y, ISE I et coll. Transgenic mice carrying the human poliovirus receptor : new animal model for study of poliovirus neurovirulence. *J Virol* 1994, **68** : 681-688

LARZUL D. La PCR. Un procédé de répllication *in vitro*. Collection Génie Génétique, Technique & Documentation, Lavoisier, Paris, 1993

MIRE-SUIS AR, GERRARD T, GAINES-DAS R, PADILLA A, THORPE R. Biological assays : their role in the development and quality control of recombinant biological products. *Biologicals* 1997, **24** : 351-362

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Bonnes pratiques de fabrication des produits biologiques. Annexe 1, série de rapports techniques, n° 822, 1992a

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Directives à l'intention des autorités nationales sur l'assurance de la qualité des produits biologiques. Annexe 2, série de rapports techniques, n° 822, 1992b

PHARMACOPEE EUROPEENNE, 3<sup>e</sup> édition, 1997a

PHARMACOPEE EUROPEENNE. Textes généraux et analyse statistique des résultats des dosages et essais biologiques. In : Pharmacopée Européenne 3<sup>e</sup> édition, 1997b : 293-348

PLOTKIN SA, MORTIMER EA. Vaccines, second edition. WB Saunders Company Ed. Philadelphia, 1994

PYRA H, BONI J, SCHUPBACH J. Ultrasensitive retrovirus detection by a reverse transcriptase assay based on product enhancement. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, **91** : 1544-1548

SCHWANIG M, NAGEL M, DUCHOW K, KRAMER B. Elimination of abnormal toxicity test for sera and certain vaccines in the European Pharmacopeia. *Vaccine* 1997, **15** : 1047-1048

STACEY GN, HOELTZ H, STEPHENSON JR, DOYLE A. Authentication of animal cell cultures by direct visualization of repetitive DNA, aldolase gene PCR and isoenzyme analysis. *Biologicals* 1997, **25** : 75-85

WEISSMAHR RN, SCHUPBACH J, BONI J. Reverse transcriptase activity in chicken embryo fibroblast culture supernatants is associated with particles containing endogenous avian retrovirus EAV-0 RNA. *J Virol* 1997, **71** : 3005-3012

WHO (World Health Organization). Manual for the virological investigation of poliomyelitis, WHO/EPI/CDS/POLIO/90.1. Expanded Programme on Immunization and Division of Communicable Diseases, WHO, Geneva, 1990

WHO (World Health Organization). Manual of laboratory methods for testing the potency of final vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization, WHO/BLG/95.1. 1995

WOOD DJ. New approaches to oral poliovirus vaccine neurovirulence tests : transgenic mice susceptible to poliovirus and molecular analysis of poliovirus. *Vaccine* 1997, **15** : 341-345

WOOD DL, HEATH AB, MARSDEN SA. A collaborative study of the histopathological evaluation of the WHO neurovirulence test for poliovirus vaccines. *Biologicals* 1994, **22** : 45-51