

Numéro unique de document : CP042016023  
Date document : 26 Juillet 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°8**

CP04 Séance du 10 juin 2016

Nom des participants		Statut	Présent	Absent /excusé
Pascal	ANGER	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jacqueline	DAYAN	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sandy	DOUTHE DARMON	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jacques	LECHENET	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Christopher	PAYAN	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jean-Marc	PERSON	Membre	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Thierry	PRONCE	Partie-prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Benoit	RAMOND	Partie-prenante	<input type="checkbox"/>	<input checked="" 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"/>
Guillaume	BELIARD	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Nom des participants		Statut	Présent	Absent /excusé
Agnès	BERTOCCHI	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input 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 type="checkbox"/>	<input checked="" 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	DEIGNIVILLE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Marie-Thérèse	DUFFOUR	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Muriel	DURAN CORDOBES	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dominique	GARCIA	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muriel	GIRARD	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gérard	HUYGHE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Stéphanie	JAMBON	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Jehanara	KORIMBOCUS	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jérôme	LAPORTE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Valérie	LIEVRE	Représentant de l'Ansm	<input type="checkbox"/>	<input checked="" 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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jean-Claude	OURLIN	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Béatrice	PANTERNE	Représentant de l'Ansm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input 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 10 juin 2016 de 10h00 -17h30

Ordre du Jour	
10h00	Début de la séance
<b>1</b>	<b>Introduction</b>
<b>2</b>	<b>Programme de travail : retour des groupes de travail</b>
2.1	Goupe CTP (9-11 février 2016)
2.2	Groupe 1 (20-22 janvier 2016) – Tableau germes additionnels antiseptique
2.3	Groupe 15V (26-28 janvier / 26 avril / 31 mai - 2 juin 2016)
2.4	Groupe BET (20-21 avril 2016)
2.5	Groupe 6B (6-7 avril 2016)
2.6	Groupe MAB (22-23 mars 2016)
2.7	Groupe 6 (10-11 mars 2016)
2.8	Groupe P4 Bio (1-2 mars 2016)
2.9	Groupe 15 (24-25 février 2016)
2.10	Groupe HCP (COM 154 mars 2016)
<b>3</b>	<b>Dossiers à examiner en séance / Groupe15 Pha 28.2</b>
	Gestion des conflits d'intérêts
<b>3.1</b>	<b>Nouveau chapitre</b> <b>Remplacement de méthode(s) <i>in vivo</i> de contrôle de la qualité des vaccins par une ou plusieurs méthodes <i>in vitro</i> (5.2.14)</b> PA/PH/Exp. 15/T (15) 16 ANP
	- Pause Déjeuner -
<b>3.2</b>	<b>Révision</b> <b>Essai des agents étrangers dans les vaccins viraux pour usage humain (2.6.16)</b> PA/PH/Exp. 15/T (15) 2 ANP
<b>3.3</b>	<b>Demande de révision pour COM 155 ou 156</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Vaccin grippal inactivé à virion fragmenté (0158)</b> - Demande de clarification de la monographie 0158 pour précision de la comptabilisation des passages des semences
<b>3.3.2</b>	<b>Vaccins coquelucheux acellulaires (1595,1356) et vaccins combinés (1931, 1932, 1933, 1934,2764, 2065, 2067,2329)</b>  <b>Titrage de l'activité du vaccin coquelucheux acellulaire (2.7.16)</b>  - Rajouter un nouveau mode d'exploitation des résultats (GMU / Geometric Mean Unitage) et mise en conformité au TRS 979 annexe 4
<b>4</b>	<b>Dossiers à examiner en séance / Groupe 6B Pha 28.2</b>
	<b>Plasma humain (Mélange de) traité pour inactivation (1646)</b> PA/PH/Exp. 6B/T (16) 1 ANP
<b>5</b>	<b>Dossiers à examiner en séance / Groupe P4Bio Pha 28.2</b>
<b>5.1</b>	<b>Nouveaux chapitres</b> <b>Pegfilgrastim (2889)</b> PA/PH/Exp. P4Bio/T (15) 11 ANP
<b>5.2</b>	<b>Étanercept (2895)</b> PA/PH/Exp. P4Bio/T (15) 10 ANP
<b>17h30</b>	<b>Fin de la séance</b>

La séance est ouverte à 10H00.

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

Des modifications des ordres de passage des sujets à l'ordre du jour sont actées.

## 2– Programme de travail

### 2.1 Groupe CTP (9-11 février 2016)

**Contrôle microbiologique des produits cellulaires (2.6.27).** Deux enquêtes publiques ont été nécessaires pour aboutir à un consensus et ce chapitre devrait être adopté lors de la prochaine Commission Européenne de Pharmacopée.

Le titre français ci-dessus, a pu être retenu, malgré un titre anglais légèrement différent « Microbiological examination of cell-base preparation ».

Ce chapitre 2.6.27 dans sa nouvelle version est attendu par les opérateurs car il introduit des options d'incubation qui permettront de mieux couvrir le contrôle microbiologique de ces produits selon leur nature et leur préparation en prenant en compte l'origine des contaminants potentiels.

L'articulation 2.6.27 / 2.6.1 est un point soulevé plusieurs fois au niveau des commentaires français et a fait l'objet d'un commentaire ultime avant le passage en Commission Européenne de Pharmacopée. Pour la France, le 2.6.27 n'est pas uniquement applicable en remplacement du 2.6.1 mais peut également permettre de gagner du temps en l'utilisant de suite pour certains types de produits cellulaires.

**Enquête sur le contrôle microbiologique des tissus.** A la demande de l'EDQM, une enquête sera envoyée à toutes les banques de tissus françaises. Cette enquête permettra un état des lieux des contrôles pratiqués sur les différents types de tissus avant l'élaboration du chapitre par le groupe CTP (tissus préparés, étapes de décontamination, nature des échantillons contrôlés, taille, volume, lot, méthodes utilisées, contaminants éventuellement retrouvés, autres contrôles (mycoplasmes, mycobactéries, ...)

Pour rappel l'ANSM a élaboré et publié en janvier 2014 à la Pharmacopée française un chapitre « contrôle microbiologique des greffons cornéens ».

### 2.2 Groupe 1 / Microbiologie (20-22 janvier 2016)

#### Révisions :

#### **Méthodes de préparation des produits stériles (5.1.1)**

Ce chapitre a été mis en enquête publique en octobre 2014 (Pharmeuropa 26.4) et était à l'ordre du jour du CFP Bio du 19 janvier 2015 (compte rendu disponible sur internet). Une harmonisation de ce chapitre avec le chapitre 5.1.2 sur les indicateurs biologiques a été nécessaire. Cette monographie passera pour adoption à la commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016.

#### **Méthodes alternatives pour le contrôle de la qualité microbiologique (5.1.6)**

Ce chapitre a fait l'objet d'une deuxième mise en enquête publique en janvier 2015 (Pharmeuropa 27.1) et était à l'ordre du jour du CFP Bio du 9 avril 2015 (compte rendu disponible sur internet).

Les modifications apportées concernent les points suivants :

- Description plus détaillée des techniques génotypiques.
- Suppression de méthodes anciennes : microcalorimétrie, phages
- Rajout : fluorescence naturelle de microcolonies

- Statistique : « méthode au moins équivalente » ne veut rien dire selon les statisticiens. La proposition serait de remplacer par « méthode permettant de juger sans équivoque que les normes des monographies seraient satisfaites si la méthode officielle était appliquée. »

- Il a été décidé de retirer les exemples de « validation de méthode » et de les rendre accessibles sur le site de l'EDQM (knowledge data base par exemple). Le but est d'éviter que ces exemples soient pris comme une obligation de les appliquer stricto sensu.

Cette monographie passera pour adoption à la commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016.

### **Indicateurs biologiques et préparations microbiennes apparentées utilisées pour la fabrication de produits stériles (5.1.2)**

Ce chapitre a fait l'objet d'une deuxième mise en enquête publique en juillet 2015 (Pharmeuropa 27.3) et était à l'ordre du jour du CFP Bio du 6 octobre 2015 (compte rendu disponible sur internet).

Le titre a été modifié comme ci-dessus

Les endotoxines ne sont ni des préparations microbiologiques, ni des indicateurs biologiques. Un nouveau chapitre sera élaboré pour ces indicateurs de dépyrogénéisation.

Il a été également ajouté « préparations microbiennes apparentées » en rapport avec la filtration sur membrane.

Cette monographie passera pour adoption à la commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016.

### **Nouveau chapitre :**

#### **Détermination de l'activité bactéricide, fongicide ou levuricide des médicaments à visée antiseptique (5.1.11)**

Ce chapitre a été mis en enquête publique en avril 2015 (Pharmeuropa 27.2) et était à l'ordre du jour du CFP Bio du 19 juin 2015 (compte rendu disponible sur internet). Cette monographie passera pour adoption à la commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016.

Un problème bloquant concerne le titre. En effet, la précision « à visée antiseptique » n'est pas mentionnée au niveau du titre, ce qui peut entraîner une confusion pour les antibiotiques et les antifongiques qui sont également concernés par des mesures de bactéricidie et fongicide.

Il est à noter toutefois que dans le texte, cette précision est bien mentionnée.

**Une demande de révision** sera faite dès adoption de ce chapitre à la Commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016 afin d'intégrer un **tableau additionnel** suggérant des souches bactériennes ou fongiques à tester selon l'indication du produit et l'activité revendiquée (bactéricide, fongicide, levuricide) (voir tableau joint en annexe).

Ce tableau a pour but de proposer des germes à tester selon la voie d'administration et le type d'application clinique. Sont précisés des germes plus adaptés que ceux standards ainsi que les conditions de culture. L'ajout de certains milieux est également nécessaire avec des précisions sur leur composition car non encore décrits à la Pharmacopée Européenne (Ph Eur) à ce jour.

L'attention est attirée sur une problématique de définitions dans d'autres textes européens, notamment des textes concernant les biocides. Ce point devra être surveillé car pouvant porter à confusion.

Il s'agirait de :

- Antiseptique / décontamination microbienne de la peau lésée
- Désinfectant / décontamination microbienne de la peau saine

Alors que pour le champ « médicament », seul l'utilisation du terme antiseptique est de rigueur. Le terme « Désinfectant » concerne les surfaces inertes.

### **Autre :**

**Chapitre 5.1.4 « Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles (harmonisation internationale) »** : ce chapitre informe sur les microorganismes spécifiés (de référence à tester) mais il est également nécessaire de rechercher les

microorganismes indésirables qui sont « produits » dépendants, qui peuvent varier selon la voie d'administration, selon l'état du patient. Un chapitre récent vient de paraître à l'USP.

Actuellement un sujet concerne le cas des films orodispersibles pour lesquels on veut rajouter *E coli*.

La proposition éventuelle d'un nouveau chapitre « Microorganismes indésirables pour les produits non stériles » pourrait être intéressante à faire à la Pharmacopée Européenne.

## 2.3 Groupe 15V /Vaccins à usage vétérinaire (26-28 janvier / 26 avril / 31 mai-2 juin 2016)

L'essentiel des discussions a porté sur le travail en cours qui concerne la recherche des agents étrangers dans les médicaments immunologiques vétérinaires. Les buts de ce travail sont de regrouper les exigences concernant la recherche des agents étrangers dans une seule monographie, de moderniser la recherche de ces agents en recommandant des méthodes alternatives et de supprimer les méthodes in vivo dans les cas justifiés. Pour cela la monographie « Substances d'origine animale utilisées pour la préparation de médicaments immunologiques à usage vétérinaire » (5.2.5) va être révisée et son champ d'application va être étendu de façon à prendre en compte l'analyse de risque dans toutes les étapes de la production des vaccins. Il est prévu également de supprimer les monographies « Vaccins viraux aviaires : recherche des agents étrangers dans les lots de semence » (2.6.24) et « Vaccins viraux aviaires : recherche des agents étrangers dans les lots de produit final » (2.6.25).

Les guides techniques relatifs à l'élaboration et à l'utilisation des monographies des médicaments immunologiques vétérinaires sont actuellement en révision afin de les adapter aux exigences figurant dans les monographies actuelles.

Une conférence internationale de l'EDQM (mai 2016) sur le thème des vaccins destinés aux poissons, avec une participation de certains membres du groupe de travail 15V de l'EDQM a conduit à la révision mineure de 4 monographies et a permis de prendre connaissance avec les particularités du sujet des vaccins destinés aux poissons.

Lors du comité, il est rappelé que le groupe 15V ne compte pas dans ses participants de personne de l'industrie. Dans le cadre de la suppression de la monographie « Vaccins viraux aviaires : recherche des agents étrangers dans les lots de semence » (2.6.24), un participant s'interroge sur les conséquences de la disparition de méthodes compendiales.

## 2.4 Groupe BET (20-21 avril 2016)

### Test d'activation des monocytes (MAT) (2.6.30)

- La variabilité inter-donneur a été reconnue au niveau de la réponse vis-à-vis des substances pyrogénique de nature non endotoxinique (NEP). Selon le groupe BET, cette variabilité est observée avec les produits bien plus qu'avec des NEP purifiés.

- La disponibilité de donneurs individuels commercialement (actuellement possibilité de sang cryoconservés) permet :

→ d'étudier l'effet donneur lors de la validation produit spécifique

→ de se positionner sur le choix :

- du substrat cellulaire (Dons individuel, Pool, Lignée)

- de la méthode (A, B, C) en fonction du type de contaminants potentiellement présents dans le produit (endotoxiques ou NEP), des interférences du produit et du substrat cellulaire choisi.

- de la spécification (ex méthode C: valeur de ratio diminuée pour pool de donneur par rapport à des dons individuels).

- Nombre de réplicats :

→ Maintien préférentiel de 4 réplicats mais 3 possibles si revalidation de la méthode

→ « Outliers » : possibilité de supprimer un point pour une dilution du moment que cela est défini dans une procédure du laboratoire. Toutefois, il a été décidé de ne pas détailler ce point dans le chapitre 2.6.30.

- Maintien de l'avertissement concernant l'utilisation des lignées continues (issues d'un clone unique). Tous les substrats cellulaires sont représentés dans le chapitre, à l'utilisateur de définir son essai en fonction de la validation produit spécifique. Dans le cas de la validation produit spécifique, l'absence d'effet donneur constaté permet l'utilisation de pool ou de lignée continue.

- Possibilité d'utilisation de lots de donneurs congelés validés pour un produit spécifique

**Autre :**

- Etude collaborative concernant des références de NEP :
  - Pam3CSK4 du NIBSC (activateur TLR1/2 (LPS active TLR4))
  - Flagelline recombinante du PEI (activateur TLR 3)

## 2.5 Groupe 6B (6-7 avril 2016)

- **Demandes de révisions :**

### **Immunoglobuline humaine anti-D pour administration par voie intraveineuse (1527)**

La demande concerne la clarification de l'essai des hémagglutinines (2.6.20, méthode B) pour une concentration en IgG en dessous de 25g/l.

### **Colle – fibrine (0903)**

Le Dosage du FXIII est à effectuer dès lors qu'il est déclaré comme substance active (et non plus uniquement pour une teneur >10UI/mL).

Il sera maintenu également comme test d'impureté.

La guideline de l'OCABR a déjà été révisée dans ce sens en mars 2016.

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

### **Facteur VIII de coagulation humain (ADNr) » (1643)**

Un document de stratégie a été élaboré, le but est d'être plus proche des pratiques actuelles des fabricants et des nouveaux produits existants sur le marché.

### **Facteur IX de coagulation humain (ADNr), (solution concentrée de) (2522)**

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

Les références BRP pour la recherche de l'ARN des virus de l'hépatite A et de l'hépatite E ont été ajoutées, cela fait suite aux études BSP 101 et 127.

Une **BSP** (Biological Standardisation Programme) est mise en place afin d'établir un test permettant de détecter une activité pro coagulante dans les solutions d'immunoglobulines humaines. Une enquête est en cours pour préciser les méthodes opératoires utilisées.

## 2.6 Groupe MAB / Anticorps monoclonaux (22-23 mars 2016)

Dans le cadre d'une phase pilote, le groupe travaille à l'élaboration de la première monographie spécifique concernant un anticorps monoclonal, **l'infliximab**. Il s'agit du premier anticorps monoclonal pour lequel des biosimilaires ont été approuvés. Une phase de tests qui vient de se terminer a permis de préciser les méthodes qui pourraient figurer dans le projet de monographie. Une mise en enquête publique de ce chapitre est prévue en fin d'année.

Deux autres projets sont également en cours: une monographie générale pour des méthodes robustes couvrant l'ensemble des anticorps monoclonaux ainsi qu'une monographie pour les tests d'activité des anti- TNFalpha.

## 2.7 Groupe 6/ Produits biologiques (10 -11 mars 2016)

### 3 nouvelles monographies :

**Octreotide (2414):** Evaluation par le rapporteur de 2 méthodes HPLC ainsi que de la technique de l'USP pour les protéines apparentées. Proposition d'introduction de la RMN comme technique d'identification et suppression de la technique IR.

La monographie est prête pour la publication en enquête publique.

**Terlipressine (2646) :** Cette monographie a été mise en enquête publique en avril 2013 (Pharmeuropa 25.2) et a suscité beaucoup de discussions techniques. Suite au rapport du laboratoire de l'EDQM, des modifications concernant les critères de conformité du système, essentiellement les résolutions entre les pics ont été réalisées. La stratégie pour la SCR (substance chimique de référence de l'EDQM) a été clarifiée : choix des impuretés mises dans la SCR.

La dernière version a été entièrement vérifiée et l'EDQM dispose du matériel nécessaire. Cette monographie passera pour adoption à la commission Européenne de Pharmacopée du 21 et 22 juin 2016.

**Filgrastim (2848) :** Elaboration d'une monographie de produits finis Filgrastim. Cette monographie sert de pilote pour les monographies de produits finis. Les laboratoires de l'EDQM et du NIBSC ont testé des échantillons de 3 laboratoires différents suivant les différentes techniques proposées (RP-HPLC, SE-HPLC, IE-HPLC et IEF, test de prolifération cellulaire). La future monographie devra inclure des spécifications pour chaque test.

### Monographies en révision :

**Insuline Glargine (2571) :** Des problèmes ont été signalés avec la technique actuelle de SE-HPLC pour l'étude des impuretés de Masse Moléculaire supérieure à l'insuline Glargine. Deux méthodes alternatives ont été testées, la technique retenue est celle de la monographie insuline humaine. La monographie révisée sera mise en enquête publique en juillet 2016 (Pharmeuropa 28.3).

**Protamine sulfate(0569) :** Discussion autour d'une étude collaborative dans le but d'introduire un test d'identité et de pureté par HPLC.

**Somatropine (0950, 0951, 0952, 2370) :** révision pour une harmonisation entre les monographies. Pour les variants chargés, l'IE-HPLC a été proposée car elle est plus couramment utilisée dans les laboratoires de contrôle. La nouvelle méthode RP-HPLC (plus résolutive) pour la technique de substances apparentées de la monographie somatropine solution injectable doit être testée pour une éventuelle application aux autres formes de somatropine.

Une investigation sera faite parmi les fabricants et les autorités nationales.

**Substances extraites de l'urine : Gonadotrophine chorionique (0498), Urokinase (0695), Urofollitropine (0958) :** un sous-groupe a été formé pour examiner les différences et revoir les exigences de ces produits en ce qui concerne la sécurité virale. Les monographies révisées (à la demande du BWP) seront mises en enquête publique en octobre 2016 (Pharmeuropa 28.4).

**Hyaluronate de sodium (1472):** Les résultats de l'enquête faite auprès des fabricants concernant la détermination de la masse moléculaire et sa polydispersité, ont été présentés. Il a été décidé de tester les techniques de chromatographie en perméation de gel suivie d'un détecteur à diffusion de lumière. Les OMCL équipés seront sollicités pour participer à l'étude.

Pour rappel, Hyaluronate de sodium et Chondroïtine sulfate ont été déclarés molécules non biologiques par le BWP.

**Aprotinine (0579) :** Une méthode de détection de nouvelles impuretés est introduite à la demande du fabricant. Celui-ci a été contacté pour fournir des impuretés pour l'établissement d'une SCR et des échantillons d'Aprotinine en vue d'évaluer cette technique.



## 2.8 Groupe P4Bio (1-2 mars 2016)

**Darbepoietine alpha (3009):** (EPO hyperglycosylée). Des discussions sont en cours sur le choix des méthodes à inclure dans la monographie. Les techniques proposées seront mises en œuvre par les OMCL, les méthodes de la monographie EPO seront également testées en parallèle comme alternative. Le fabricant fournira les échantillons et références nécessaires aux contrôles.

**Pegfilgratim (2889):** Cette monographie a été mise en enquête publique en avril 2016 (Pharmeuropa 28.2). Le fabricant ne souhaite pas fournir la SCR. Une réflexion doit être menée sur les approches possibles (s'adresser au(x) fabricant(s) de biosimilaire(s) existant(s) par exemple).

**Etanercept (2895):** Cette monographie a été mise en enquête publique en avril 2016 (Pharmeuropa 28.2). Des divergences entre les laboratoires ont été observées pour le test de l'acide sialique. Des analyses supplémentaires sont en cours.

**Tériparatide (2829):** La SCR pour la conformité du système est validée.

Une discussion est en cours sur la pérennité du groupe P4Bio. Les conclusions sont positives et la réflexion se prolongera lors de la commission Européenne de Pharmacopée de novembre 2016 à laquelle des projets futurs pourraient être présentés.

## 2.9 Groupe 15 / Vaccins pour usage humain (24-25 février 2016)

### Vaccin Polio oral (0215)

- Harmonisation avec le SRT OMS 2012 :

⇒ Suppression du test de neurovirulence sur singes et remplacement par le test sur souris transgéniques pour les lots de semence primaire.

⇒ Introduction du test MAPREC (Mutant Analysis by Polymerase Chain Reaction and Restriction enzyme cleavage) pour les types 2 et 3

- Demande par le Royaume Uni de maintenir ce test dans le cas d'une reprise de production sans utilisation de souches fournies par l'OMS.

- La phrase telle que fournie laisse la flexibilité au niveau de la réalisation du test et est acceptée par le groupe mais avec toujours des réserves des représentants anglais.

- Le texte a été adopté en Commission Européenne de Pharmacopée de mars 2016

### Test de neurovirulence du vaccin Polio oral (2.6.19)

Désormais, la version révisée de la monographie Vaccin Polio oral (0215) mentionne ce test.

La suppression de ce chapitre 2.6.19 sera donc réalisée concomitamment à l'adoption de la monographie du vaccin. La mise en application sera en juillet 2017.

### Méthodes utilisées pour la détection et l'évaluation de l'ADN résiduel (2.6.35)

- Modifications à apporter dans l'organisation du texte

- Suppression de la méthode d'hybridation

Une nouvelle version intégrant les modifications discutées sera présentée lors de la prochaine réunion du groupe 15 fin septembre.

### Vaccin Haemophilus de type b conjugué (1219) + monographies des vaccins combinés (2065, 2066, 2067 et 1932)

Proposition de supprimer la nécessité de réaliser des essais chez l'animal en cas de changement dans le procédé de fabrication pour s'assurer que le vaccin est capable d'induire une réponse immunitaire des lymphocytes B, dépendante des lymphocytes T. Acceptation par le groupe.

Mise en enquête publique en juillet 2016 (Pharmeuropa 28.3).

### **Substrats cellulaires pour la production des vaccins à usage humain (5.2.3)**

Harmonisation du texte avec le chapitre général « Essais pour les agents étrangers dans les vaccins viraux pour usage humain (2.6.16) ».

Attente des commentaires suite à la mise en enquête publique (Pharmeuropa 28.2) du chapitre 2.6.16.

Développer l'approche analyse de risques.

Nouvelle soumission du texte modifié à l'ordre du jour de la prochaine réunion du groupe.

### **Test de toxicité anormale de toutes les monographies (2.6.9)**

Demande globale de révision de toutes les monographies dans lesquelles le test est cité mais non décrit.

Demande spécifique pour les monographies dans lesquelles le test est décrit.

## **2.10 Groupe HCP (COM 154 mars 2016)**

### **Essai des protéines issues de la cellule hôte (2.6.34)**

Ce nouveau chapitre de la Ph Eur a été mis en enquête publique en avril 2015 (Pharmeuropa 27.2) et était à l'ordre du jour du CFP Bio du 19 juin 2015 (compte rendu disponible sur internet).

Le présent chapitre général fournit des indications pour le développement et la validation de l'essai des protéines issues de la cellule hôte (HCP) utilisé lors du contrôle des produits obtenus par la méthode dite de l'ADN recombinant. Les très nombreux commentaires ont été suivis pour la plupart et le texte a été adopté en Commission Européenne de Pharmacopée de mars 2016.

## **3 – Dossiers à examiner en séance/ Groupe 15 Pha 28.2**

### **3.1 Essai des agents étrangers dans les vaccins viraux pour usage humain (2.6.16)**

PA/PH/Exp. 15/T (15) 2 ANP

La totalité des commentaires reçus seront transmis à la Pharmacopée Européenne.

Le chapitre « Substrats cellulaires utilisés pour la production de vaccins pour usage humain (5.2.3) a été validé en commission de novembre 2015 et une demande de révision sera nécessaire pour mettre le 5.2.3 en conformité au chapitre 2.6.16.

► Page 4 lignes 9-13 : « Essais sur les cellules témoins »: problématique de compréhension :

Il est écrit :

« Au 14<sup>e</sup> jour, ou au moment de la dernière récolte du virus, en choisissant la période la plus longue, réunissez les surnageants obtenus à partir des cellules témoins et examinez-les pour détecter la présence d'agents étrangers, comme indiqué ci-dessus pour le lot de semence virale et la récolte de virus, par inoculation de cultures cellulaires pertinentes pour le type de cellules utilisé pour la multiplication du virus. »

Afin d'éviter une mauvaise interprétation du texte augmentant le délai à 42 jours au lieu de 28, il est proposé de compléter le paragraphe comme suit :

: « ... et examinez les pendant 14 jours pour détecter la présence d'agents étrangers »

En pratique, les surnageants de cellules témoins sont poolés et observés au bout de 14 jours, suivi d'un essai d'hémadsorption et à nouveau 14 jours. Soit 28 jours au total.

### **3.2 Remplacement de méthode(s) in vivo de contrôle de la qualité des vaccins par une ou plusieurs méthodes in vitro (5.2.14)**

PA/PH/Exp. 15/T (15) 16 ANP

Ce document a été rédigé par le groupe 15 puis a circulé au niveau du groupe 15V et autres groupes de la Ph Eur (6, 6B....) ainsi qu'au niveau du groupe immunologie de l'EMA avant la mise en enquête publique. Très peu de commentaires ont été reçus par le groupe 15 et le groupe 15V a analysé positivement ce chapitre.

Ce chapitre 5.2.14 est en rapport avec la règle des 3 Rs qui vise à remplacer les tests sur animaux par des méthodes in vitro. Le chapitre fournit des recommandations sur la substitution des méthodes in vivo

par des méthodes *in vitro* notamment dans les cas où la comparaison directe avec une méthode *in vivo* existante n'est pas réalisable. Il envisage donc la possibilité de démontrer la validité d'une méthode *in vitro* sans nécessairement effectuer une comparaison directe avec la méthode *in vivo*.

► Révision du titre et apporter les corrections dans tout le texte :

Parler de « substitution » de méthode plutôt que « remplacement » qui évoque une méthode alternative avec validation par rapport à la méthode remplacée, ce qui n'est pas le cas ici. Au final le titre français devra être « Remplacement Substitution de méthode(s) *in vivo* de contrôle de la qualité des vaccins par une ou plusieurs méthodes *in vitro* »

► Page 1 ligne 29, Objet : Une participant du champ vaccin vétérinaire se soucie que l'aspect de conseil et non d'exigence ne soit pas assez mis en évidence, compte tenu que la note relative au chapitre général sera ensuite retirée lors de la publication. Les conséquences possibles de ce chapitre en termes d'exigences spécifiques à différents stades du développement doivent faire partie des réflexions. Pour les anciens produits, il faut pouvoir convaincre les autres autorités en dehors de l'union européenne, habitués aux tests sur l'animal (marché asiatique par exemple) que le test mis en place est aussi efficace que celui habituellement pratiqué.

Proposition de modifier et/ou rajouter comme suit :

« Le but de ce chapitre général est de proposer une ligne directrice pour faciliter la mise en œuvre de méthodes *in vitro* .... »

« Le présent chapitre général s'applique principalement aux vaccins humains mais les principes décrits sont également applicables aux vaccins vétérinaires et à d'autres produits biologiques, comme les sérums »

► Page 1 lignes 41- 47 et page 2 lignes 1-5 : de multiples commentaires ont été faits sur ce paragraphe dont voici la résultante : 2 propositions ne différant que par la dernière phrase seront faites à la Ph Eur.

Proposition 1

« S'il est vrai que les essais d'activité et d'innocuité *in vivo* décrits dans les monographies de vaccins de la Pharmacopée Européenne ont historiquement joué un rôle central dans la préservation de la qualité des vaccins, la variabilité inhérente aux essais *in vivo* peut en faire des outils parfois moins adaptés que des essais *in vitro* conçus de manière appropriée pour surveiller la régularité de la production et pour évaluer l'impact potentiel de changements dans la fabrication. En conséquence, il est essentiel de continuellement remettre en question la valeur scientifique et la pertinence de ces méthodes d'essai *in vivo*. Si des essais *in vivo* s'avèrent ne présenter que peu ou pas de valeur, il est impératif de les éliminer pour des raisons éthiques et conformément aux obligations découlant des conventions applicables. De plus, des efforts importants sont déployés pour développer des méthodes *in vitro* (notamment des essais immunologiques, moléculaires et physico-chimiques) en remplacement des essais ~~prescrits~~ sur animaux. Ces efforts ont plusieurs fois donné lieu à l'introduction de nouvelles méthodes *in vitro* dans des monographies de vaccins. L'utilisation de méthodes *in vitro* appropriées permet non seulement de réduire l'utilisation d'animaux tout en maintenant ou en améliorant la pertinence scientifique des essais en question, mais aussi de réduire sensiblement la variabilité, la durée des essais et ~~le coût des essais~~ les ressources nécessaires, et d'améliorer ~~la prédictibilité de l'innocuité et de l'efficacité des lots de vaccin avant libération pour l'emploi~~ le suivi de la qualité de la production des vaccins d'un lot à l'autre . »

Proposition 2. idem proposition 1 + Modification de la dernière phrase

« et d'améliorer la prédictibilité de ~~l'innocuité et de l'efficacité des lots de vaccin avant libération pour l'emploi~~ la libération de lots de vaccins sûrs et efficaces »

► Page 2 line 18 : Il est décidé de ne pas modifier la phrase « D'autre part, des titrages biologiques *in vitro* peuvent imiter des éléments spécifiques de réponses *in vivo* complexes, avec en général une plus faible variabilité et une plus grande sensibilité. »

Pour illustrer cette phrase, il est donné l'exemple du vaccin rage : remplacement du test du NIH par une méthode Elisa pour doser la glycoprotéine rabique en utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre les épitopes immunodominants qui induisent des anticorps neutralisant.

► Page 2 lignes 43 - 44 et Page 3 ligne 18: « Agreement » en anglais devra être traduit par « adéquation » car les termes « concordance » et « corrélation » ont une signification statistique très forte.

► Page 3 lignes 1-4/ remarque :

Bien que la Pharmacopée ne concerne pas les produits en développement, une phrase est rajoutée en fin de chapitre « conditions générales » pour favoriser l'utilisation des méthodes *in vitro* le plus tôt possible dans les nouveaux développements de vaccin.

► Page 3 ligne 18 : Afin d'être plus proche de la version anglaise « *when it is not possible to show agreement between the in vitro and in vivo method ....* » et après discussion il est décidé de demander une modification de traduction comme suit « S'il n'est pas possible de ~~démontrer~~ montrer la concordance adéquation entre les méthodes *in vitro* et *in vivo* en raison du faible pouvoir discriminant et/ou de la forte variabilité de l'essai *in vivo*, l'approche suivante peut être utilisée, en supposant que le profil d'innocuité et d'efficacité du produit considéré soit bien établi, de même que l'uniformité de sa production. »

► Page 3 ligne 23 : L'erreur de traduction de « processus » au lieu de « procédé » est une erreur courante à la Pharmacopée Européenne, quel que soit le groupe de travail. Il sera demandé d'apporter les corrections dans l'ensemble du texte. On parle de « procédé de fabrication » et non pas de « processus de fabrication ».

► Page 3 ligne 26 :

Après échanges, la phrase suivante est conservée « En établissant des spécifications appropriées, la reproductibilité de la fabrication sera maintenue avec la/les méthode(s) *in vitro*. ».

Il est relaté des difficultés d'expression, notamment avec les UI qui pourront ne plus être adaptées avec les tests *in vitro*. Cependant, aucune unité n'est indiquée dans le texte.

► Page 3 lignes 44-47:

Proposition 1: Afin de nuancer le français pour être plus proche de l'anglais, revoir la traduction notamment de « *which would be followed* »

"Il convient ~~de~~ de procéder à l'évaluation initiale du dosage en utilisant des échantillons de concentrations différentes. Cet essai serait suivi du dosage d' échantillons soumis à différents types de conditions de stress afin de mieux évaluer le potentiel de la nouvelle méthode en tant qu'indicateur de stabilité."

Proposition 2: modifier l'anglais en « could be followed »

En français la traduction serait : " Cet essai pourrait être suivi ...."

## 4 – Dossiers à examiner en séance/ Groupe 6B Pha 28.2

### - Plasma humain (Mélange de) traité pour inactivation (1646)

PA/PH/Exp. 6B/T (16) 1 ANP

La révision porte sur la limite en Anticorps anti VHA pour laquelle il est proposé une diminution. En effet, l'incidence de l'hépatite A diminue depuis plusieurs années, ce qui induit une diminution du taux des anticorps chez les donneurs. Une limite à 0,2 UI/ml (au lieu de 1 UI actuellement) avait été envisagée mais en l'absence de données suffisantes, il est proposé de fixer la limite à 0,6 UI/ml, ce qui correspond à la limite acceptée par la FDA sur la base de données scientifiques.

### **5.1 Pegfilgrastim**

PA/PH/Exp. P4Bio/T (15) 11 ANP

Il s'agit d'une nouvelle monographie. Une seule spécialité est commercialisée en France bien qu'il existe déjà un biosimilaire. Cette monographie peut être comparée aux monographies de Filgrastim. Tous les tests ont été mis en œuvre par les laboratoires de l'EDQM et de certains OMCL.

Les commentaires sont les suivants :

- ▶ Page 1 ligne 27 : Activité: Il serait bon de spécifier une valeur d'activité.
- ▶ Page 5 ligne 47 : Ajouter une ligne : « Traitement des échantillons : faites bouillir pendant 5 mn »
- ▶ Page 8 ligne 7 : Un commentaire nous est parvenu concernant l'appellation « résine pour chromatographie ionique en phase inversée R ». Cette appellation a été vérifiée et correspond bien à ce qui est décrit dans les réactifs de la Pharmacopée (résine neutre microporeuse, à haute surface spécifique, de caractère non polaire, constituée d'une matrice polymérique de polystyrène réticulé de divinylbenzène). Ce commentaire ne sera pas retenu.
- ▶ Page 8 ligne 34 : Il serait intéressant d'ajouter un rapport pic/vallée dans les critères de conformité, le pic ne revenant pas à la ligne de base. (cf. 2.2.46)
- ▶ Test d'activité Page 11 lignes 40-41 : Il n'est pas mentionné que ce test nécessite des cellules. En revanche le paragraphe suivant mentionne des tests alternatifs de prolifération cellulaire. De plus le MTS n'est pas le seul à pouvoir être utilisé.

Il est donc proposé d'écrire pour plus de clarté: « ...qui utilise comme technique colorimétrique, la réduction d'un sel de Tétrazolium (MTS par exemple) par des cellules myéloïdes appropriées. ».

▶ Page 11 ligne 44 : « ...sous réserve de validation appropriée.». Il est proposé d'ajouter « ...sous réserve de validation appropriée et approuvée par l'Autorité compétente».

▶ Page 12 ligne 15 : L'ajout de critères de conformité du système serait souhaitable.

### **5.2 Etanercept**

PA/PH/Exp. P4Bio/T (15) 10 ANP

Un seul produit est commercialisé en France mais un biosimilaire est autorisé. C'est une molécule glycosylée, nécessitant l'analyse des glycanes en production et le dosage de l'acide sialique dans les essais.

Malgré l'absence de SCR actuellement, il existe une PBR pour le dosage de l'activité. C'est un standard international, établi après enquête collaborative organisée conjointement par l'OMS et la Pharmacopée Européenne.

Un seul commentaire :

- ▶ Page 1 ligne 34 : l'écart dans la spécification de l'activité spécifique est important, est-il justifié ?

**– FIN de séance: 16h40 –**

PJ / en annexe / tableau additionnel « antiseptique »

La Directrice adjointe  
Direction des Contrôles

  
**Frédérique BARBOSA**

Proposition pour Chapitre 5.1.11 Pharmacopée Européenne

Souches à tester selon l'indication du médicament à visée antiseptique et l'activité revendiquée

Dermato Cutané / Crème, solution	Ophtalmo (yeux+ annexes /collyre)	ORL (Oreilles, Gorge, nasal / Gouttes auriculaires, Pastilles pour la gorge, Gouttes nasales,)	Stomato (Bain de bouche)	Gyneco (vaginale/ovules, solution)
<p>Tableau 5.1.11.-1 :</p> <p><i>Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Aspergillus brasiliensis</i></p>				
<p><i>Staphylococcus epidermidis</i><sup>1</sup></p> <p>Streptocoque beta hémolytiques A, C et G<sup>2</sup></p> <p><i>Corynebacterium minutissimum</i><sup>1</sup></p> <p><b>Anaérobies :</b> <i>Propionibacterium acnes</i><sup>7</sup></p>	<p><b>Œil (conjonctivite blepharite..)</b></p> <p><i>Streptococcus pneumoniae</i><sup>2</sup></p> <p><i>Staphylococcus epidermidis</i><sup>1</sup></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i><sup>4</sup></p> <p><i>Neisseria sp</i><sup>3</sup></p> <p><i>Corynebacterium sp</i><sup>1</sup></p> <p><b>Anaérobies :</b> <i>Propionibacterium acnes</i><sup>7</sup></p>	<p><b>Gorge</b></p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i> (gp A)<sup>2</sup></p> <p>Streptocoque beta hémolytique gp C et G<sup>2</sup></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i><sup>4</sup></p> <p><i>Corynebacterium sp</i><sup>1</sup></p> <p><i>Neisseria sp</i><sup>3</sup></p> <p><b>Oreille (Otites)</b></p> <p><i>Streptococcus pneumoniae</i><sup>2</sup></p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i> (gp A)<sup>2</sup></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i><sup>4</sup></p> <p><i>Turicella otitidis</i><sup>1</sup></p> <p><i>Moraxella catarrhalis</i><sup>6</sup></p> <p><b>Nasal</b></p> <p><i>Streptococcus pneumoniae</i><sup>2</sup></p> <p><i>Moraxella catarrhalis</i><sup>6</sup></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i><sup>4</sup></p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i> = gp A<sup>2</sup></p>	<p><i>Streptococcus mutans</i><sup>2</sup></p> <p><i>Corynebacterium sp</i><sup>10</sup></p> <p><b>Flore buccale et dentaire spécifique :</b></p> <p><i>Capnocytophaga sp</i><sup>2</sup></p> <p><i>Eikenella corrodens</i><sup>2 ou 3</sup></p> <p><i>Kingella kingae</i><sup>2 ou 3</sup></p> <p><i>Aggregatibacter aphrophilus</i><sup>5</sup></p> <p><i>Aggregatibacter actinomycetem-comitans</i><sup>5</sup></p> <p><b>Anaérobies</b></p> <p><i>Fusobacterium nucleatum</i><sup>7</sup></p> <p><i>Prevotella oralis</i><sup>7</sup></p> <p><i>Porphyromonas gingivalis</i><sup>7</sup></p> <p><i>Peptostreptococcus</i><sup>7</sup></p> <p><b>Plaque dentaire</b></p> <p><i>Lactobacillus sp</i> (plaque dentaire avec <i>St mutans</i>)<sup>9</sup></p>	<p><b>Vaginal</b></p> <p><i>Streptococcus agalactiae</i> (gp B)<sup>2</sup></p> <p><i>Neisseria gonorrhoeae</i><sup>3</sup></p> <p><b>Anaérobies :</b></p> <p><i>Gardnerella vaginalis</i><sup>8</sup></p> <p><i>Mobiluncus</i><sup>7</sup></p>

### Proposition pour Chapitre 5.1.11 Pharmacopée Européenne

#### Souches à tester selon l'indication du médicament à visée antiseptique et l'activité revendiquée

<sup>1</sup> voir conditions *Staphylococcus aureus* ou gélose au sang de type Columbia ou milieu aux peptones de caséine et de soja (5 % sang), 35 °C

<sup>2</sup> gélose au sang de type Columbia ou milieu aux peptones de caséine et de soja (5% sang) ,35 °C, 5 à 10 % de CO<sub>2</sub> 24-48 h ou plus

<sup>3</sup> gélose au sang cuit, supplémentée en facteurs de croissance, 35 °C, 5 à 10 % de CO<sub>2</sub>, 24-48 h

<sup>4</sup> nécessité de facteur V (NADP) et facteur X (Hémine) : gélose au sang cuit supplémentée en NAD, 35 °C

<sup>5</sup> nécessité de facteur V (NADP) : gélose au sang cuit éventuellement supplémentée en NAD ,35 °C ,5 à 10 % de CO<sub>2</sub> 24-48 h

<sup>6</sup> Gram négatifs non fermentants : gélose au sang de type Columbia, 35 °C, 48h

<sup>7</sup> anaérobies strictes à Gram négatif et positif : gélose au sang de type Columbia, 35 °C, 48h et plus (selon les espèces), en anaérobiose. Les milieux sont préparés extemporanément ou conservés à l'abri de l'oxygène

<sup>8</sup> *Gardnerella vaginalis* : gélose au sang humain (5 %) du commerce, 35 °C, 5 à 10 % de CO<sub>2</sub>, 24h-48h

<sup>9</sup> Lactobacille : gélose MRS (Man Rogosa Sharp), 35 °C, 5 à 10 % de CO<sub>2</sub>, pH acide, 24-48h

#### Gélose au sang cuit (gélose chocolat) supplémentée polyvitex

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone trypsique de caséine 7,5 g
- Peptone pepsique de viande 7,5 g
- Amidon de maïs 1,0 g
- Hydrogénophosphate de potassium 4,0 g
- Dihydrogénophosphate de potassium 1,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hémoglobine 10,0 g
- Supplément glucosé, vitaminé type Polyvitex 1,0 mL
- Agar 15,0 g
- pH = 7,2

**Proposition pour Chapitre 5.1.11 Pharmacopée Européenne**

**Souches à tester selon l'indication du médicament à visée antiseptique et l'activité revendiquée**

**Gélose MRS (Man Rogosa Sharp) pour lactobacilles**

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone. 10,00 g
- Extrait de viande 10,00 g
- Extrait de levure 5,00 g
- Glucose 20,00 g
- Tween 80 1,0 mL
- Phosphate dipotassique 2,00 g
- Acétate de sodium 5,00 g
- Citrate d'ammonium 2,00 g
- Sulfate de magnésium 0,20 g
- Sulfate de manganèse 0,05 g
- Agar agar bactériologique 15,00 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,1