

Los datos de liberación de los 5 lotes de uniformidad de la tercera serie de producción se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6: Resultados analíticos de los lotes de la tercera serie de producción**

Pruebas	Criterios de aceptación	AC002	AC004	AC005	AC006	AC007
Aspecto	Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Medición de pH	6,0-8,0	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9
Contenido proteico	0,75 - -1,75 mg/mL	1,49	1,46	1,45	1,39	1,45
Identificación del HBsAg	Bandas mayoritarias: monómero alrededor de 23 kDa y bandas que corresponden al dímero alrededor de 46 kDa (bandas sencillas o dobles). Finalmente, presencia de trímero alrededor de 65 kDa	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de HBsAg*	≥ 0,7 mg de HBsAg/mg de proteínas totales	1,1	1,1	1,0	1,0	1,2
Contenido de carbohidratos	≤ 60 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales.	39	33	33	35	32
Contenido de lípidos	0.3-1.4 mg lípidos/mg de proteínas totales	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8
Pureza	≥ 95%	97	96	96	98	97
Porcentaje de monómero libre de HBsAg	≤ 3 %	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de bromuro	<10 mg/L	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

\* Prueba realizada con el kit ELISA Rhein Biotech.





La descripción de 3 lotes que posiblemente se comercialicen controlados según la especificación declarada se presenta en la Tabla 7.

**Tabla 7: Descripción de los lotes para comercialización**

Número de lote	Fecha de elaboración	Planta de producción	Escala del lote (50 L)	Uso del lote
AC089	10 ago 2010	Pilar	Industrial	Producción
AC090	17 ago 2010	Pilar	Industrial	Producción
AC091	24 ago 2010	Pilar	Industrial	Producción

Los datos de liberación de estos 3 lotes que posiblemente se comercialicen se presentan en la Tabla 8.

**Tabla 8: Resultados analíticos de los lotes para comercialización**

Pruebas	Criterios de aceptación	AC089	AC090	AC091
Aspecto	Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta	Cumple	Cumple	Cumple
Medición de pH	6,5-7,5	6,9	6,9	6,9
Contenido proteico	1,05-1,80 mg/mL	1,59	1,50	1,49
Identificación del HBsAg	Identificación: positiva	Positivo	Positivo	Positivo
	Bandas principales de peso molecular de alrededor de 23 kD, 46 kD y finalmente de 65 kD	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de HBsAg*	Contenido: $\geq 0,7$ mg de HBsAg/mg de proteínas totales	1,0	1,1	1,1
Contenido de carbohidratos	$\leq 50$ $\mu$ g de carbohidratos/mg de proteínas totales.	30	30	31
Contenido de lípidos	0,5-0,9 mg de lípidos/mg de proteínas totales	0,7	0,7	0,7
Pureza	$\geq 95\%$	96	96	96
Porcentaje de monómero libre de HBsAg	$\leq 3\%$	Cumple	Cumple	Cumple
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple
Endotoxinas bacterianas	$< 10$ UE/dosis (es decir, 10 UE/10 $\mu$ g de proteínas)	$< 10$	$< 10$	$< 10$

\* Prueba realizada con el kit ELISA Rhein Biotech.

Los procedimientos analíticos y de validación que se aplican solamente a los lotes de la segunda y la tercera series de producción, y no a los lotes comerciales, se describen en 3.2.S.4.4 Análisis de lotes.





## 5 Justificación de las especificaciones

Las especificaciones se describen en la Tabla 1. Las justificaciones de las especificaciones se resumen a continuación.

### 5.1 Aspecto

Aunque ni la Ph. Eur. ni la OMS requieren una prueba del aspecto, en la etapa de principio activo, el parámetro de aspecto se incluyó en la especificación aplicada a los lotes de la segunda generación a fin de verificar la uniformidad del aspecto visual del principio activo en cada lote.

### 5.2 Medición de pH

Aunque ni la Ph. Eur. ni la OMS requieren una prueba para determinar el pH, en la etapa de principio activo, el parámetro de pH se incluyó en la especificación aplicada a los lotes de la segunda generación a fin de verificar la uniformidad del pH del principio activo en cada lote.

La medición del pH se realiza conforme a lo establecido por la Ph. Eur. 2.2.3 "Potentiometer determination of pH" (determinación potenciométrica del pH).

El criterio de aceptación para el principio activo se establece con base en la demostración de la uniformidad de elaboración y en datos históricos.

### 5.3 Contenido proteico

Las recomendaciones de la Ph. Eur., monografía 1056, y de la OMS requieren esta prueba para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada). El contenido proteico se determina con el método de Lowry (Ph. Eur. 2.5.33 (método 2), "Total protein" [proteínas totales]).

La especificación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos con 30 lotes de HBsAg de la tercera serie de producción. Los intervalos de tolerancia inferior y superior se calculan utilizando un nivel de confianza del 99 % y una población del 99,73 %.

### 5.4 Identificación del HBsAg

Las recomendaciones de la OMS requieren esta prueba para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis B, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (la TRS 786 revisada permite el uso del análisis ELISA como prueba de identidad).

Dado que la Ph. Eur, en su monografía 1056, también requiere verificar que el peso molecular de las bandas principales corresponda a los valores esperados, se utiliza una combinación de 2 métodos (ELISA RB y SDS-PAGE en condiciones reductoras con tinción con azul de





Coomassie) para realizar la prueba de identidad conforme a los requisitos de la Ph. Eur. y de la OMS.

### 5.5 Contenido de HBsAg

Las recomendaciones de la Ph. Eur., en su monografía 1056, y de la OMS requieren esta prueba para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis B, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada).

El propósito de esta prueba consiste en asegurar la uniformidad de la producción midiendo el contenido de HBsAg en el principio activo. Esta prueba utiliza un método inmunoquímico validado interno (ELISA Rhein Biotech (RB)). El resultado se expresa como la proporción del contenido de HBsAg/contenido de proteína total obtenido con el método de Lowry como lo requiere la TRS y la monografía de la Ph. Eur.

La especificación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos con 30 lotes de HBsAg de la tercera serie de producción. El límite de tolerancia inferior se calcula utilizando un nivel de confianza del 99% y una población del 99,73%.

### 5.6 Contenido de carbohidratos

Las recomendaciones de la Ph. Eur., en su monografía 1056, y de la OMS requieren esta prueba para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis B, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada).

El propósito de esta prueba es determinar la cantidad de carbohidratos residuales en el principio activo. En esta prueba se utiliza un análisis colorimétrico validado interno. El resultado se expresa como la proporción de contenido de carbohidratos/contenido de proteína total, determinado con el método de Lowry.

La especificación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos con 30 lotes de HBsAg de la tercera serie de producción. El límite de tolerancia superior se calcula utilizando un nivel de confianza del 99 % y una población del 99,73 %.

### 5.7 Contenido de lípidos

Las recomendaciones de la Ph. Eur., en su monografía 1056, y de la OMS requieren esta prueba para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis B, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada).

El propósito de esta prueba consiste en verificar la uniformidad de la composición del HBsAg. En esta prueba se utiliza un análisis colorimétrico validado interno. El resultado se expresa como la proporción de contenido de lípidos/contenido de proteína total obtenido con el método de Lowry.

La especificación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos con 30 lotes de HBsAg de la tercera serie de producción. Los límites de tolerancia inferior y superior se calculan utilizando un nivel de confianza del 99 % y una población del 99,73 %.





## 5.8 Pureza

Según las recomendaciones de la Ph. Eur., en su monografía 1056, y de la OMS para garantizar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra hepatitis B, adoptadas por la ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada), la pureza se determina utilizando el método SDS-PAGE en condiciones reductoras con una tinción de azul de Coomassie.

El criterio de aceptación lo definen los textos regulatorios antes mencionados.

## 5.9 Porcentaje de monómero libre de HBsAg

La determinación del porcentaje de monómero libre de HBsAG no se requiere según la Ph. Eur., monografía 1056, o según la revisión de la TRS n.º 786 de la OMS, adoptada por el ECBS en octubre de 2010.

El propósito de esta prueba consiste en verificar el grado de maduración de la partícula a través de la estimación de la cantidad de monómero obtenida mediante SDS-PAGE en condiciones no reductoras con una tinción de azul de Coomassie. El criterio de aceptación está establecido en  $\leq 3$  % de acuerdo con el límite de detección y los datos históricos obtenidos con los lotes de HBsAg de la tercera serie de producción.

## 5.10 Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica

Las recomendaciones de la Ph. Eur., en su monografía 1056, o la revisión de la TRS n.º 786 de la OMS, adoptada por el ECBS en octubre de 2010 requieren el uso de esta prueba.

La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica con el método de filtración por membrana se lleva a cabo de acuerdo con la Ph. Eur., monografía 2.6.1 "Sterility" (esterilidad).

El criterio de aceptación está basado en un requisito de seguridad.

## 5.11 Endotoxinas bacterianas

De acuerdo con la revisión de la TRS n.º 786, apéndice 2, de la OMS, adoptado por el ECBS en octubre de 2010, la prueba de endotoxinas se añadió al perfil de liberación aplicado al principio activo.

La prueba se determina con la técnica de gelificación en cumplimiento con la monografía de la Ph. Eur. 2.6.14 "Bacterial endotoxins" (endotoxinas bacterianas).





S 2.3.P.4

Item 10.2.1 ✓

1-2 VAC

**2.3.P.4**

**Control de Excipientes**

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SAMOEL PASTER S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SAMOEL PASTER S.A.



## Sección 2.3.P.4 - Control de excipientes

Lista de abreviaturas, vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, introducción

Los excipientes utilizados en la vacuna Hexaxim son: hidróxido de aluminio, fosfato disódico de hidrógeno, dihidrogenofosfato de potasio, mezcla de aminoácidos esenciales en polvo, trometamol, sacarosa y agua para inyectables.

### 1 Excipientes farmacopeicos

Los excipientes utilizados en la elaboración de la vacuna Hexaxim y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea (Ph. Eur.) se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Excipientes analizados de acuerdo con las monografías de la Farmacopea Europea

Excipiente	Referencia a la norma
Hidróxido de aluminio, hidratado, para adsorción	Ph. Eur., monografía 1664. edición actual
Fosfato disódico de hidrógeno	Ph. Eur., monografía 0118. edición actual
Dihidrogenofosfato de potasio	Ph. Eur., monografía 0920. edición actual
Trometamol	Ph. Eur., monografía 1053. edición actual
Sacarosa	Ph. Eur., monografía 0204. edición actual
Agua para inyectables	Ph. Eur., monografía 0169. edición actual
Hidróxido de sodio (para el ajuste de Ph)	Ph. Eur., monografía 0677. edición actual
Ácido acético glacial (para el ajuste de pH)	Ph. Eur., monografía 0590. edición actual
Ácido clorhídrico concentrado (para el ajuste de pH)	Ph. Eur., monografía 0002. edición actual

### 2 Excipiente no farmacopeico

Las especificaciones internas de la mezcla de aminoácidos esenciales en polvo lista para disolver que se utiliza en la elaboración de la vacuna Hexaxim se describen en la tabla 2.

Estas especificaciones se han definido con el fin de asegurar la identidad y la calidad de la solución.





**Tabla 2: Especificaciones de la mezcla de polvo de aminoácidos esenciales**

Prueba	Ph. Eur./Método	Criterios de aceptación
Aspecto	Inspección visual	Polvo blanco a blanquecino
Identificación	Ph. Eur. 2.2.56: Método HPLC	Cumple
Metales pesados	Ph. Eur. 2.4.8 método C: Método colorimétrico	No más de 10 ppm
Arsénico	Ph. Eur. 2.4.2 método A: Método colorimétrico	No más de 1 ppm

Todos los aminoácidos esenciales cumplen por separado con su respectiva monografía de la Ph. Eur. (vea la tabla 3).

**Tabla 3: Referencia en las monografías de la Farmacopea Europea para cada aminoácido esencial**

Mezcla de aminoácidos esenciales en polvo	Monografía de la Ph. Eur.,
L-Cistina	Ph. Eur., monografía 0998. edición actual
L-Tirosina	Ph. Eur., monografía 1161. edición actual
L-arginina -HCl	Ph. Eur., monografía 0805. edición actual
L-Histidina	Ph. Eur., monografía 0911. edición actual
L-Isoleucina	Ph. Eur., monografía 0770. edición actual
L-Leucina	Ph. Eur., monografía 0771. edición actual
L-Lisina HCl	Ph. Eur., monografía 0930. edición actual
L-Metionina	Ph. Eur., monografía 1027. edición actual
L-Fenilalanina	Ph. Eur., monografía 0782. edición actual
L-Treonina	Ph. Eur., monografía 1049. edición actual
L-Triptófano	Ph. Eur., monografía 1272. edición actual
L-Valina	Ph. Eur., monografía 0796. edición actual

### 3 Excipientes de origen humano o animal

No se aplica, ya que en la formulación de la vacuna Hexaxim no se utilizan excipientes de origen humano o animal.

### 4 Excipientes nuevos

No se aplica, ya que en la formulación de la vacuna Hexaxim no se utilizan excipientes nuevos.





**3.2.P.5.1**

**Especificaciones**

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





## Sección 3.2.P.5.1 Especificaciones

Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción

### 1 Especificaciones del producto final a granel (PFAG) y del producto llenado (PL)

Las especificaciones utilizadas para el control del producto final a granel (PFAG) y del producto llenado (PL) se presentan en la tabla 1 y la tabla 2 respectivamente.

Estas tablas incluyen para cada prueba:

- El nombre de la prueba;
- La referencia a la monografía de la Farmacopea Europea (Ph. Eur.);
- El método usado;
- Los criterios de aceptación aplicados para la liberación del producto.

Las descripciones de los métodos analíticos se presentan en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos, mientras que los informes de validación asociados se resumen en la sección 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

Las justificaciones de las pruebas realizadas para la liberación y los criterios de aceptación aplicables se presentan en la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones.





Tabla 1: Especificaciones del producto final a granel (PFAG)

Pruebas	Ph. Eur./Métodos	Criterios de aceptación
Medición de osmolalidad	Ph. Eur. 2.2.35 Método fisicoquímico	300-400 mOsmol/kg
Contenido de formaldehído libre	Basado en Ph. Eur. 2.4.18 Ensayo colorimétrico	≤ 7,5 µg/dosis
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1 Filtración por membrana	No se observa crecimiento microbiano
Actividad de sensibilización a la histamina	Ph. Eur. 2067 Inyección de la vacuna en ratones por vía intraperitoneal seguida por inyección de una solución base de histamina	≥ 95 % de supervivencia
Fosfato de polirribosil ribitol (PRP) no adsorbido	Ph. Eur. 2.2.29 Cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución con detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD)	≤ 8,0 µg/dosis
PRP despolimerizado		< 20,0 %
Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico	Método de inmunoelectroforesis Rocket	≥ 23 %
Porcentaje de adsorción de hepatitis B	Ph. Eur. 2.7.1 Método ELISA	≥ 64 %
Potencia diftérica	Ph. Eur. 2.7.6 Prueba de desafío intradérmico en cobayos (inyección de la vacuna en animales por vía intradérmica)	Actividad ≥ 30 unidades internacionales (UI)/dosis Límite inferior de confianza ( $P=0,95$ ) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis
Potencia tetánica	Ph. Eur. 2.7.8 Prueba de desafío en ratones (inyección de la vacuna en animales por vía subcutánea)	Límite inferior de confianza ( $P=0,95$ ) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis
Inmunogenicidad contra <i>B. pertussis</i>	Ph. Eur. 2.7.16 Prueba de inmunogenicidad en ratones (análisis serológico: método ELISA)	Los títulos de anticuerpos antitoxoide pertúsico (PTxd) y antihemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente ( $P = 0,95$ ) inferiores a los de la vacuna de referencia
Contenido de antígeno D	Ph. Eur. 2.7.1 Método ELISA	Tipo 1: 20,0-43,0 unidades de antígeno D (UD)/dosis Tipo 2: 5,0-9,0 UD/dosis Tipo 3: 17,0-36,0 UD/dosis
Potencia relativa <i>in vitro</i> de la hepatitis B (IVRP)	Ph. Eur. 2.7.15 Método ELISA	≥ 0,70

