



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

## 1 Introducción

En esta sección se proporcionan las justificaciones del perfil de liberación de los lotes comerciales de producto final a granel (PFAG) y de producto llenado (PL) y de las especificaciones relacionadas.

El perfil de liberación y los criterios de aceptación definidos se basan en:

- Reglamentaciones actuales, como la monografía 2067 de la Ph. Eur., la monografía 0153 de la Ph. Eur. y el TRS 927;
- Los análisis estadísticos efectuados en lotes con formulación inicial (que se documentaron a través de estudios clínicos de fase III);
- La experiencia de la compañía con vacunas con licencia como Tetravac (DTacP-IPV), Pediacel (DTaP-IPV-PRP-T) y Act-Hib.

Además, el perfil de liberación para el PFAG y el producto llenado incluye siempre que sea posible pruebas *in vitro* para sustituir las pruebas en animales.

Todos los resultados obtenidos con los lotes de formulación mejorada cumplen con estos criterios de aceptación.

Estos criterios de aceptación se revisarán, en caso necesario, tras la elaboración de una cantidad suficiente de lotes comerciales.

En esta sección también se presenta la justificación de la eliminación de algunas pruebas realizadas como pruebas de liberación durante el desarrollo del producto medicinal.

Para una mejor comprensión, en la Tabla 1 se describe la evolución de los criterios de aceptación para la liberación aplicados a lo largo del desarrollo del producto.



Tabla 1: Evolución de los criterios de aceptación para la liberación

Etapa	Pruebas	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (50 L)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (250 L)	Criterios de aceptación aplicados al producto comercializado
PFAG	Aspecto	Suspensión turbia y blancuzca	Suspensión turbia y blancuzca	Realizada en el producto llenado	Realizada en el producto llenado
	Medición de pH	6,5-8,0	6,5-7,5	Realizada en el producto llenado	Realizada en el producto llenado
	Contenido de aluminio	0,40-0,80 mg/dosis	0,80-1,60 mg/mL*	Realizada en el producto llenado	Realizada en el producto llenado
	Toxicidad anormal	Realizada en el producto llenado	Conforme	Realizada en el producto llenado	No realizada, vea el apartado 3.4
	Medición de osmolalidad	250-450 mosmol/kg	300-400 mosmol/kg	300-400 mosmol/kg	300-400 mosmol/kg
	Contenido de formaldehído libre	≤ 30 µg/mL*	≤ 30 µg/mL*	≤ 30 µg/mL*	≤ 7,5 µg/dosis
	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano.	Sin crecimiento microbiano.	Sin crecimiento microbiano.	Sin crecimiento microbiano.
	Toxicidad específica de los componentes diftéricos y tetánicos en cobayos	Ausencia de síntomas diftéricos y/o tetánicos y un mínimo de 80 % de supervivencia.	Ausencia de síntomas diftéricos y/o tetánicos y un mínimo de 80 % de supervivencia.	Ausencia de signos o muerte por difteria, toxemia o tetanos	No realizada, vea el apartado 3.3
	Actividad de sensibilización a la histamina	≥ 95% de supervivencia	≥ 95% de supervivencia	≥ 95% de supervivencia	≥ 95% de supervivencia
	Irreversibilidad del toxoide pertúsico	No se realizó	No se realizó	Para información	No realizada, vea el apartado 3.7
	PRP no adsorbido	≥ 16 µg/mL*	≥ 16 µg/mL*	≥ 8 µg/dosis	≥ 8,0 µg/dosis
	PRP despolimerizado	< 20%	≤ 20%	≤ 20%	< 20,0%
	Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico	Para información (analizado mediante los métodos de inmunoelectroforesis en cohete y ELISA)	Para información (método de inmunoelectroforesis en cohete)	Para información (método de inmunoelectroforesis en cohete)	≥ 23% (Método de inmunoelectroforesis en cohete)

ROXANA MONTEILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.  
CHRISTIAN DOMINGUEZ VICERREDO SANOFI PASTEUR S.A.

RA\_0303390

Información confidencial/proprietaria  
Página 6 de 53





Sección 3.2.P.5.6  
Justificación de las especificaciones

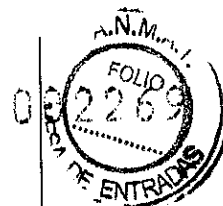
sanofi pasteur  
352 - Hexaxim

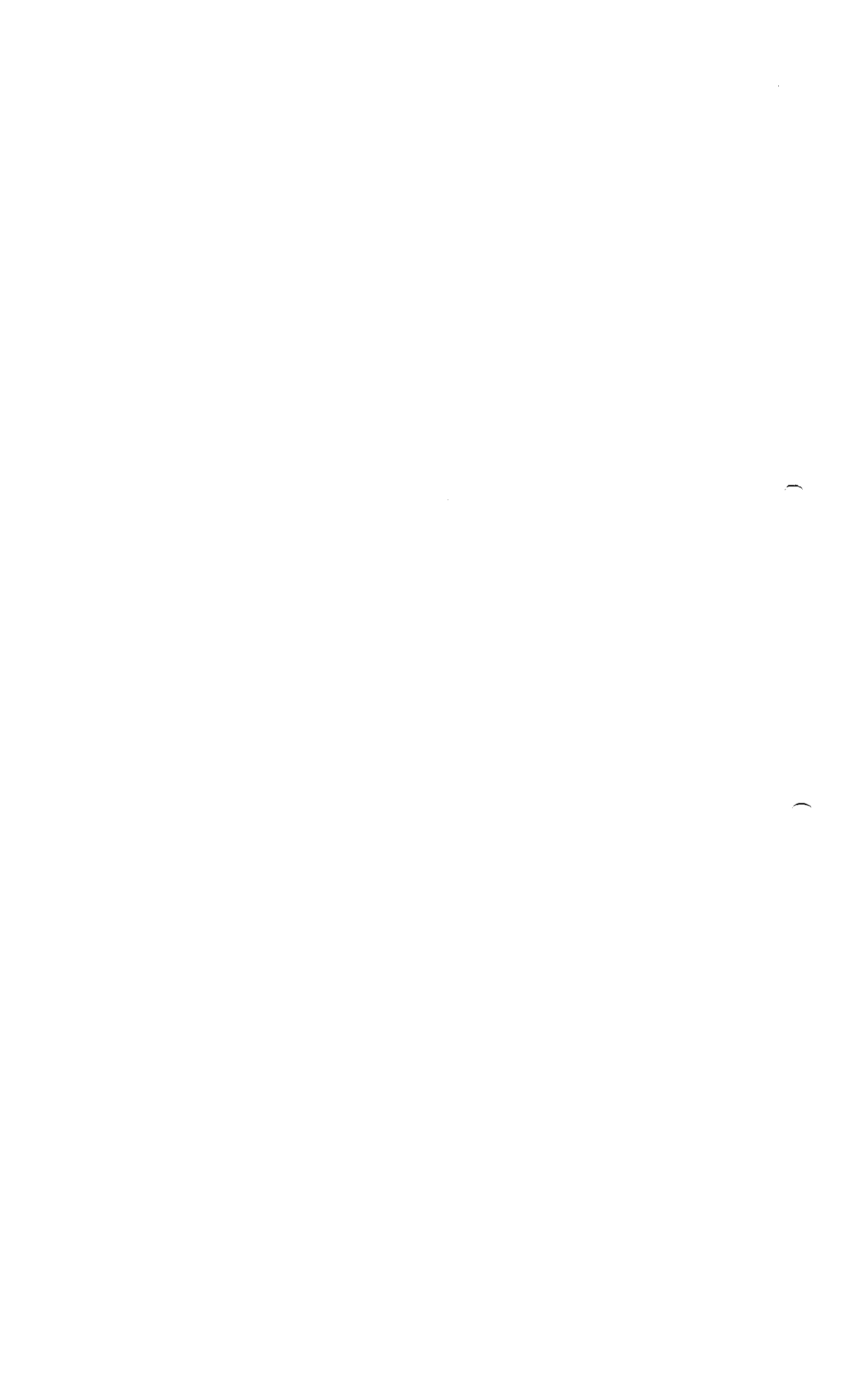
Etapa	Pruebas	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (50 L)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (250 L)	Criterios de aceptación aplicados al producto comercializado
	Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico	Para información (analizado mediante los métodos de inmunoelectroforesis en cohete y ELISA)	Para información (Método de inmunoelectroforesis en cohete)	Para información (Método de inmunoelectroforesis en cohete)	No realizada, vea el apartado 3.1
	Porcentaje de adsorción de hepatitis B	Para información	Para información	Para información	≥ 64%
	Potencia diftérica	Actividad ≥ 30 UI/dosis Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis (prueba de desafío en cobayos)	Actividad ≥ 60 UI/mL* Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 40 UI/mL* (prueba de desafío en cobayos)	Actividad ≥ 30 UI/dosis Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis (prueba de desafío en cobayos)	Actividad ≥ 30 UI/dosis Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis (prueba de desafío en cobayos)
	Potencia tetánica	Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis (prueba de desafío en ratones)	Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 80 UI/mL* (prueba de desafío en ratones)	Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis (prueba de desafío en ratones)	Límite inferior de confianza (P=0,95) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis (prueba de desafío en ratones)
	Inmunogenicidad contra pertussis	Los títulos de anticuerpos contra el toxoide pertúsico (PTxd) y contra la hemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente (P = 0,95) inferiores a los de la vacuna de referencia (prueba de inmunogenicidad en ratones)	Los títulos de anticuerpos contra el toxoide pertúsico (PTxd) y contra la hemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente (P = 0,95) inferiores a los de la vacuna de referencia (prueba de inmunogenicidad en ratones)	Los títulos de anticuerpos contra el toxoide pertúsico (PTxd) y contra la hemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente (P = 0,95) inferiores a los de la vacuna de referencia (prueba de inmunogenicidad en ratones)	Los títulos de anticuerpos contra el toxoide pertúsico (PTxd) y contra la hemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente (P = 0,95) inferiores a los de la vacuna de referencia (prueba de inmunogenicidad en ratones)
	Contenido de antígeno D	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis	Tipo 1: 40-86 UD/mL* Tipo 2: 10-18 UD/mL* Tipo 3: 34-72 UD/mL*	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis	Tipo 1: 20,0-43,0 UD/dosis Tipo 2: 5,0-9,0 UD/dosis Tipo 3: 17,0-36,0 UD/dosis

ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.  
CHRISTIAN DOMINGUEZ ALCERADO SANOFI PASTEUR S.A.

RA\_0303390

Información confidencial/propietaria  
Página 7 de 53

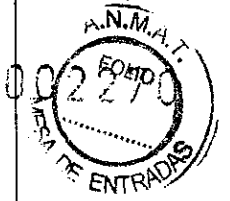


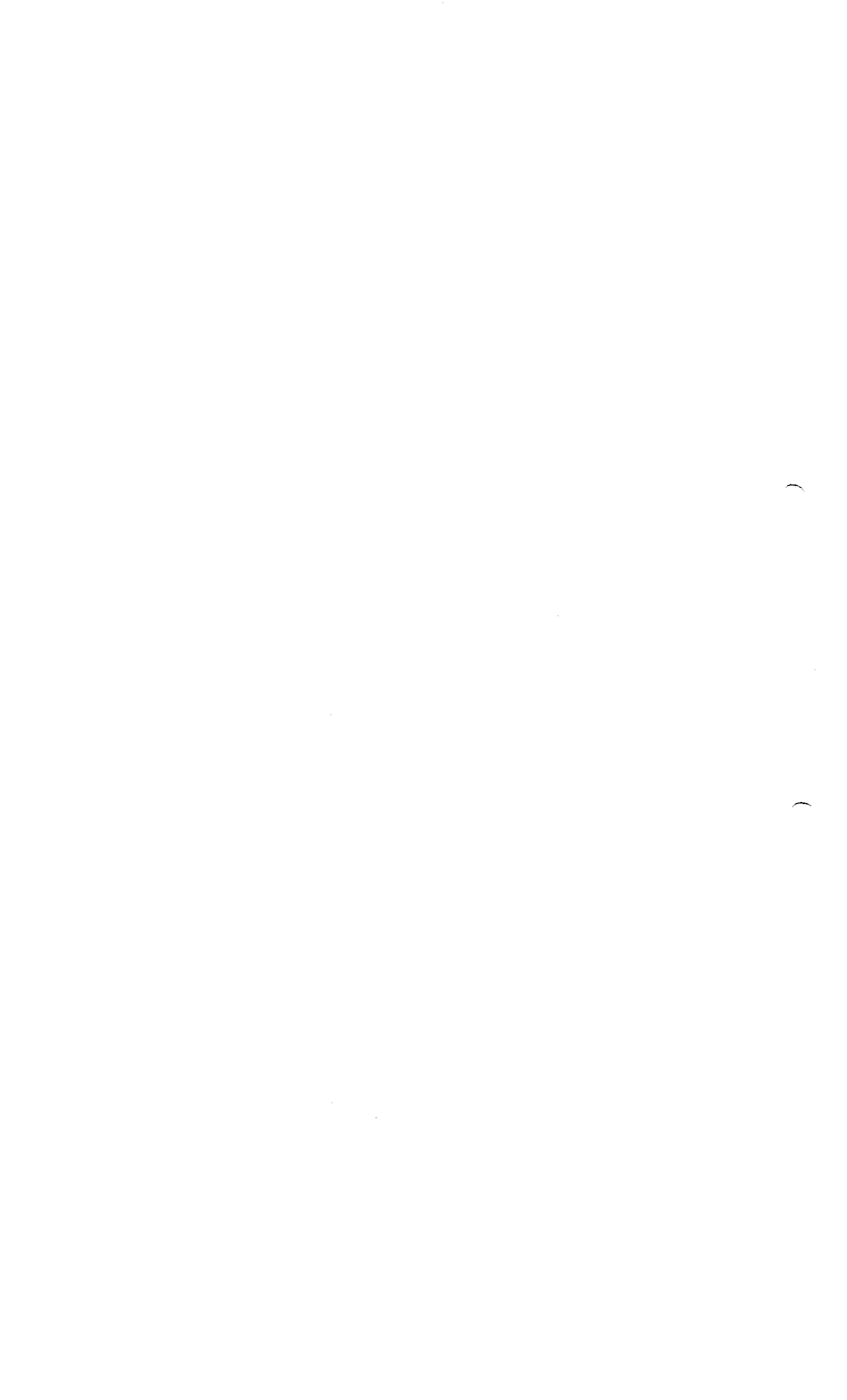


Etapa	Pruebas	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (50 L)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (250 L)	Criterios de aceptación aplicados al producto comercializado
	Potencia de la poliomielitis	Tipo 1: $\geq 2$ Tipo 2: $\geq 2$ Tipo 3: $\geq 2$ (método en pollos)	Para información (potencia relativa) (método en ratas)	Para información (potencial relativa) (método en ratas)	No realizada, vea el apartado 2.1.12
	Inmunogenicidad contra la hepatitis B <i>in vivo</i>	Límite superior de confianza ( $P = 0,95$ ) $\geq 1,0$	Límite superior de confianza ( $P = 0,95$ ) $\geq 1,0$	Límite superior de confianza ( $P = 0,95$ ) $\geq 1,0$	No realizada, vea el apartado 2.1.13
	Potencia relativa <i>in vitro</i> de la hepatitis B (IVRP)	Para información (potencia relativa)	Para información (potencia relativa)	Para información (potencia relativa)	$\geq 0,70$
	Inmunogenicidad contra Haemophilus en ratones	No menos de la mitad de los ratones vacunados presentan un título no inferior a cuatro veces el del suero de control agrupado	No menos de la mitad de los ratones vacunados presentan un título no inferior a cuatro veces el del suero de control agrupado	Para información	No realizada, vea el apartado 3.2
	Aspecto	Suspensión turbia y blancuzca	No hay producto llenado para esta formulación	Suspensión turbia y blancuzca	Suspensión turbia y blancuzca
Producto llenado	Medición de pH	Realizada en el PFGA		6,5-7,5	6,8-7,5
	Volumen extraíble	$\geq 0,5$ mL de cada una de las 5 jeringas/viales individuales analizados		$\geq 0,5$ mL de cada una de las 5 jeringas/viales individuales analizados	$\geq$ volumen nominal
	Contenido de aluminio	0,40-0,80 mg/dosis		0,40-0,80 mg/dosis	0,50-0,70 mg/dosis
	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano.		Sin crecimiento cuando se analiza para detectar contaminación bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano.
	Toxicidad anormal	Ausencia de muerte o signos de enfermedad en los 7 días después de la inoculación		Ausencia de muerte o signos de enfermedad en los 7 días después de la inoculación	No realizada, vea el apartado 3.4
	Prueba de pirógenos	Cumple el criterio de la Ph. Eur.		Cumple el criterio de la Ph. Eur.	Cumple el criterio de la Ph. Eur.

ROXANA MONTEILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
RECORRADO  
SANOFI PASTEUR S.A.



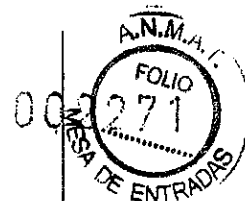


Etapa	Pruebas	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (50 L)	Criterios de aceptación aplicados a los lotes con la formulación mejorada (250 L)	Criterios de aceptación aplicados al producto comercializado
	<b>Identidad de la difteria</b>	Positivo (Ouchterlony)		Positivo (método Luminex) Para información (Ouchterlony)	Positivo (método Luminex o Ouchterlony como método alternativo)
	<b>Identidad del tétanos</b>	Positivo (Ouchterlony)		Positivo (método Luminex) Para información (Ouchterlony)	Positivo (método Luminex o Ouchterlony como método alternativo)
	<b>Identidad de pertussis</b>	Positivo(Ouchterlony)		Positivo (método Luminex) Para información (Ouchterlony)	Positivo (método Luminex o Ouchterlony como método alternativo)
	<b>Contenido de antígeno D (identificación)</b>	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis(ELISA)		Positivo (método Luminex) Para información (ELISA)	Positivo (método Luminex o ELISA como método alternativo)
	<b>Identidad de la hepatitis B</b>	Positivo (ELISA)		Positivo (método Luminex) Para información (ELISA)	Positivo (método Luminex o ELISA como método alternativo)
	<b>Identidad de Haemophilus</b>	Positivo (Ouchterlony)		Positivo (método Luminex) Para información (Ouchterlony)	Positivo (método Luminex o Ouchterlony como método alternativo)

Todos los valores indicados en la tabla (criterios de aceptación) marcados con un asterisco (\*) se expresan en unidades o mg por mL para cumplir con el certificado de análisis. Para la comparación con las columnas adyacentes y la conversión en dosis (resultados expresados en unidades o mg por dosis humana), tienen que dividirse por 2 teniendo en cuenta que el volumen de una dosis de la vacuna Hexaxim es de 0,5 mL.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
ALBERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.







## 2 Justificación de los criterios de aceptación

Los criterios de aceptación se expresan habitualmente en dosis humana, tal como se establece en la Ph. Eur. (excepto para los lotes de 50 L de formulación mejorada para los no se elaboró producto llenado; vea la nota al pie de la Tabla 1).

### 2.1 Fase de producto final a granel

El proceso de elaboración del producto llenado consiste exclusivamente en llenar viales o jeringas con producto final a granel. Durante este proceso no se añade ni sustrae ningún compuesto y no se realiza un paso de filtración entre el PFAG y el producto llenado. Por consiguiente, puede considerarse que el producto llenado es representativo del producto final a granel ya que el paso de llenado no afecta a la conformidad del producto llenado.

Teniendo en cuenta que el producto llenado es representativo del PFAG y que un lote de PFAG puede utilizarse para elaborar varios lotes de producto llenado, se propone realizar las pruebas en animales en la etapa de producto final a granel en lugar de en la etapa de producto llenado con el fin de reducir la carga de pruebas en animales. En consecuencia, como se describe en la monografía 2067 de la Ph. Eur. todos los ensayos de potencia se realizan en la etapa de PFAG. A continuación, para garantizar la uniformidad del perfil de aprobación, todas las pruebas de contenido antigénico, así como las de porcentaje de adsorción también se realizan en el PFAG.

#### 2.1.1 Medición de la osmolalidad

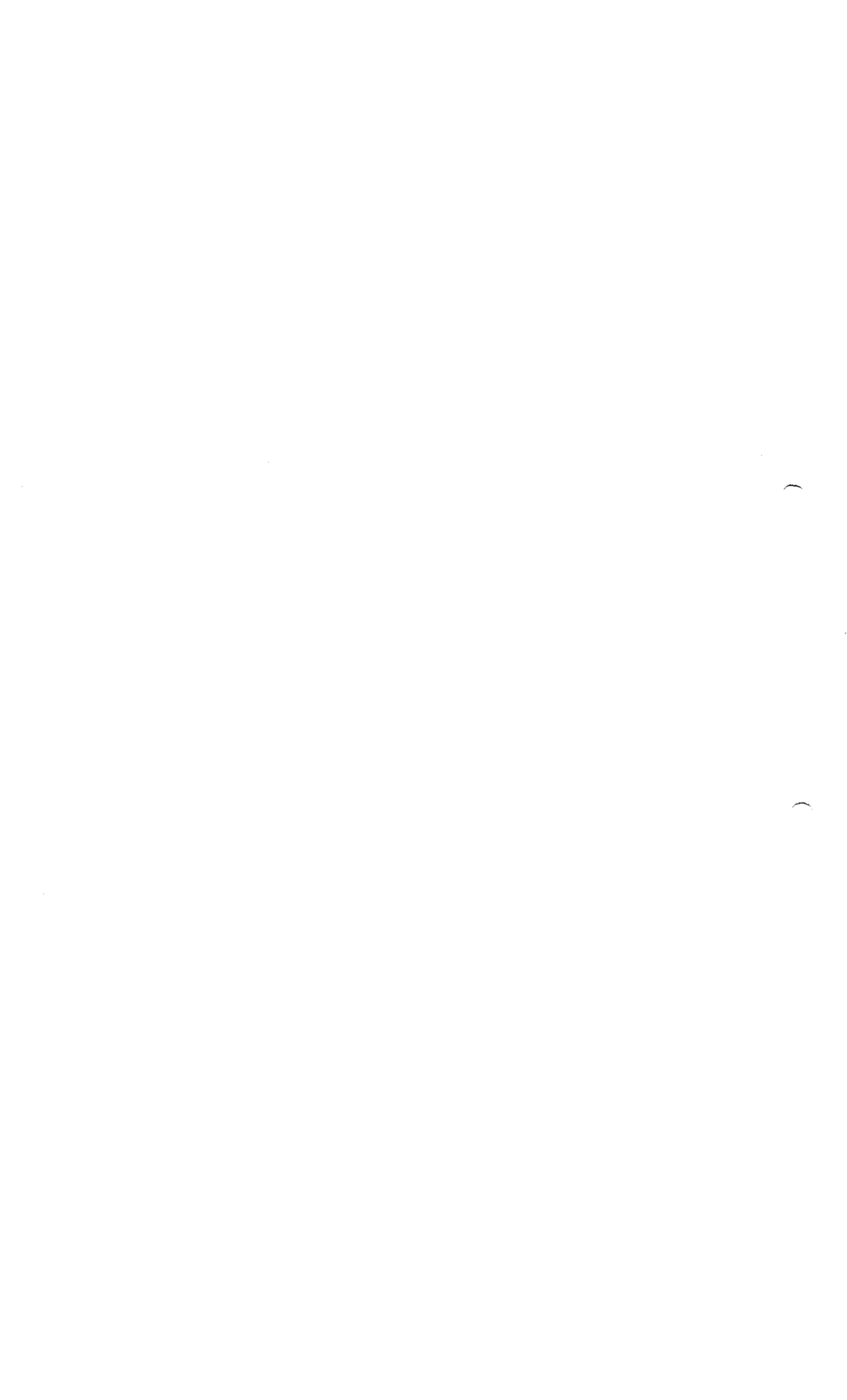
De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., la medición de la osmolalidad se realiza:

- En cumplimiento de la Ph. Eur. 2.2.35;
- En la etapa de producto final a granel.

##### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: 300-400 mosmol/kg

La especificación se basa en el análisis estadístico de los resultados obtenidos en 28 lotes con la formulación inicial (en la etapa de PFAG o de producto llenado) y se detalla en la Tabla 2. La distribución de las muestras no sigue una distribución normal. Por lo tanto, los límites inferior y superior se calculan utilizando el intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia del método obtenido en su validación (valor mínimo y valor máximo obtenidos  $\pm$  intervalo de confianza del 95%). El rango encontrado es 315-345 mosmol/kg. En función de este estudio, el criterio de aceptación se establece en 300-400 mosmol/kg. Aunque la formulación del excipiente ha cambiado, los datos sobre la osmolalidad de los lotes con formulación mejorada se encuentran dentro de este rango.





**Tabla 2: Medición de osmolalidad: análisis estadístico**

Datos estadísticos (mosmol/kg)	
Lotes utilizados	Lotes con la formulación inicial (elaborados en Argentina y Francia)
Número de muestras	28 lotes (11 de PFAG y 17 de producto llenado)
Media de las muestras	333 mosmol/kg
Varianza	33,9
Desviación estándar	6
Valor mínimo	320 mosmol/kg
Valor máximo	340 mosmol/kg
Prueba de normalidad	Valor P = 0,0032 (< 0,01). Significativo. Los datos no siguen una distribución normal.
Intervalo de confianza de la precisión intermedia del método (95%)*	IC <sub>R</sub> = ± 4,87

\* El intervalo de confianza de la precisión intermedia es el obtenido en el estudio de validación realizado en lotes con la formulación inicial.

### 2.1.2 Contenido de formaldehído libre

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., la prueba de contenido de formaldehído libre:

- Se basa en la Ph. Eur. 2.4.18;
- Se realiza en la etapa de producto final a granel.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación:  $\leq 7,5 \mu\text{g/dosis}$

El criterio de aceptación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos en 11 lotes con la formulación inicial (etapa de PFAG) y se detalla en la Tabla 3. La distribución de las muestras sigue una distribución normal. Por consiguiente, el límite superior de tolerancia unilateral calculado al 95% ( $p = 0,9973$ ) es de  $15,0 \mu\text{g/mL}$ . En función de este estudio, el límite superior de formaldehído residual se establece en  $15,0 \mu\text{g/mL}$  y el criterio de aceptación resultante es  $7,5 \mu\text{g/dosis}$ , teniendo en cuenta que la dosis de vacuna Hexaxim es de 0,5 ml. Los datos sobre el contenido de formaldehído de los lotes con formulación mejorada cumplen este criterio de aceptación.

El criterio de aceptación es más restrictivo que los requisitos de la monografía 2067 de la Ph. Eur. y la monografía 0153 de la Ph. Eur. (vea 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos - Descripción del método para el contenido de formaldehído libre)





**Tabla 3: Contenido de formaldehído libre: análisis estadístico**

Datos estadísticos (µg/mL)	
Lotes utilizados	Lotes con la formulación inicial (elaborados en Argentina y Francia)
Número de muestras	11 (11 de PFAG)
Media de las muestras	10,2 µg/mL
Varianza	0,001369
Desviación estándar	0,037
Valor mínimo	8,7 µg/mL
Valor máximo	11,1 µg/mL
Prueba de normalidad	Valor P = 0,0782 (> 0,01). No significativo. Los datos siguen una distribución normal.
Límite de tolerancia de 95%	≤ 15,0 µg/mL

**2.1.3 Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica**

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., la prueba de esterilidad bacteriana y fúngica se realiza:

- En cumplimiento de la Ph. Eur. 2.6.1;
- En la etapa de producto final a granel

**Justificación del criterio de aceptación**

Criterio de aceptación: Sin crecimiento microbiano.

El criterio de aceptación es un requisito de seguridad regulador.



**2.1.4 Actividad de sensibilización a la histamina**

La prueba de actividad de sensibilización a la histamina se realiza en la etapa de producto final a granel y no se repite en la etapa de producto llenado de conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur.

**Justificación del criterio de aceptación**

Criterio de aceptación: ≥ 95% de supervivencia

El criterio de aceptación cumple con los requisitos de la monografía 1356 de la Ph. Eur.


  
 ROXANA MONTEMILONE      CHRISTIAN DOMINGUEZ  
 DIRECTORA TÉCNICA      ABOGADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.      SANOFI PASTEUR S.A.





### 2.1.5 PRP no adsorbido

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., esta prueba se basa en la Ph. Eur. 2.2.29.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación:  $\geq 8,0 \mu\text{g/dosis}$ .

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., la cantidad de PRP no adsorbido no es inferior al 80% de la cantidad indicada en la etiqueta.

El producto final a granel se formula con  $24 \mu\text{g/mL}$  de PRP para garantizar un valor objetivo de  $20 \mu\text{g/mL}$  de PRP no adsorbido. Por lo tanto, el criterio de aceptación se estableció en un mínimo de 80% de este valor objetivo (es decir,  $\geq 16 \mu\text{g/mL}$ ). El mismo criterio ( $\geq 8,0 \mu\text{g/dosis}$ ) se aplica a la vacuna con licencia Act-Hib de sanofi pasteur.

### 2.1.6 PRP despolimerizado

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., esta prueba se basa en la Ph. Eur. 2.2.29.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación:  $< 20,0\%$  en el momento de la liberación

El criterio de aceptación cumple las recomendaciones de la monografía 1219 de la Ph. Eur.

### 2.1.7 Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico

Dado que no se recomienda ningún método concreto en la Ph. Eur., se ha utilizado el método de inmunoelectroforesis en cohete para determinar el porcentaje de adsorción del toxoide diftérico. Se trata de un método inmunoquímico adecuado de acuerdo con Ph. Eur. 2.7.1.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación:  $\geq 23\%$

De conformidad con la monografía 0153 de la Ph. Eur., el criterio de aceptación del grado de adsorción se establece en vista de los resultados clínicos y de inmunogenia satisfactorios obtenidos con los lotes utilizados en estudios clínicos. El menor valor de adsorción D obtenido durante el periodo de inclusión de los estudios clínicos es de 31%. El intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia del método es de  $\pm 8\%$ . Teniendo en cuenta esta variabilidad, la especificación se establece en el 31% menos el 8%, por lo que el límite resultante es de 23%.





### 2.1.8 Porcentaje de adsorción de hepatitis B

Dado que no se recomienda ningún método concreto en la Ph. Eur., se ha utilizado el método ELISA para determinar el porcentaje de adsorción de hepatitis B ya que, de acuerdo con Ph. Eur. 2.7.1., se trata de un método inmunoquímico adecuado.

#### Justificación del criterio de aceptación

Criterio de aceptación:  $\geq 64\%$

El criterio de aceptación se basa en un análisis de los resultados obtenidos en 4 lotes de PFAG con la formulación inicial (elaborados en Francia) y se detalla en la Tabla 4. Los demás lotes con la formulación inicial (elaborados en Argentina) se analizaron con un método distinto que no permite utilizarlos en el análisis. El límite inferior calculado utilizando un intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia del método (valor mínimo, intervalo de confianza del 95%) es igual a 0,64 (0,77/1,21). En función de este estudio, el criterio de aceptación es de  $\geq 64\%$ .

Además, el criterio de aceptación en el momento de la liberación concuerda con el valor mínimo probado clínicamente.

**Tabla 4: Porcentaje de adsorción de hepatitis B: análisis estadístico**

Análisis	
Lotes utilizados	Lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia)
Número de muestras	4 (PFAG)
Valor mínimo	0,77
Valor máximo	0,85
Intervalo de confianza de la precisión intermedia del método (95%)*	$IC_R = \pm 0,081$ y $\times/ 1,21$ en forma aritmética
Límite inferior	0,64

\* El intervalo de confianza de la precisión intermedia es el obtenido en el estudio de validación realizado en el lote con la formulación inicial.

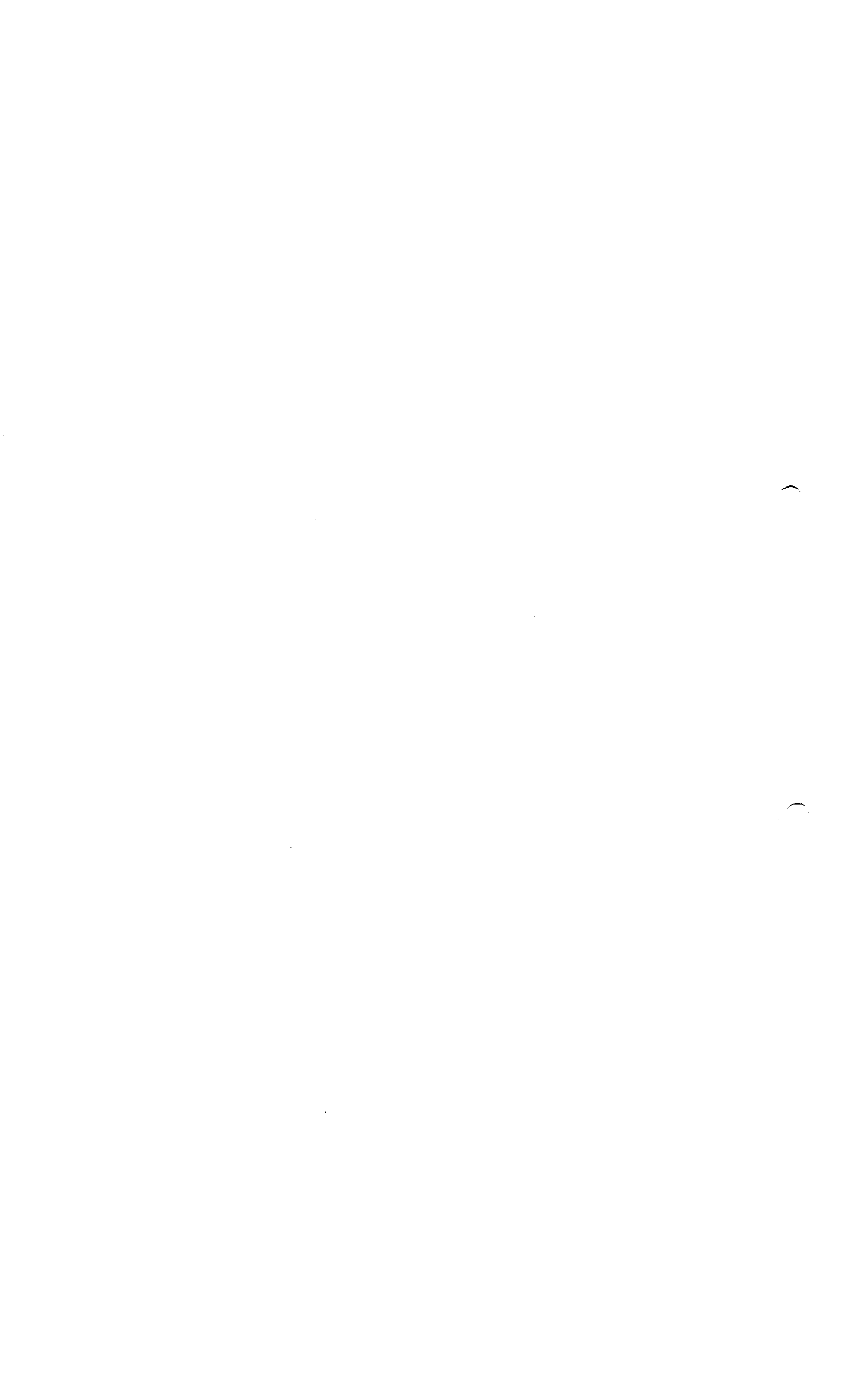
### 2.1.9 Potencia diftérica

Para evaluar la potencia diftérica, se realiza la prueba de desafío en cobayos de conformidad con Ph. Eur. 2.7.6 (método A) según lo establecido en la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Según la monografía 2067 de la Ph. Eur., la potencia diftérica se evalúa únicamente en la etapa de producto final a granel.

#### Justificación de los criterios de aceptación

Criterios de aceptación: Actividad  $\geq 30$  UI/dosis con un límite inferior de confianza (LFL) de la potencia estimada de  $\geq 20$  UI/dosis





En la serie de informes técnicos de la OMS, TRS N° 927, Anexo 5, se señala que "si el límite inferior del intervalo de confianza de la potencia estimada es menor que 30 UI por cada dosis única humana, los límites del intervalo de confianza del 95% deben estar entre el 50% y el 200% de la potencia estimada". Puesto que el límite inferior de confianza de la potencia estimada se establece en 20 UI/dosis, sanofi pasteur asegura que los límites del intervalo de confianza del 95% están entre el 50 y -el 200% de la potencia estimada para todos los lotes.

Además, el criterio de aceptación está respaldado por los datos satisfactorios de inmunogenicidad contra difteria en humanos. Los resultados de los lotes de Hexaxim mostraron que los tres valores del límite inferior de confianza obtenidos durante el periodo de inclusión fueron inferiores a 30 UI/dosis (22 UI/dosis, 28 UI/dosis, 29 UI/dosis).

En función de estos datos, el criterio de aceptación es de  $\geq 20$  UI/dosis para el límite inferior de confianza de la potencia estimada. Tal como lo exige la monografía 2067 de la Ph. Eur., el criterio de aceptación para la actividad es de  $\geq 30$  UI/dosis, a menos que se justifique y autorice otro valor. Como se describe anteriormente, la justificación está fuertemente respaldada por datos clínicos y por el hecho de que la vacuna Tetravac ya ha sido autorizada en la mayoría de países europeos.

#### 2.1.10 Potencia tetánica

Para evaluar la potencia tetánica, se realiza la prueba de desafío en ratones de conformidad con Ph. Eur. 2.7.8 (método B) según lo establecido en la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Según la monografía 2067 de la Ph. Eur., la potencia tetánica se evalúa únicamente en la etapa de producto final a granel.

##### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: límite inferior de confianza de la potencia estimada ( $P=0,95$ )  
 $\geq 40$  UI/dosis

El criterio de aceptación cumple con los requisitos de la monografía 2067 de la Ph. Eur.

#### 2.1.11 Inmunogenicidad contra pertussis

La prueba de inmunogenicidad contra pertussis se realiza de conformidad con Ph. Eur. 2.7.16 según lo establecido en la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Según la monografía 2067 de la Ph. Eur., la prueba se realiza únicamente en la etapa de producto final a granel.

##### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: los títulos de anticuerpos contra el toxoide pertúsico (PTxd) y contra la hemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente ( $P = 0,95$ ) inferiores a los de la vacuna de referencia

El criterio de aceptación cumple con los requisitos de Eur. 2.7.16.





## 2.1.12 Contenido de antígeno D

### 2.1.12.1 Introducción

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., se ha seleccionado como prueba de liberación un método ELISA *in vitro* para reducir las pruebas en animales.

Durante el desarrollo del producto, se han aplicado métodos tanto *in vivo* como *in vitro* a la formulación inicial (elaborada en Francia) y a la formulación mejorada de la vacuna.

El estudio de apoyo para la omisión (exención) de pruebas en animales se llevó a cabo de conformidad con la monografía 2.7.20 de la Ph. Eur. y se presenta a continuación.

El método *in vitro* elegido es un método inmunoquímico adecuado (ph. Eur. 2.7.1) como exige la monografía 2067 de la Ph. Eur.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterios de aceptación:

- Tipo 1: 20,0-43,0 UD/dosis
- Tipo 2: 5,0-9,0 UD/dosis
- Tipo 3: 17,0-36,0 UD/dosis

Estos criterios de aceptación se aplican también a las dos vacunas combinadas Pediacel y Tetravac que contienen la misma cantidad de principio activo de IPV.

### 2.1.12.2 Estudio de validación de la omisión del ensayo *in vivo* para la vacuna contra la poliomielitis

#### 2.1.12.2.1 Introducción

Este estudio tiene como objetivo demostrar, a través de un estudio comparativo, que la prueba de potencia *in vivo* de la poliomielitis en ratas puede ser sustituida por una prueba de potencia *in vitro* (antígeno D mediante ELISA), para el control de la vacuna Hexaxim.

La guía "Replacement of animal studies by *in vitro* models" CPMP/SWP/728/95 recomienda sustituir, cuando sea posible, las pruebas *in vivo* por pruebas *in vitro*. Otros factores, como el factor ético, el tiempo necesario para su implementación y la facilidad de implementación de las pruebas *in vitro* son elementos que respaldan la sustitución de la prueba *in vivo* de la poliomielitis en Hexaxim por una prueba *in vitro*.

Así pues, se llevó a cabo una validación de la omisión del ensayo *in vivo* de la poliomielitis en la vacuna Hexaxim. Esta validación que se describe a continuación respalda la utilización de manera rutinaria de ensayos *in vitro* para el control y la liberación de los lotes de Hexaxim.

