



Tabla 18: Análisis descriptivo de los resultados de la actividad relativa *in vivo*

		Lotes utilizados para las formulaciones experimentales		
		BBO09-095 y BBO09-096	BBO09-095 y BBO09-096	BBO09-095 y BBO09-096
Formulación intacta (VI) (actividad relativa)	Número de valores	3	3	3
	Media	0,0763 que equivale a 1,192 en forma aritmética	0,2021 que equivale a 1,593 en forma aritmética	-0,0198 que equivale a 0,955 en forma aritmética
	Intervalo de confianza del 95 %	[0,0237; 0,1289] que equivale a [1,056; 1,345] en forma aritmética	[0,1000; 0,3041] que equivale a [1,259; 2,014] en forma aritmética	[-0,0457; 0,0061] que equivale a [0,900; 1,014] en forma aritmética
Vacuna degradada un 30% (VI-70%) (actividad relativa)	Número de valores	3	3	3
	Media	0,0072 que equivale a 1,017 en forma aritmética	0,0822 que equivale a 1,208 en forma aritmética	0,0009 que equivale a 1,002 en forma aritmética
	Intervalo de confianza del 95 %	[-0,1415; 0,1560] que equivale a [0,722; 1,432] en forma aritmética	[-0,0675; 0,2319] que equivale a [0,856; 1,706] en forma aritmética	[-0,1382; 0,1399] que equivale a [0,727; 1,380] en forma aritmética
Vacuna degradada un 70% (VI-30%) (actividad relativa)	Número de valores	3	3	3
	Media	-0,1801 que equivale a 0,660 en forma aritmética	-0,1228 que equivale a 0,754 en forma aritmética	-0,1546 que equivale a 0,701 en forma aritmética
	Intervalo de confianza del 95 %	[-0,2593; -0,1010] que equivale a [0,550; 0,792] en forma aritmética	[-0,2793; 0,0336] que equivale a [0,526; 1,081] en forma aritmética	[-0,5414; 0,2322] que equivale a [0,287; 1,707] en forma aritmética
Proporción (VI)/(VI-70%)		Diferencia = 0,069 [-0,095; 0,234] (log) que equivale a proporción = 1,17 [0,80; 1,71] en forma aritmética	Diferencia = 0,120 [0,006; 0,234] (log) que equivale a proporción = 1,32 [1,01; 1,71] en forma aritmética	Diferencia = -0,021 [-0,134; 0,093] (log) que equivale a Proporción = 0,95 [0,73; 1,24] en forma aritmética
Proporción (VI)/(VI-30%)		Diferencia = 0,256 [0,160; 0,353] (log) que equivale a proporción = 1,80 [1,44; 2,26] en forma aritmética	Diferencia = 0,325 [0,262; 0,388] (log) que equivale a proporción = 2,11 [1,83; 2,44] en forma aritmética	Diferencia = 0,135 [-0,228; 0,498] (log) que equivale a proporción = 1,36 [0,59; 3,15] en forma aritmética

El análisis estadístico de los efectos del lote, método y degradación muestra un efecto significativo del lote. Los resultados son significativamente diferentes en los 3 lotes estudiados (BO09-095/96, BO10-104/105 y BO10-106/107).

Además, se llevó cabo un análisis por lote. Como puede verse en la Figura 8, solo puede observarse un efecto de la degradación en los lotes BO09-095/96 y BO10-104/105, mientras que en el lote BO10-106/107 el efecto de la degradación no es significativo. En este lote, los resultados no pueden considerarse significativamente diferentes entre los 3 niveles de degradación (vacuna intacta, vacuna degradada al 30% y vacuna degradada un 70%).

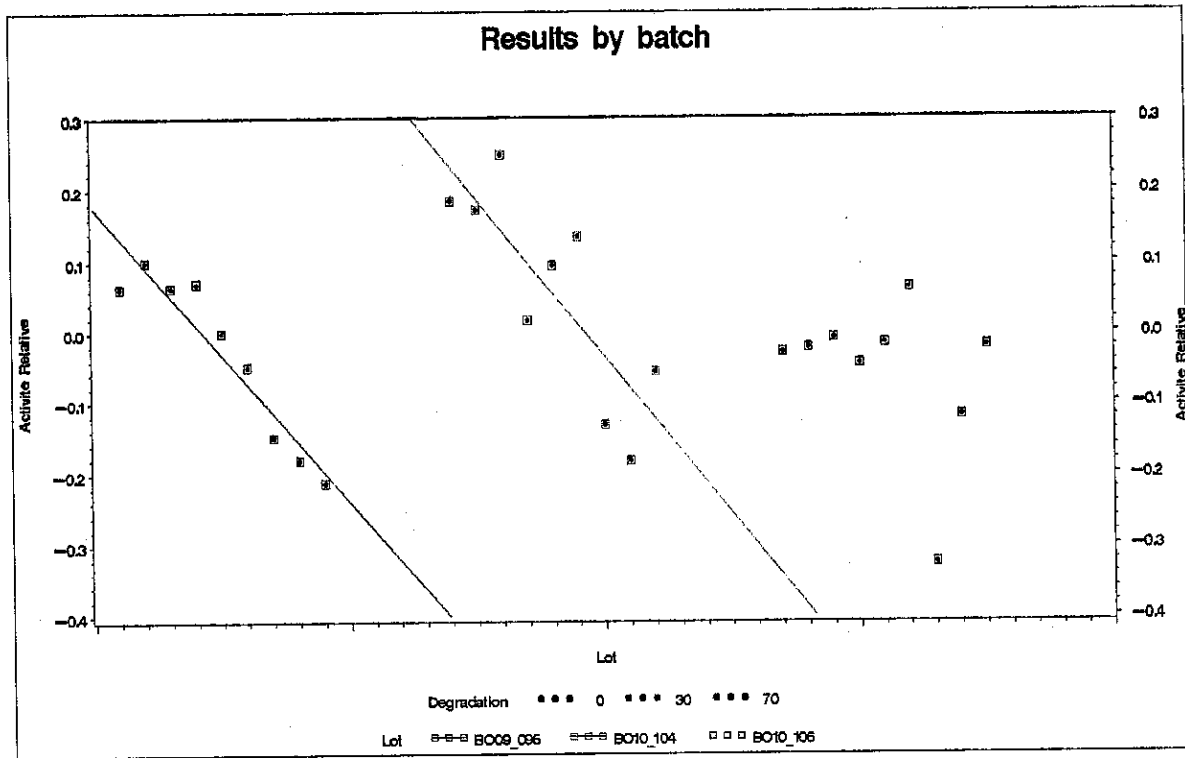




Se concluye que para el método *in vivo*, no se verifica el criterio siguiente, especialmente en un lote:

$$\text{Potencia relativa (vacuna intacta)} > \text{Potencia relativa (vacuna degradada un 30\%)} > \text{Potencia relativa (vacuna degradada un 70\%)}$$

Figura 8: Actividad relativa en la prueba *in vivo* de cada lote (expresada en logaritmos)



Leyenda: Izquierda: lotes BO09-095 y BO09-096 / Centro: lotes BO10-104 y BO10-105 / Derecha: Lotes BO10-106 y BO10-107.

### 2.1.13.2.5 Discusión

A continuación se comentan los resultados del estudio comparativo de los métodos de potencia de la hepatitis B en la vacuna con hepatitis B intacta y en la vacuna con hepatitis B degradada.

Por una parte, la prueba *in vitro* (determinación de la IVRP de la hepatitis B mediante ELISA) es capaz de detectar la degradación parcial del antígeno de hepatitis B (30% y 70%). La actividad relativa de la vacuna intacta es significativamente superior a la de la vacuna con el 30% o el 70% de hepatitis B degradada. Los resultados obtenidos con la formulación con un 30% de hepatitis B degradada son superiores a los obtenidos con la formulación con un 70% de hepatitis B degradada. Por consiguiente, los resultados demuestran que el contenido antigénico de hepatitis B disminuye de manera proporcional al porcentaje de degradación de los lotes.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
ASOCIADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





Por otra parte, la prueba de inmunogenicidad *in vivo* de la hepatitis B en ratones Balb/c no es capaz de detectar proporcionalmente la alteración de los antígenos de forma uniforme. La actividad relativa *in vivo* de las vacunas intactas no es superior a la de la formulación con un 30% de hepatitis B degradada para los 3 lotes analizados. Además, la actividad relativa *in vivo* de la formulación con un 30% de hepatitis B degradada es superior a la de la formulación con un 70% de hepatitis B degradada únicamente en 2 lotes.

#### 2.1.13.2.6 Criterio de aceptación del la prueba de IVRP

El criterio de aceptación de la prueba de IVRP que se establece para los productos comercializados de Hexaxim es  $\geq 0,70$ . Esto significa que las vacunas Hexaxim que contienen más de un 30% de hepatitis B degradada serían rechazadas en función de los datos de IVRP, mientras que se habrían considerado conformes con el criterio de aceptación de la Ph. Eur. para los ensayos *in vivo* (límite de confianza superior ( $P = 0,95$ )  $\geq 1,0$ ).

#### 2.1.13.2.7 Conclusión

Este estudio demuestra claramente que la prueba de IVRP es más discriminativa y sensible que la prueba *in vivo* para detectar lotes de potencia atenuada. Este método es capaz de distinguir de una forma reproducible la vacuna Hexaxim intacta y la vacuna que contiene hepatitis B degradada.

Por esta razón, la prueba de IVRP es más adecuada que la prueba *in vivo* y puede usarse como un método fiable para determinar la potencia, en sustitución de la prueba de inmunogenicidad contra la hepatitis B en ratones, para el control y la liberación de lotes de Hexaxim.

Por lo tanto, este estudio valida la omisión del ensayo de la hepatitis B *in vivo*.

## 2.2 Etapa de producto llenado

### 2.2.1 Aspecto

La prueba de aspecto se realiza:

- De conformidad con Ph. Eur. 2.9.20;
- En la etapa de producto llenado, de conformidad con la monografía 0153 de la Ph. Eur.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: suspensión turbia y blancuzca

El criterio de aceptación se basa en la observación del producto medicinal durante el desarrollo.

### 2.2.2 Medición de pH

De conformidad con la monografía 0153 de la Ph. Eur, la medición de pH se realiza:

- En cumplimiento de Ph. Eur. 2.2.23;
- En la etapa de producto llenado.





### **Justificación de los criterios de aceptación**

Criterios de aceptación: 6,8-7,5

Los criterios de aceptación se determinan para establecer el pH objetivo de la formulación mejorada, que es 7,1 en la etapa de PFAG, ya que no se observa ningún cambio significativo entre el PFAG y el producto llenado. El límite inferior se establece en 6,8 para garantizar el nivel adecuado de PRP no adsorbido en el gel de aluminio (estudio disponible en la sección 3.2.P.2.2 Producto medicinal).

#### **2.2.3 Volumen extraíble**

De conformidad con la monografía 0153 de la Ph. Eur., la prueba de volumen extraíble se realiza:

- En cumplimiento de Ph. Eur. 2.9.17;
- En la etapa de producto llenado.

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

Criterio de aceptación:  $\geq$  volumen nominal

El criterio de aceptación cumple con Ph. Eur. 2.9.17 y no es inferior a la dosis establecida.

#### **2.2.4 Contenido de aluminio**

De conformidad con las monografías 0153 y 2067 de la Ph. Eur., la prueba de contenido de aluminio:

- Se basa en Ph. Eur. 2.5.13;
- Se realiza en la etapa de producto llenado.

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

Criterio de aceptación: 0,50-0,70 mg/dosis

El criterio de aceptación se basa en un análisis estadístico de los resultados obtenidos en 35 lotes con la formulación inicial, como se detalla en la Tabla 19. Los datos siguen una distribución normal. Los límites inferior y superior se calculan utilizando un rango de tolerancia del 99% ( $p = 0,9973$ ). El rango obtenido es 0,97-1,41 mg/mL. En función de este estudio, el criterio de aceptación seleccionado es de 0,50-0,70 mg/dosis.

El criterio de aceptación está en torno al objetivo de formulación de 0,60 mg/dosis y es inferior al límite máximo indicado en las monografías 0153 y 2067 de la Ph. Eur. (1,25 mg/dosis).

(1)

(2)



Tabla 19: Contenido de aluminio: análisis estadístico

Datos estadísticos (mg/mL)	
Lotes utilizados	Lotes con la formulación inicial (elaborados en Francia y Argentina)
Número de muestras	35 lotes (11 de PFAG y 24 de producto llenado)
Media de las muestras	1,19
Varianza	0,0027
Desviación estándar	0,05
Valor mínimo	1,08 mg/mL
Valor máximo	1,30 mg/mL
Prueba de normalidad	Valor P = 0,5704 (> 0,01). No significativo. Los datos siguen una distribución normal.
Límite inferior de tolerancia del 99%	0,97 mg/mL
Límite superior de tolerancia del 99%	1,41 mg/mL

### 2.2.5 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 Ph. Eur. 2.6.1;
- En la etapa de producto llenado.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: Sin crecimiento microbiano.

El criterio de aceptación es un requisito de seguridad regulador.

### 2.2.6 Prueba de pirógenos

La prueba de pirógenos se realiza según Ph. Eur. 2.6.8 como lo exige la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Este método solo se requiere en las etapas de desarrollo. No obstante, como no pudo realizarse el ensayo de endotoxinas bacterianas mediante LAL en los lotes con la formulación inicial debido a la interferencia de la matriz (vea la justificación en el apartado 3.8), se mantuvo la prueba de pirógenos en el producto llenado comercializado para demostrar la seguridad del producto con un método farmacopeico.

#### *Justificación del criterio de aceptación*

Criterio de aceptación: cumple el criterio de la Ph. Eur.

El criterio de aceptación cumple con los requisitos de Ph. Eur. 2.6.8.





## 2.2.7 Identidad de cada valencia

La identificación de los seis principios activos presentes en la vacuna se realiza mediante la técnica Luminex, con la que pueden detectarse múltiples antígenos en un único pocillo simultáneamente. La técnica Luminex es un método inmunoquímico adecuado (Ph. Eur. 2.7.1) como exige la monografía 2067 de la Ph. Eur.

El método Luminex es el método de liberación, pero pueden usarse métodos alternativos para liberar lotes en caso de avería del equipo Luminex y/o en caso de imposibilidad importante de obtener suministros de microesferas unidas a antígenos.

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., los métodos de identidad clásicos son:

- Ouchterlony para difteria, tétanos, tos ferina y haemophilus de conformidad con Ph. Eur. 2.7.1;
- ELISA para la poliomielitis y la hepatitis B de conformidad con Ph. Eur. 2.7.1.

Estos métodos pueden usarse como métodos alternativos a Luminex como se explica arriba.

De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur., la identificación de las valencias se realiza en la etapa de producto llenado.

### *Justificación del criterio de aceptación*

El criterio de aceptación es el mismo para el método de liberación (p. ej., Luminex) y el método clásico (p. ej., Ouchterlony o ELISA).

Criterio de aceptación: positivo

El criterio de aceptación es cualitativo y garantiza la presencia en la vacuna de los antígenos específicos previstos.



### 3 Pruebas no realizadas de forma rutinaria en el momento de la liberación

Las pruebas siguientes se han realizado durante el desarrollo del producto pero no están incluidas en el perfil de liberación del producto comercializado. La justificación de no utilizarlas como prueba de liberación se explica a continuación.

#### 3.1 Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico

El porcentaje de adsorción del toxoide tetánico no se incluye en las especificaciones de la vacuna Hexaxim de conformidad con la monografía 0153 de la Ph. Eur., que exige unas especificaciones de liberación y vida útil como en los lotes utilizados en ensayos clínicos, salvo que se justifique y autorice otra cosa.

Durante el desarrollo de la vacuna de Hexaxim, se ha evaluado el porcentaje de adsorción del toxoide tetánico en todos los lotes, tanto clínicos como de desarrollo, para evaluar la uniformidad de la producción y la estabilidad de la vacuna en investigación (vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes y 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad).

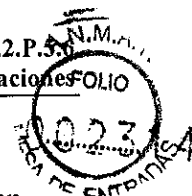
Este parámetro no se consideró un atributo de calidad crítico con respecto a la eficacia de la vacuna (vea 3.2.P.2.2 Producto medicinal.). En los lotes clínicos se han observado resultados que oscilan entre el 18% y el 50%, sin que se haya registrado efecto alguno sobre la potencia tetánica, que es el atributo de calidad más importante a tener en cuenta para el antígeno tetánico. De hecho, en todos los lotes de Hexaxim se han obtenido resultados uniformes en cuanto a la potencia tetánica uniformes, con valores significativamente elevados en comparación con el mínimo requerido por la Ph. Eur. para las vacunas (límite inferior de confianza de 40 UI por dosis como mínimo). Esto demuestra la excelente eficacia de la vacuna Hexaxim para el antígeno tetánico. A continuación se resumen estos resultados obtenidos en distintos lotes de Hexaxim (para más información, vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes).

**Tabla 20: Resultados obtenidos en las pruebas de potencia tetánica en lotes de Hexaxim (prueba de desafío en ratones)**

Especificación	Valores obtenidos para los lotes de Hexaxim con la formulación inicial  4 lotes analizados (p. ej., lote n° FDNC0004)	Valores obtenidos para lotes de Hexaxim con la formulación mejorada (escala de 50 L)  3 lotes analizados (p. ej., lote n° IND09014)	Valores obtenidos para lotes de Hexaxim con la formulación mejorada (escala de 250 L)  3 lotes analizados (p. ej., lote n° FDV01398)
Límite inferior de confianza $\geq$ 40 UI/dosis	473 - 407 - 294 - 312 UI/dosis	1168 - 494 - 694 UI/dosis	280 - 413 - 485 UI/dosis

Además, los lotes de Hexaxim evaluados en estudios clínicos demuestran una respuesta inmunitaria antitetánica satisfactoria. El menor valor de adsorción del toxoide tetánico obtenido





en estos lotes durante el periodo de inclusión de los ensayos clínicos fue de 19%. Teniendo en cuenta el intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia del método (resultados divididos por 2,16%), el valor de adsorción del toxoide tetánico más bajo aceptable, clínicamente documentado, sería de 8,8% (= 19% / 2,16). Un valor tan bajo no parece significativo como criterio de aceptación.

Por estos dos motivos, no parece pertinente seleccionar la valoración del porcentaje de adsorción del toxoide tetánico como prueba de liberación para la vacuna Hexaxim ni realizarla de manera rutinaria.

### 3.2 Inmunogenicidad contra Haemophilus en ratones

La monografía 2067 de la Ph. Eur. exige que se realicen estudios en animales durante el desarrollo de la vacuna para demostrar la respuesta inmunitaria a PRP.

La inmunogenicidad contra haemophilus en ratones se ha evaluado en todos los lotes de PFAG elaborados durante el desarrollo de la vacuna (10 lotes) y se ha demostrado tanto la homogeneidad de la producción como la estabilidad a lo largo del tiempo (vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes y 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad).

En relación con el criterio de la Ph. Eur., todos los resultados obtenidos durante el desarrollo son satisfactorios. Así pues, la prueba de inmunogenicidad frente a haemophilus *in vivo* no se seleccionó como prueba de liberación de conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur.

### 3.3 Toxicidad específica de los componentes diftéricos y tetánicos

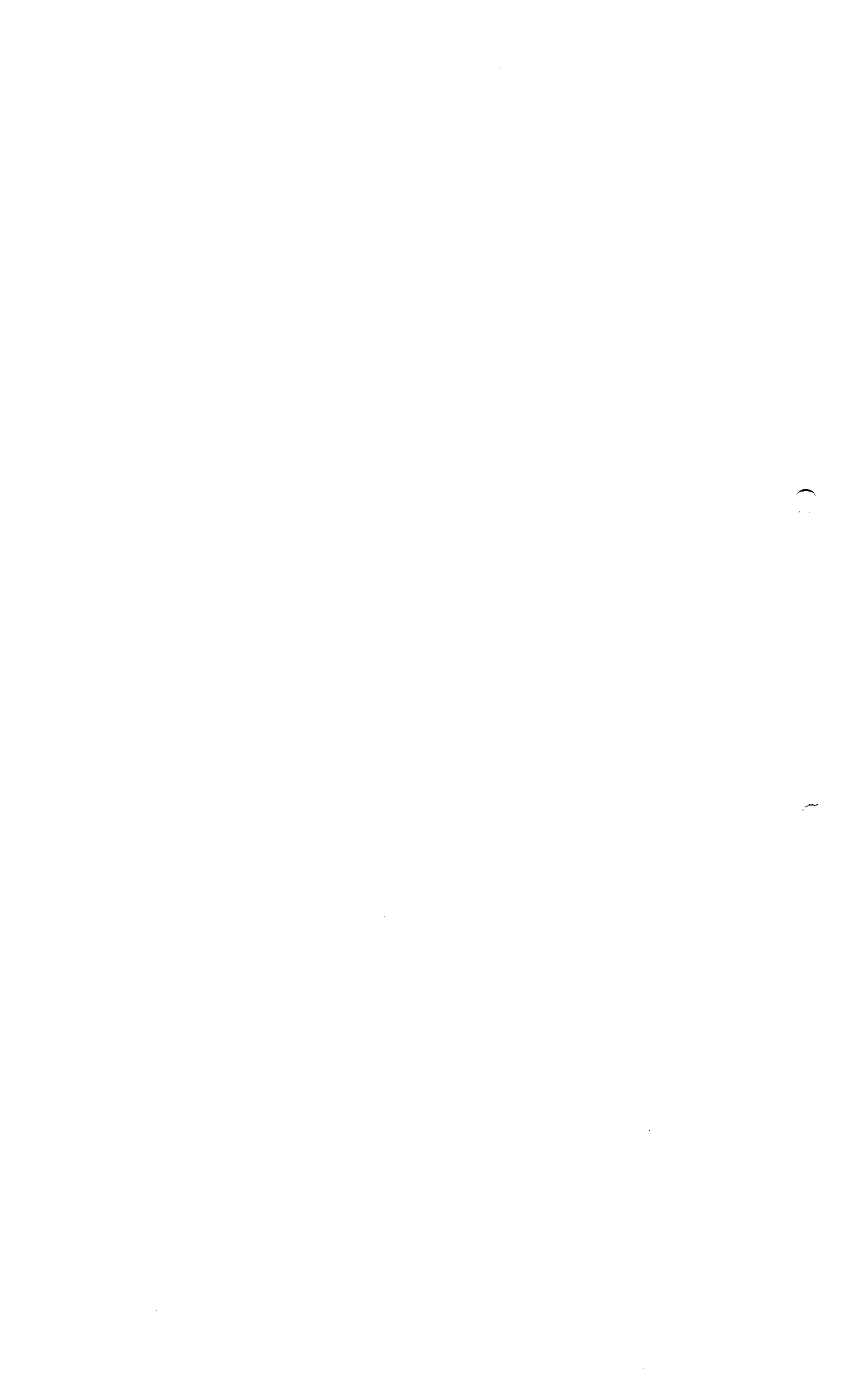
Esta prueba se llevó a cabo en todos los lotes de PFAG elaborados durante el desarrollo de la vacuna para confirmar la ausencia de toxinas diftéricas o tetánicas residuales (vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes y 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad).

Como los resultados han sido satisfactorios durante el desarrollo y demuestran la uniformidad del proceso, de conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur, la prueba de toxicidad específica no se seleccionó como prueba de liberación.

### 3.4 Toxicidad anormal

Esta prueba se realizó en todos los lotes de producto llenado y en 3 lotes de PFAG elaborados durante el desarrollo de la vacuna para confirmar la ausencia de toxinas tetánicas o diftéricas residuales (vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes).

Como los resultados han sido satisfactorios durante el desarrollo, la prueba de toxicidad anormal no se seleccionó como prueba de liberación.





### 3.5 PT no adsorbido y FHA no adsorbida mediante ELISA

Esta prueba se realizó en los estudios de estabilidad de 6 lotes de producto llenado con la formulación inicial (elaborados en Francia) y 3 lotes de PFAG con la formulación mejorada (vea 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad).

En cada lote, la concentración de PTxd no adsorbido y FHA no adsorbida obtenida se encuentra por debajo del límite de cuantificación ( $< 2,5 \mu\text{g/mL}$ ). Como el principio activo de la vacuna contra la tos ferina de Hexaxim es adsorbido totalmente y de manera uniforme en todos los lotes (no se produce desorción durante la vida útil), la prueba de porcentaje de adsorción de PTxd/FHA no se considera un parámetro clínico y no se seleccionó como prueba de liberación.

### 3.6 Porcentaje de adsorción - IPV

Esta prueba no se seleccionó como prueba de liberación ya que el nivel de adsorción de IPV no se consideró un parámetro clave para la definición de la formulación de Hexaxim (vea 3.2.P.2.2 Producto medicinal). No existe relación entre el nivel de adsorción del antígeno de IPV y su inmunogenicidad.

### 3.7 Irreversibilidad del toxoide pertúsico

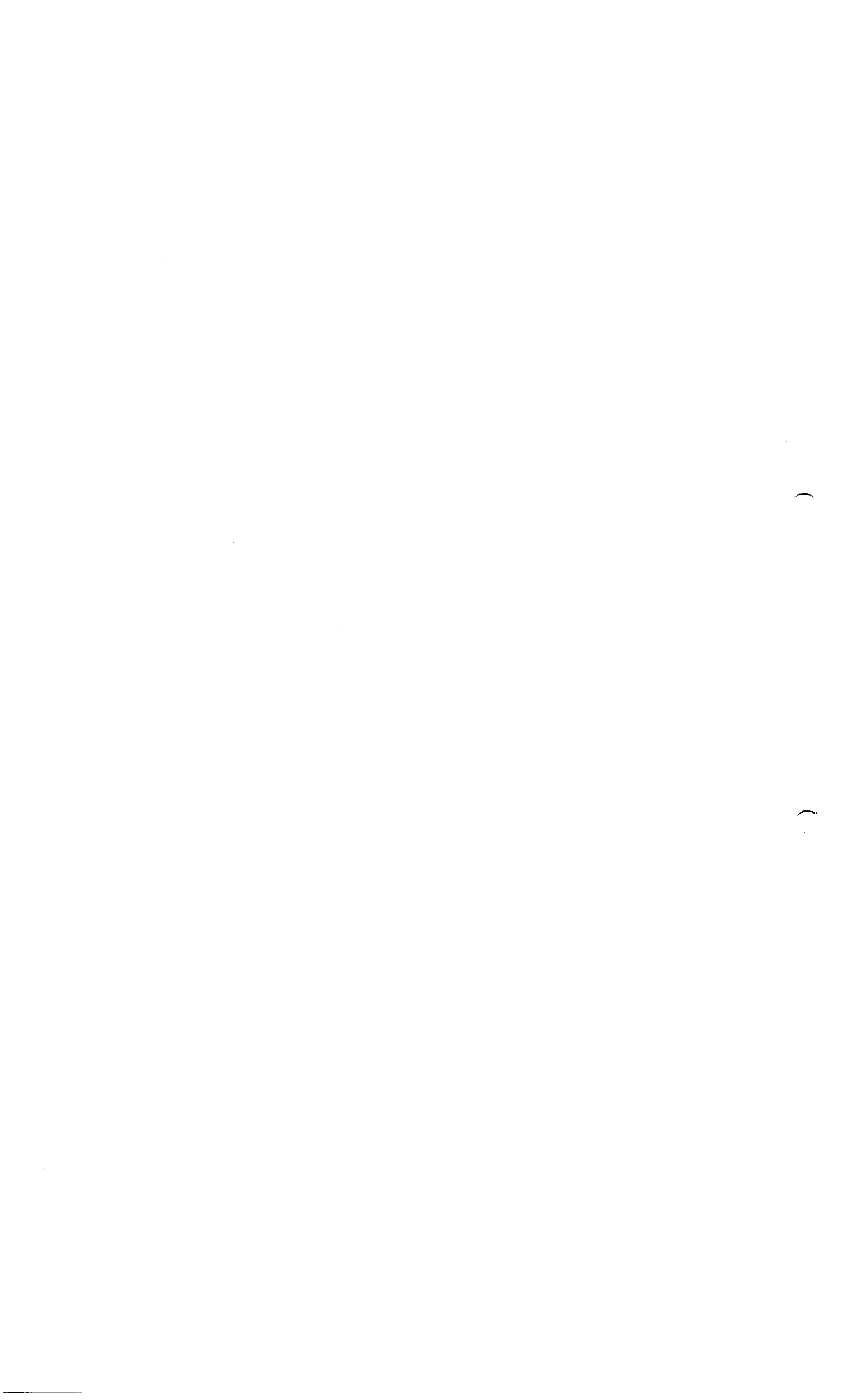
Se evaluó la irreversibilidad del toxoide pertúsico en 3 lotes con la formulación mejorada para demostrar la uniformidad de la producción (vea 3.2.P.5.4 Análisis de lotes).

Además, esta prueba se realiza de manera rutinaria en el toxoide pertúsico purificado, que es una etapa intermedia del principio activo de la vacuna contra la tos ferina acelular (vea 3.2.S.2.4 Control de los pasos críticos e intermedios, sección Principio activo de la vacuna contra la tos ferina).

Por motivos éticos y puesto que el TRS 878, Anexo 2, lo permite, la prueba de irreversibilidad del toxoide pertúsico no se realizará en los productos comercializados. Además, esto está en consonancia con el perfil de liberación aplicado a Tetravac.

### 3.8 Contenido de endotoxinas

La prueba de pirógenos de la farmacopea se mantiene como prueba de liberación hasta que sanofi pasteur adquiera experiencia suficiente con el ensayo de cuantificación de endotoxinas, que es más apropiado.





S 3.2.P.6

**3.2.P.6**

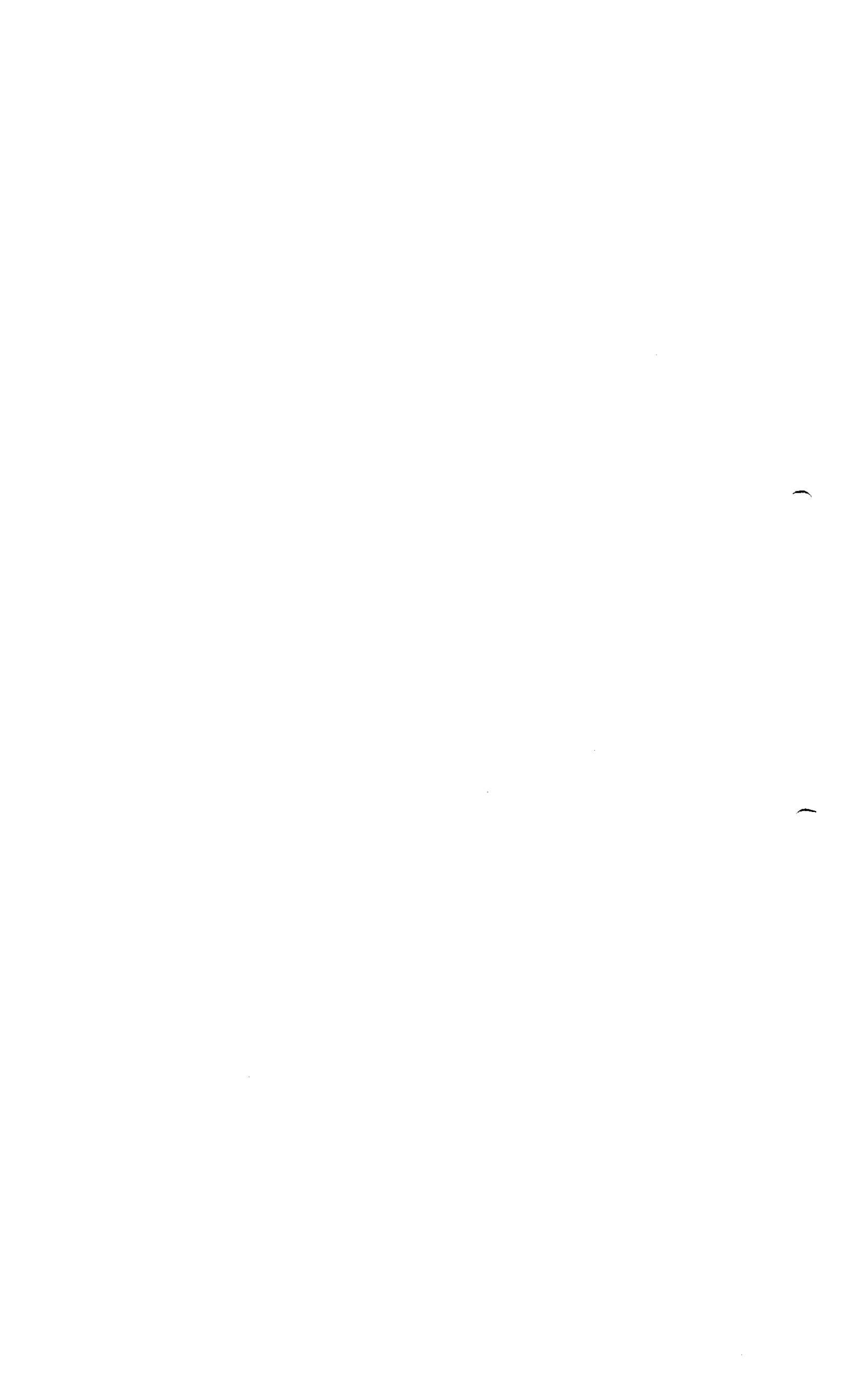
Item 10.2.4 ✓

**Estándares o Materiales de Referencia**

1.2 Vac

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SAMOEL PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
PRODERADO  
SAMOEL PASTEUR S.A.

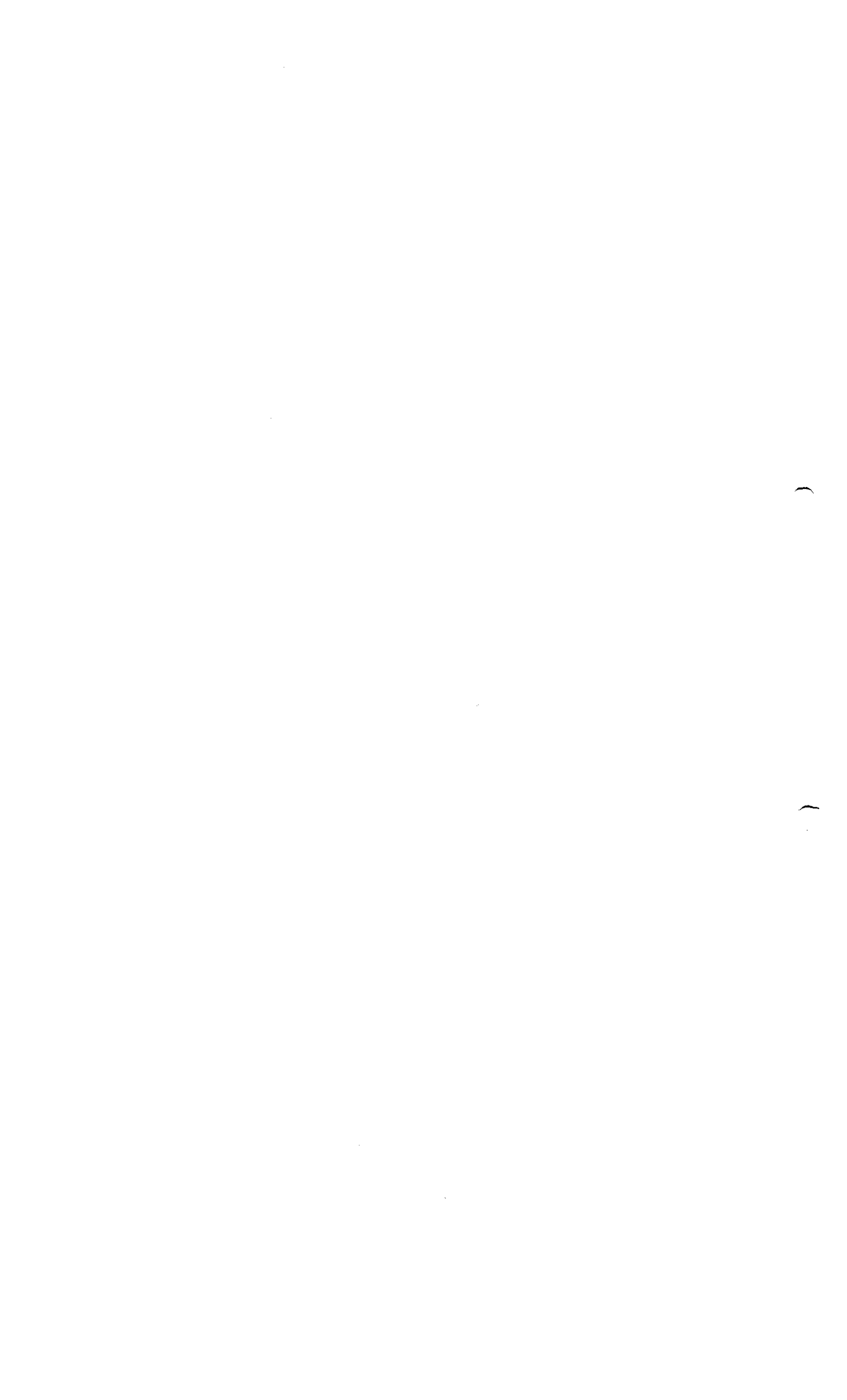




## Sección 3.2.P.6 - Estándares o materiales de referencia

### Índice

1	Estándares de referencia del producto final a granel .....	2
1.1	Contenido de formaldehído libre .....	2
1.2	PRP no adsorbido y PRP despolimerizado .....	2
1.3	Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico .....	2
1.4	Porcentaje de adsorción de la hepatitis B .....	3
1.5	Potencia diftérica (prueba de desafío en cobayos).....	3
1.6	Potencia tetánica (prueba de desafío en ratones) .....	3
1.7	Inmunogenicidad contra pertussis (prueba de inmunogenicidad en ratones) .....	3
1.8	Contenido de antígeno D .....	4
1.9	Potencia relativa <i>in vitro</i> de la hepatitis B (IVRP) .....	4
2	Estándares de referencia del producto llenado .....	5
2.1	Contenido de aluminio .....	5
2.2	Identidad de la difteria (método de Ouchterlony).....	5
2.3	Identidad del tétanos (método de Ouchterlony).....	5
2.4	Identidad de pertussis (método de Ouchterlony) .....	5
2.5	Identidad de la poliomiелitis (método ELISA).....	6
2.6	Identidad de Haemophilus (método de Ouchterlony).....	6





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

Los estándares de referencia se describen en el párrafo siguiente. Se incluyen ejemplos de certificados de análisis si están disponibles.

## 1 Estándares de referencia del producto final a granel

### 1.1 Contenido de formaldehído libre

El estándar de referencia utilizado para determinar el contenido de formaldehído libre en cada muestra es una solución de formaldehído preparada a partir de una solución madre de formaldehído al 40% m/V aproximadamente, suministrada por un proveedor externo.

La solución madre se almacena a temperatura ambiente, mientras que la solución preparada internamente se almacena a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Sanofi Pasteur puede utilizar proveedores alternativos que dispongan de una cualificación satisfactoria.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 1.2 PRP no adsorbido y PRP despolimerizado

El estándar de referencia utilizado para determinar el contenido de PRP no adsorbido y el porcentaje de PRP despolimerizado en la vacuna es un granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus influenzae* tipo b interno.

Este estándar se almacena a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 1.3 Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico

El estándar de referencia utilizado para determinar el porcentaje de adsorción del toxoide diftérico es el lote de granel de toxoide diftérico purificado interno usado para la formulación del lote de la vacuna que se analiza.

La necesidad de utilizar como estándar de referencia el lote de granel de toxoide usado para la formulación del lote de la vacuna que se analiza se determinó durante el desarrollo de la prueba. Se basa en la observación siguiente: no todos los lotes de graneles de toxoide muestran respuestas a las dosis equivalentes por el método Rocket. Además, como el porcentaje de adsorción se calcula como la relación entre el contenido de toxoide diftérico en el sobrenadante y el contenido teórico total, la cuantificación en el sobrenadante debe tener en cuenta cualquier posible impacto que pueda tener la naturaleza del lote de toxoide en el método de cuantificación.





Este estándar se almacena a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 1.4 Porcentaje de adsorción de la hepatitis B

El lote de referencia estándar utilizado para determinar el porcentaje de adsorción de la hepatitis B es un lote clínico de Hexaxim.

Este estándar se almacena a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se controla mediante un gráfico de control.

La cualificación de futuros estándares de referencia no clínicos se realizará mediante la comparación estadística de un estándar de referencia clínico y el estándar de referencia no clínico que se desea cualificar.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

#### 1.5 Potencia diftérica (prueba de desafío en cobayos)

El estándar de referencia utilizado en la prueba de potencia diftérica es una vacuna antidiftérica adsorbida adquirida a la Dirección Europea para la Calidad de los Medicamentos (EDQM).

Este estándar se almacena a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se controla mediante un gráfico de control.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

#### 1.6 Potencia tetánica (prueba de desafío en ratones)

El estándar de referencia utilizado en la prueba de potencia tetánica es una vacuna antitetánica adsorbida adquirida a la EDQM.

Este estándar se almacena a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se controla mediante un gráfico de control.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

#### 1.7 Inmunogenicidad contra pertussis (prueba de inmunogenicidad en ratones)

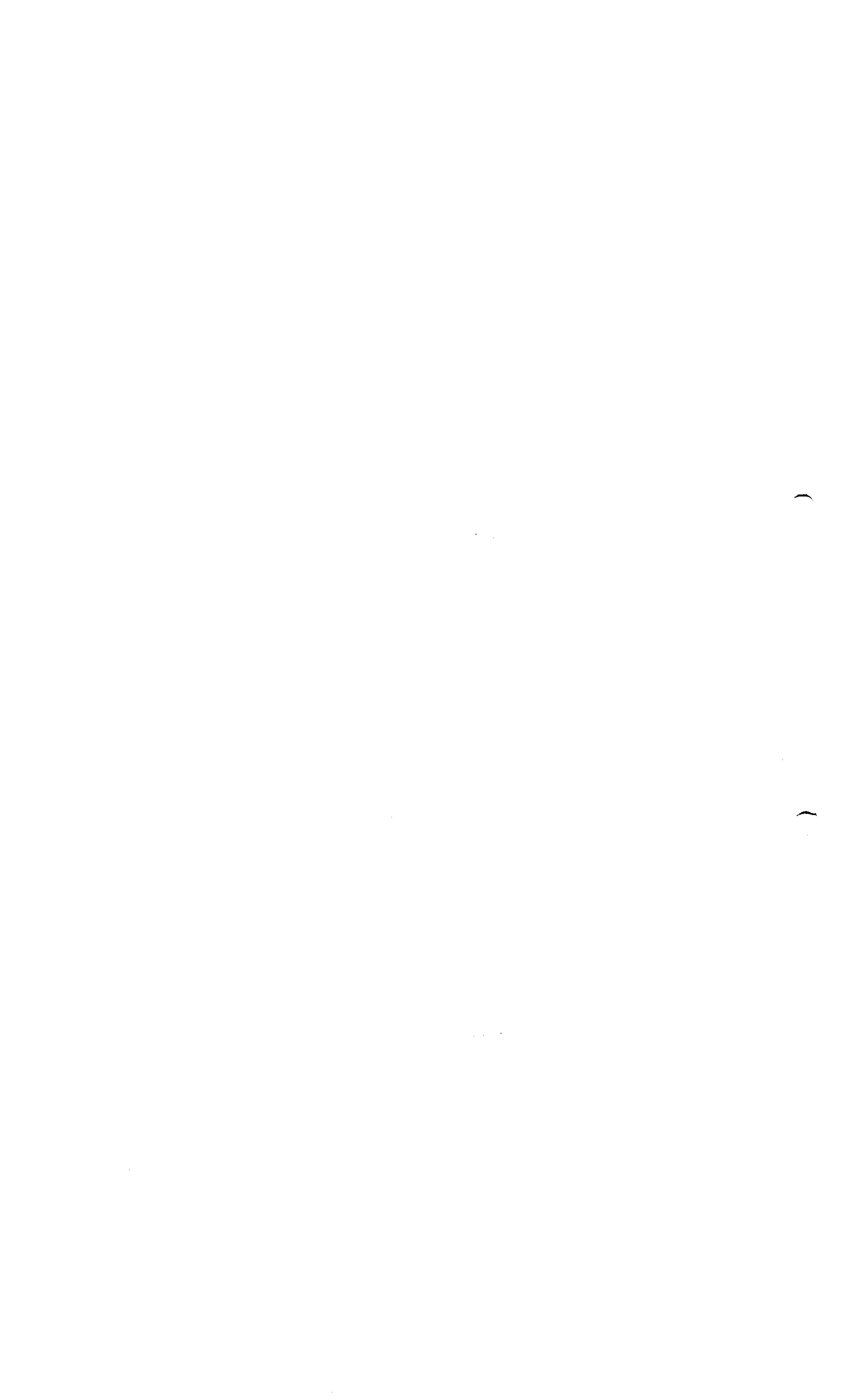
La prueba de inmunogenicidad contra la tos ferina incluye dos referencias:

- La estándar de referencia y
- La vacuna de referencia.

El estándar de referencia (referencia de calibración) permite generar una curva de referencia gracias a la cual puede calcularse la concentración de las muestras. El estándar de referencia es un antisuero de ratón de *Bordetella pertussis* adquirido a la EDQM.

Este estándar se almacena a  $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se controla mediante un gráfico de control.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.



La vacuna de referencia se utiliza durante la etapa de inmunización y permite evaluar la conformidad del lote. La vacuna de referencia es un lote clínico de Hexaxim.

Se almacena a +5°C y se controla mediante un gráfico de control.

La cualificación de los nuevos estándares de referencia se realiza mediante una comparación estadística del estándar de referencia actual y el estándar de referencia que se desea cualificar.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis de la vacuna de referencia.

### 1.8 Contenido de antígeno D

El lote de estándar de referencia utilizado para la prueba del contenido de antígeno D es un lote de trivalente interno que se calibra frente a un estándar de referencia europeo (vacuna antipoliomielítica inactivada tipo 1-2-3 lote nº 1 Farmacopea Europea).

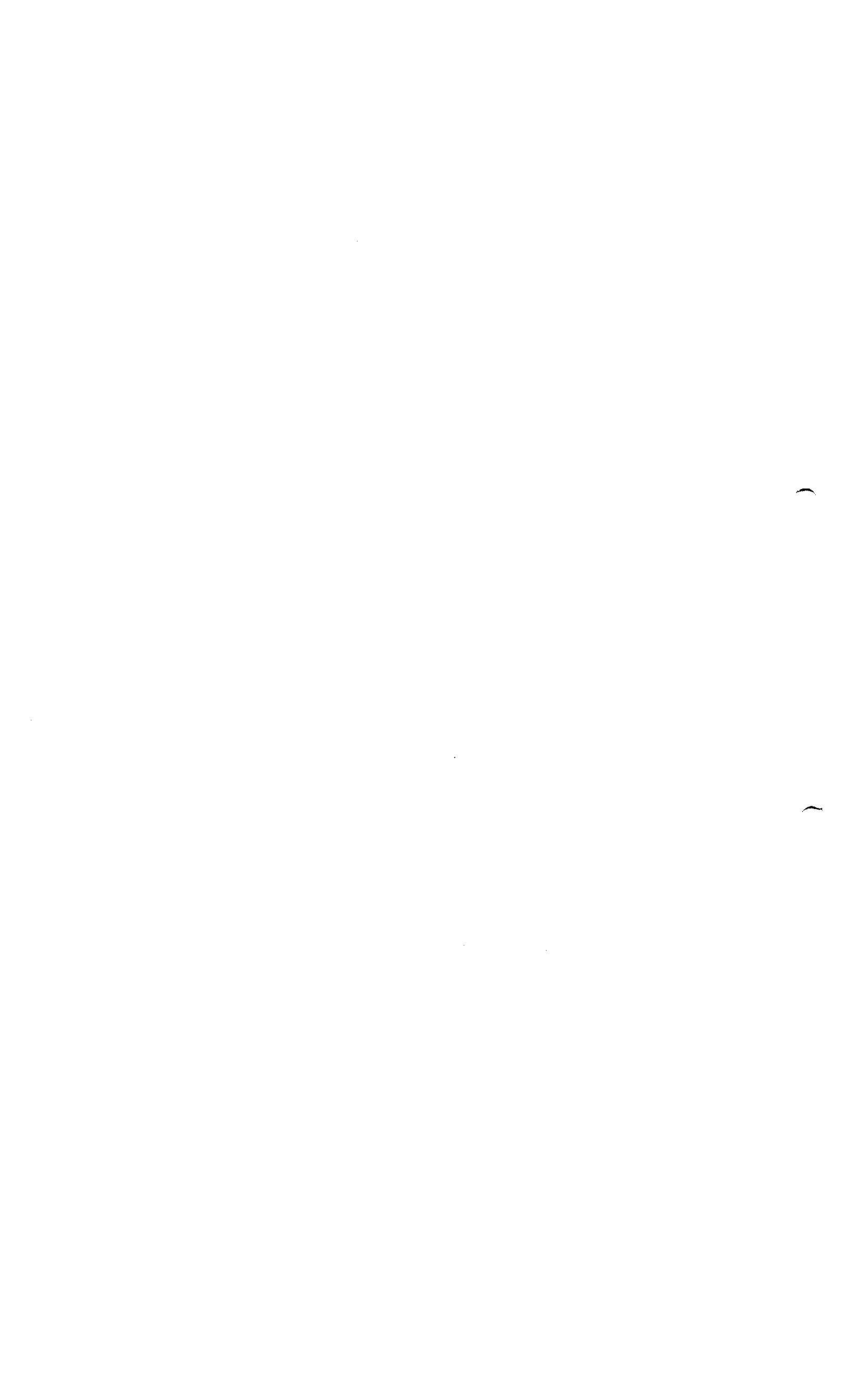
Este estándar se almacena a -70°C y se controla mediante un gráfico de control.

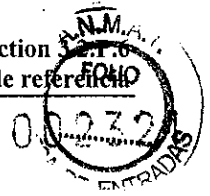
La calibración de los nuevos estándares de referencia se realiza frente al estándar de referencia europeo.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 1.9 Potencia relativa *in vitro* de la hepatitis B (IVRP)

Se utiliza la misma referencia para determinar la potencia relativa *in vitro* de la hepatitis B y el porcentaje de adsorción de la hepatitis B en la vacuna. Vea el párrafo 1.4.





## 2 Estándares de referencia del producto llenado

### 2.1 Contenido de aluminio

El estándar de referencia utilizado para la prueba de contenido de aluminio es una solución de sulfato de cobre suministrada por un proveedor externo.

Se almacena a temperatura ambiente.

Sanofi Pasteur puede utilizar proveedores alternativos que dispongan de una cualificación satisfactoria.

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 2.2 Identidad de la difteria (método de Ouchterlony)

El estándar de referencia utilizado para la identificación del toxoide diftérico fue preparado internamente a partir de un granel de toxoide diftérico purificado.

Se almacena a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 2.3 Identidad del tétanos (método de Ouchterlony)

El estándar de referencia utilizado para la identificación del toxoide tetánico se preparó internamente a partir de un granel de toxoide tetánico purificado.

Se almacena a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

### 2.4 Identidad de pertussis (método de Ouchterlony)

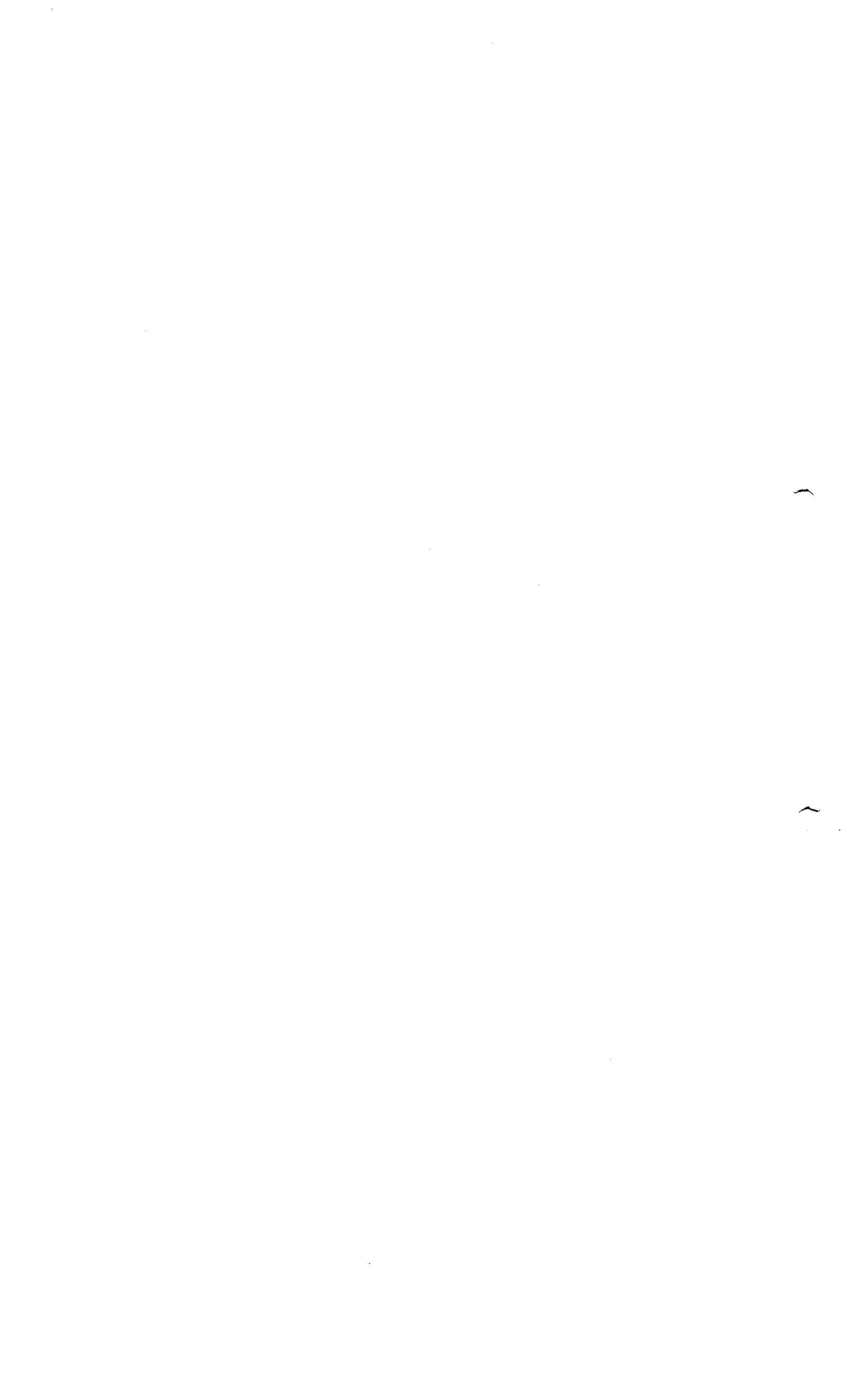
El estándar de referencia utilizado para la identificación de pertussis (PTxd y FHA) son FHA y toxina pertúsica nativas en solución.

Este estándar de referencia se almacena a  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia (PTxd).

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia (FHA).





## 2.5 Identidad de la poliomielitis (método ELISA)

Se utiliza la misma referencia para determinar la identidad de la poliomielitis y el contenido de antígeno D en la muestra. Vea el párrafo 1.8.

## 2.6 Identidad de Haemophilus (método de Ouchterlony)

Se preparó internamente el estándar de referencia utilizado para identificar haemophilus a partir de un lote de vacuna contra haemophilus.

Esta referencia se almacena a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Los futuros estándares de referencia se cualificarán según los procedimientos internos vigentes.

Se proporciona un ejemplo de certificado de análisis del estándar de referencia.

11


12



3.2.P.6

**Certificate of Analysis - Formaldehyde Content External Reference**

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANGRE DACTILO S.A

  
CHRISTIAN D. ...  
SANGRE DACTILO S.A

