



#### 4.1.2.3.2 Análisis

La exactitud se prueba mediante los siguientes pasos, aplicados a los datos de la Tabla 91.

- Los porcentajes de recuperación se calculan para cada nivel de concentración teórica prevista y para cada grupo (media de las series);
- La homogeneidad de las varianzas intraniveles se verifica mediante la prueba de Cochran;
- Cuando se adquiere la homogeneidad, la no significancia de las diferencias entre los niveles de concentración teórica prevista se comprueba con un análisis de varianza;
- Cuando se comprueba la igualdad de las medias entre niveles, se calcula el porcentaje de recuperación promedio global con los límites de confianza del 95 %.

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los niveles de titulación teórica prevista son homogéneas.

El análisis de varianza permite concluir la igualdad de las medias interniveles.

**Tabla 94: Exactitud: porcentaje de recuperación promedio global y límite de confianza del 95 %**

Porcentaje de recuperación	Límites de confianza del 95 %
100%	[99-102]%

Puesto que el porcentaje de recuperación promedio global se encuentra entre el 80% y el 120%, el método es exacto.

#### 4.1.2.4 Precisión

El diseño experimental fue el siguiente:

- Se llevaron a cabo 3 series en condiciones de precisión intermedia: los ensayos se llevaron a cabo de manera independiente utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio, por 3 operadores y en días diferentes.
- En cada serie se realizaron 6 ensayos en condiciones que garantizaban la repetibilidad: los ensayos se llevaron a cabo de manera independiente, utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio, con el mismo equipo, por el mismo operador y el mismo día.

Se utiliza el lote nº FDV01420 para el estudio de precisión.

#### 4.1.2.4.1 Resultados analíticos

El dato sometido a análisis es la concentración de aluminio, expresada en mg/mL.





**Tabla 95: Precisión: concentraciones de aluminio (mg/mL)**

Serie 1	Serie 2	Serie 3
1,23	1,22	1,21
1,24	1,22	1,21
1,22	1,18	1,20
1,22	1,22	1,17
1,21	1,17	1,21
1,22	1,19	1,19

**4.1.2.4.2 Análisis**

La precisión del método se prueba mediante los siguientes pasos, aplicados a los datos de la Tabla 95:

- La homogeneidad de las varianzas intragrupos se verifica mediante la prueba de Cochran;
- Al adquirir la homogeneidad, se calculan los parámetros de repetibilidad y precisión intermedia.

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series son homogéneas.

**Tabla 96: Precisión: características de repetibilidad y precisión intermedia**

Características	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad	1,21 mg/mL, que equivale a 0,60 mg/dosis	1,4%	0,02	/
Características de precisión intermedia con k=1 y n=1		1,7%	0,02	± 0,04 mg/mL, que equivale a ± 0,02 mg/dosis

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es inferior o igual a ± 0,07 mg/dosis, el método es preciso.

**4.1.3 Conclusión**

- El método es específico;
- El método es lineal en el rango: [0,27-1,14] mg/dosis;
- Se demuestra la exactitud en el mismo rango, con una recuperación promedio del 100%;
- El método es preciso con un intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia de ± 0,02 mg/dosis y una media general de 0,60 mg/dosis.

El método es válido para determinar el contenido de aluminio en la vacuna Hexaxim en la etapa de producto llenado.

ROXANA MONTEILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
RECIBIDO  
SANOFI PASTEUR S.A.





**4.2 Identidad de cada valencia: difteria, tétanos, tos ferina, poliomielitis, hepatitis B y Haemophilus (Luminex)**

**4.2.1 Panorama**

Como parte de las BPM, este estudio presenta los resultados de la validación de las pruebas de identidad de las valencias PDT, PTT, FHA, PTxd, HBsAg y PRPC en las combinaciones de la vacuna.

El laboratorio de inmunología ha desarrollado una técnica de multiplex (tecnología Luminex) para la identificación de PDT, PTT, FHA, PTxd, IPV, HBsAg y PRPC en la vacuna Hexaxim en la etapa de producto llenado.

El principio del ensayo multiplex se basa en un sistema de siete microesferas, cada una de las cuales tiene una fluorescencia diferente: el procesador del citómetro de flujo es capaz de clasificar las microesferas según su fluorescencia. Las microesferas están unidas a un anticuerpo específico que reacciona con un único antígeno específico. El antígeno capturado de las muestras de prueba se detecta mediante la adición de un segundo anticuerpo conjugado con biotina. La estreptavidina ligada a ficoeritrina se une a la biotina. A continuación, se realiza la lectura con láser de doble detección: un láser rojo permite clasificar adecuadamente la microesfera y un láser verde permite identificar el antígeno capturado mediante la lectura de la fluorescencia asociada a la unión de estreptavidina ligada a ficoeritrina.

Como el método a validar es una prueba de identificación, la característica que debe examinarse es la especificidad.

Los resultados de la validación se resumen en la Tabla 97 y la Tabla 98:

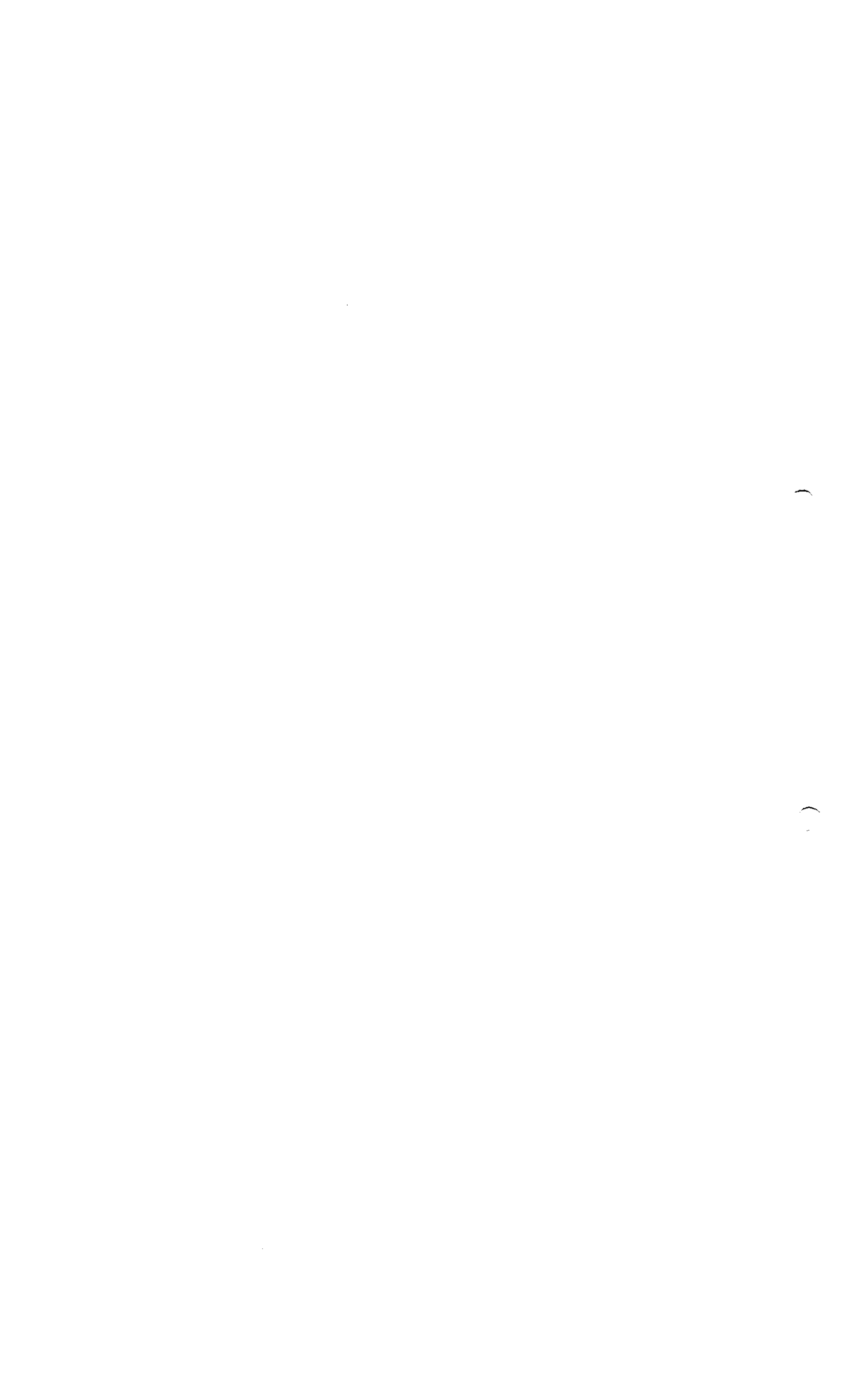
**Tabla 97: Especificación de la vacuna Hexaxim**

Vacuna	Antígeno identificado						
	PTT	PDT	PRPC	PT	FHA	HBS	IPV
Hexaxim	+	+	+	+	+	+	+

Significado:

+ = Presencia del antígeno

- = Ausencia del antígeno





**Tabla 98: Identificación de cada valencia por el método Luminex, resumen de validación**

Características	Criterios de aceptabilidad	Nombre	Resultados para cada valencia						
			PTT	PDT	PRPC	PTxd	FHA	HBsAg	IPV
Especificidad	Identificación positiva si la intensidad de la fluorescencia de la valencia es > 2000  Identificación negativa si la intensidad de la fluorescencia de la valencia es ≤ 2000	Hexaxim	+	+	+	+	+	+	+
		Control positivo	+	+	+	+	+	+	+
		Control negativo	-	-	-	-	-	-	-

Significado:

+ = Presencia del antígeno

- = Ausencia del antígeno

La técnica es válida para la identificación de PDT, PTT, FHA, PTxd, IPV, HBsAg y PRPC en la vacuna Hexaxim.

#### 4.2.2 Resultados

##### 4.2.2.1 Especificidad

La validación fue realizada por un operador en 1 ensayo.

Se formularon siete matrices experimentales como si fueran una vacuna, pero en cada una de ellas faltaba un antígeno. Estas matrices constituyen un control negativo para cada uno de los siete antígenos.

La intensidad de la fluorescencia se midió para:

- El control positivo, combinación de vacunas diluidas a 1/50 y 1/1000;
- Los controles negativos, las 7 matrices diluidas a 1/50 y 1/1000.

Los resultados se resumen en la Tabla 99.





Tabla 99: Resultados obtenidos para el control positivo y los controles negativos

Nombre	Antígeno						
	PTT 1/1000	PDT 1/1000	PRPC 1/1000	PT 1/50	FHA 1/50	HBs 1/1000	IPV 1/50
Control positivo	+	+	+	+	+	+	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin PDT, lote BBO09-080	+	-	+	+	+	+	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin FHA, lote BBO09-084	+	+	+	+	-	+	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin PT, lote BBO09-083	+	+	+	-	+	+	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin PRPC, lote BBO09-082	+	+	-	+	+	+	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin HBs, lote BBO09-081	+	+	+	+	+	-	+
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin IPV1, IPV2, IPV3; lote: BBO10-103	+	+	+	+	+	+	-
Formulación mejorada de la combinación de vacunas Hexaxim sin PTT y PRPc con PRP-AH, lote BBO09-078	-	+	+	+	+	+	+

Significado: +: Presencia de antígeno      -: Ausencia de antígeno

PRP-AH: corresponde al PRP tras el paso de activación

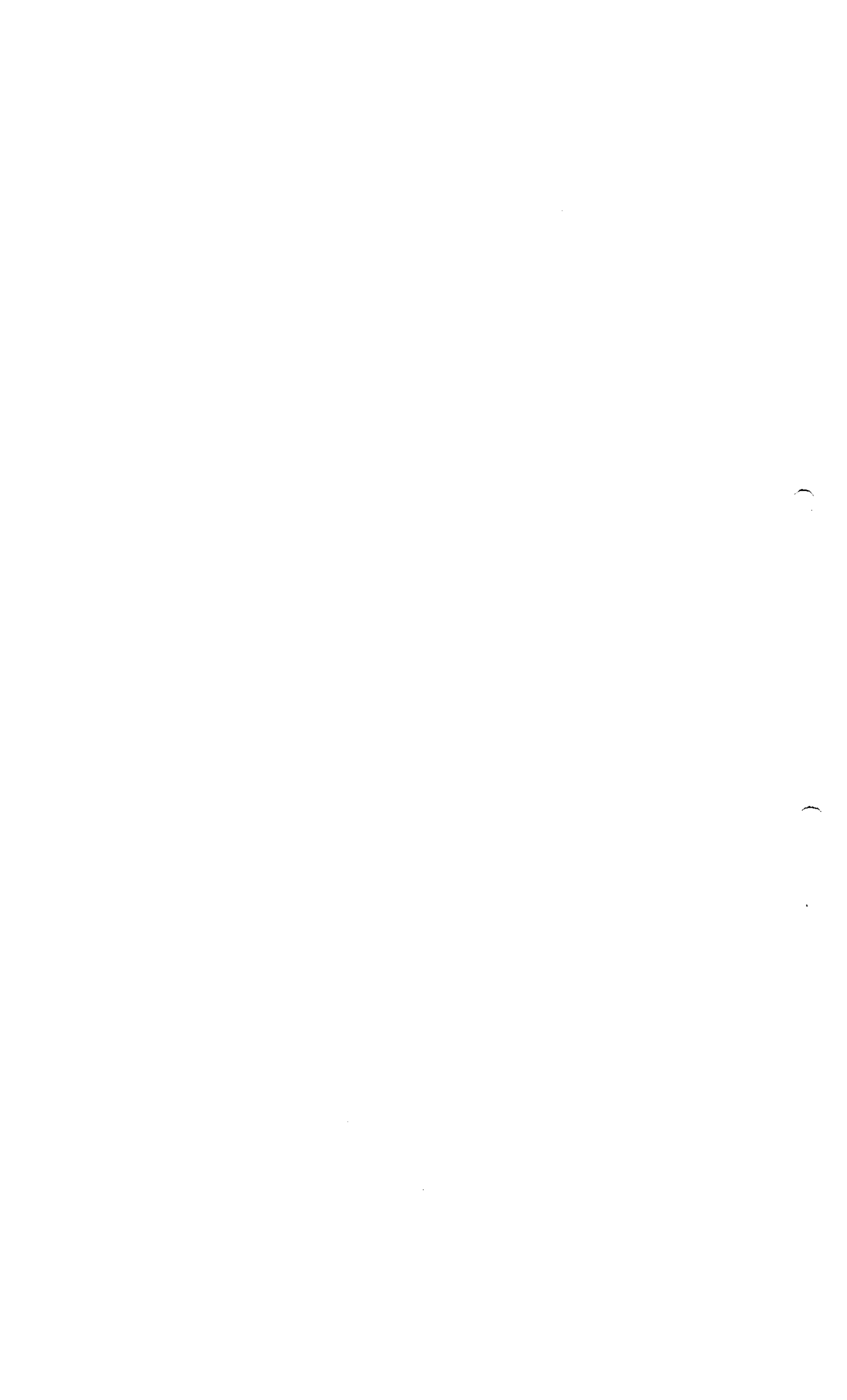
#### 4.2.2.2 Aplicación a la vacuna Hexaxim

Este método se aplicó a los lotes de vacunas Hexaxim.

Los resultados se resumen en la Tabla 100.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
ENCARGADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





**Tabla 100: Resultados de la vacuna Hexaxim**

Nombre	Antígeno						
	PTT 1/1000	PDT 1/1000	PRPC 1/1000	PTxd 1/50	FHA 1/50	HBsAg 1/1000	IPV 1/50
Formulación mejorada de la vacuna Hexaxim: S4312	+	+	+	+	+	+	+
Formulación mejorada de la vacuna Hexaxim: S4313	+	+	+	+	+	+	+
Formulación mejorada de la vacuna Hexaxim: S4314	+	+	+	+	+	+	+

Significado:

+ = Presencia del antígeno

- = Ausencia del antígeno

#### 4.2.3 Conclusión

El control negativo (matriz sin uno de cada antígeno) es negativo.

El control positivo que contiene todos los antígenos es positivo.

El método de identificación mediante el método Luminex es específico.

El procedimiento es válido para la identificación de PDT, PTT, FHA, PTxd, IPV, HBsAg y PRPC en la formulación mejorada de la vacuna Hexaxim.

#### 4.3 Identidad de la difteria, tétanos, tos ferina (PTxd y FHA) y Haemophilus (Ouchterlony)

##### 4.3.1 Panorama

Como parte de las Buenas Prácticas de Manufactura, este estudio describe la validación del método de identificación de Ouchterlony aplicable a las valencias de tétanos (PTT), difteria (PDT), pertussis acelular de 2 componentes (FHA y PTxd) y *haemophilus influenzae* (PRPC) en la vacuna Hexaxim en la etapa de producto llenado.

El antígeno y el anticuerpo se difunden en gel de agarosa. Se establece un gradiente de concentración de los 2 reactantes que promueven la inmunoprecipitación del completo antígeno-anticuerpo a raíz de su difusión.

La formación de un arco de precipitina permite identificar el antígeno de la vacuna.

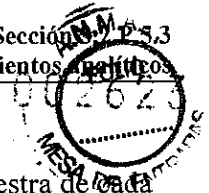
La identificación puede ser positiva o negativa.

La especificidad es la característica evaluada durante las pruebas de validación de la identificación.

  
ROXANA MONTEILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
LABORATORIO  
SANOFI PASTEUR S.A.







El resultado previsto en las pruebas de rutina es una identificación positiva de la muestra de cada antisuero analizado (difteria, tétanos, FHA, PTxd y haemophilus).

Los resultados de la validación se resumen en la Tabla 101.

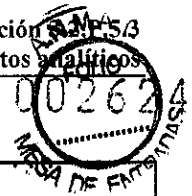
**Tabla 101: Resumen de la validación de Ouchterlony**

Características	Criterio de aceptación de la validación	Principio
Especificidad de la valencia del <b>tétanos</b> Muestra desorbida en solución de citrato de trisodio al 10%	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero tetánico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la del tétanos, y el antisuero tetánico.	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero tetánico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la del tétanos, y el antisuero tetánico.
Especificidad de la valencia del <b>tétanos</b> Muestra desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10)	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero tetánico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la del tétanos, y el antisuero tetánico.	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero tetánico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la del tétanos, y el antisuero tetánico.
Especificidad de la valencia de la <b>difteria</b> Muestra desorbida en solución de citrato de trisodio al 10%	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero diftérico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de difteria, y el suero diftérico	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero diftérico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de difteria, y el suero diftérico
Especificidad de la valencia de la <b>difteria</b> Muestra desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10)	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero diftérico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de difteria, y el suero diftérico	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero diftérico Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de difteria, y el suero diftérico
Especificidad de la valencia de <b>FHA pertussis acelular</b> Muestra desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de FHA Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de FHA, y el antisuero de FHA	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de FHA Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de FHA, y el antisuero de FHA
Especificidad de la valencia de <b>PTxd pertussis acelular</b> Muestra desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de PT Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de PT, y el antisuero de PT	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de PT Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de PT, y el antisuero de PT
Especificidad de la valencia de <b>Haemophilus influenzae</b> Muestra no centrifugada	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de antisuero de haemophilus Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de haemophilus, y el antisuero de haemophilus	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de antisuero de haemophilus Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de haemophilus, y el antisuero de haemophilus

  
 ROXANA MONTEMILOME  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

  
 CHRISTIAN DUMINAUE  
 SECRETARIO  
 SANOFI PASTEUR S.A.





Características	Criterio de aceptación de la validación	Principio
Especificidad de la valencia de <i>Haemophilus influenzae</i>	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de antisuero de haemophilus	Presencia de un arco de precipitina entre la muestra y el antisuero de antisuero de haemophilus
Sobrenadante de centrifugación de la muestra	Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de haemophilus, y el antisuero de haemophilus	Ausencia de una línea de precipitina entre la muestra, que contiene todas las valencias excepto la de haemophilus, y el antisuero de haemophilus

El método es específico. Por consiguiente, el método es válido para probar la identificación de las muestras en la etapa de producto llenado.

#### 4.3.2 Resultados

##### 4.3.2.1 Diseño experimental

Para cada valencia analizada, se prepara una placa para examinar:

- La reacción entre el antisuero (homólogo a la valencia analizada) y la muestra (lote de Hexaxim S4112);
- La ausencia de reacción entre el antisuero y la muestra que contiene todas las valencias excepto la analizada.

Para la identificación de las valencias de difteria y tétanos, se prepara una muestra de Hexaxim y una muestra sin la valencia de interés de conformidad con dos procedimientos operativos, utilizando 2 soluciones de desorción propuestas en el método. Ambos procedimientos operativos se aplican paralelamente utilizando la misma placa.

Para la identificación de PRPC, se prepara una muestra de Hexaxim y una muestra sin la valencia de interés de conformidad con los 2 procedimientos operativos, con y sin centrifugado (10 minutos a 900 g). Ambos procedimientos operativos se aplican paralelamente utilizando la misma placa.

##### 4.3.2.2 Identificación del principio activo del tétanos

Los resultados cumplen con los criterios de validez de la instrucción que se describe en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

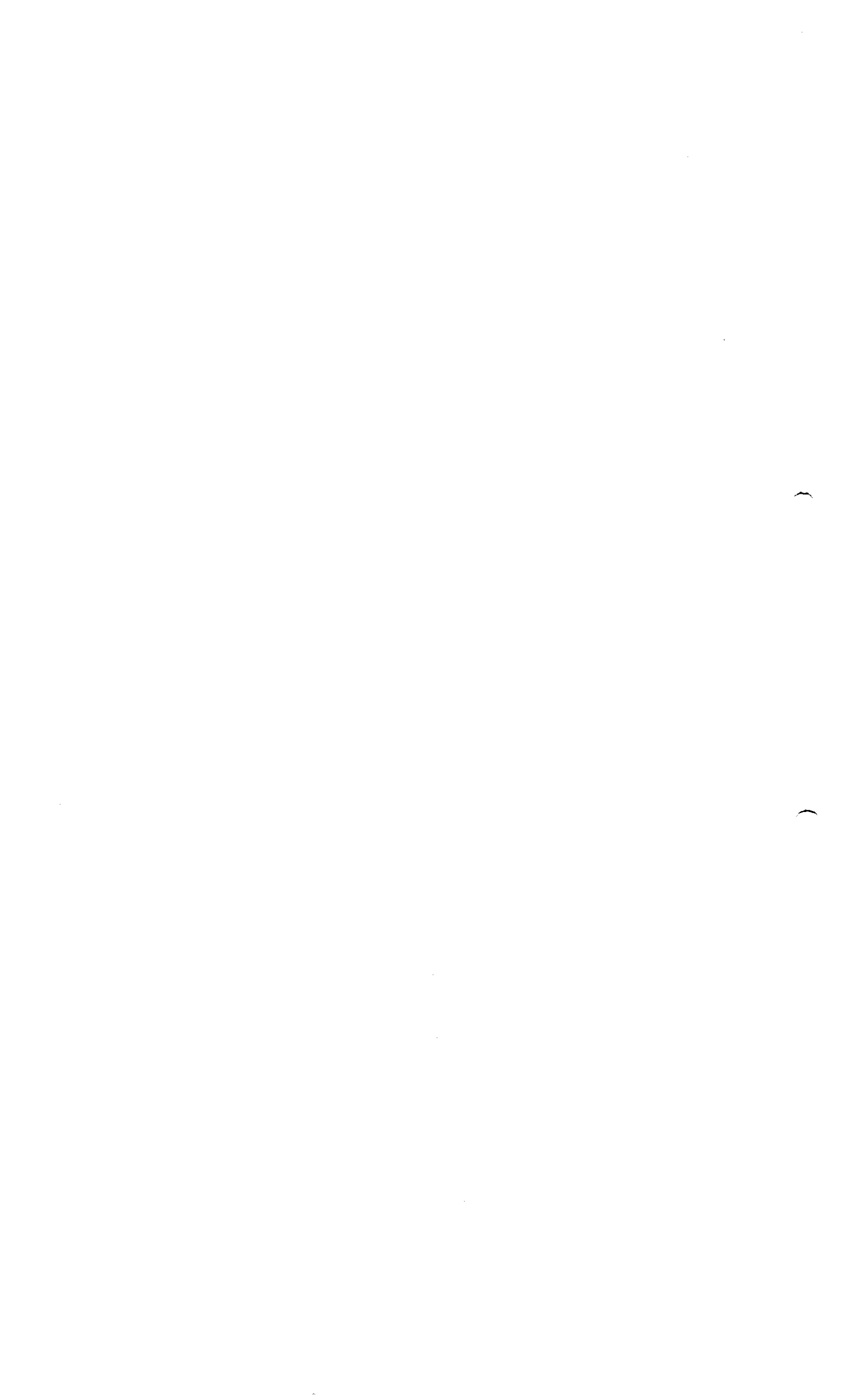
Aparece un arco de precipitina entre el antisuero tetánico y:

- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de citrato de trisodio al 10%;
- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10);
- La referencia del tétanos.

La presencia de un arco de precipitina indica la identificación positiva del tétanos.

No aparece un arco de precipitina entre el antisuero tetánico y:

- La matriz de Hexaxim (sin tétanos) desorbida en una solución de citrato de trisodio al 10%;





- La vacuna Hexaxim (sin tétanos) desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10).  
La ausencia de arcos de precipitina indica la especificidad de la identificación del tétanos.

#### 4.3.2.3 Identificación del principio activo de la difteria

Los resultados cumplen con los criterios de validez de la instrucción que se describe en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

Aparece un arco de precipitina entre el antisuero diftérico y:

- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de citrato de trisodio<sup>a</sup> al 10%;
- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10);
- La referencia de la difteria.

La presencia de arcos de precipitina indica la identificación positiva de la difteria.

No aparece un arco de precipitina entre el antisuero diftérico y:

- La matriz de Hexaxim (sin difteria) desorbida en solución de citrato de trisodio al 10%;
- La matriz de Hexaxim (sin difteria) desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10).

La ausencia de arcos de precipitina indica la especificidad de la identificación del tétanos.

#### 4.3.2.4 Identificación del principio activo de FHA

Los resultados cumplen los criterios de validez de la instrucción descrita en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

Aparece un arco de precipitina entre el antisuero de FHA y:

- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%
- La referencia de FHA.

La presencia de arcos de precipitina indica la identificación positiva de FHA.

No aparece un arco de precipitina entre el antisuero de FHA y:

- La matriz de Hexaxim (sin FHA) desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%.

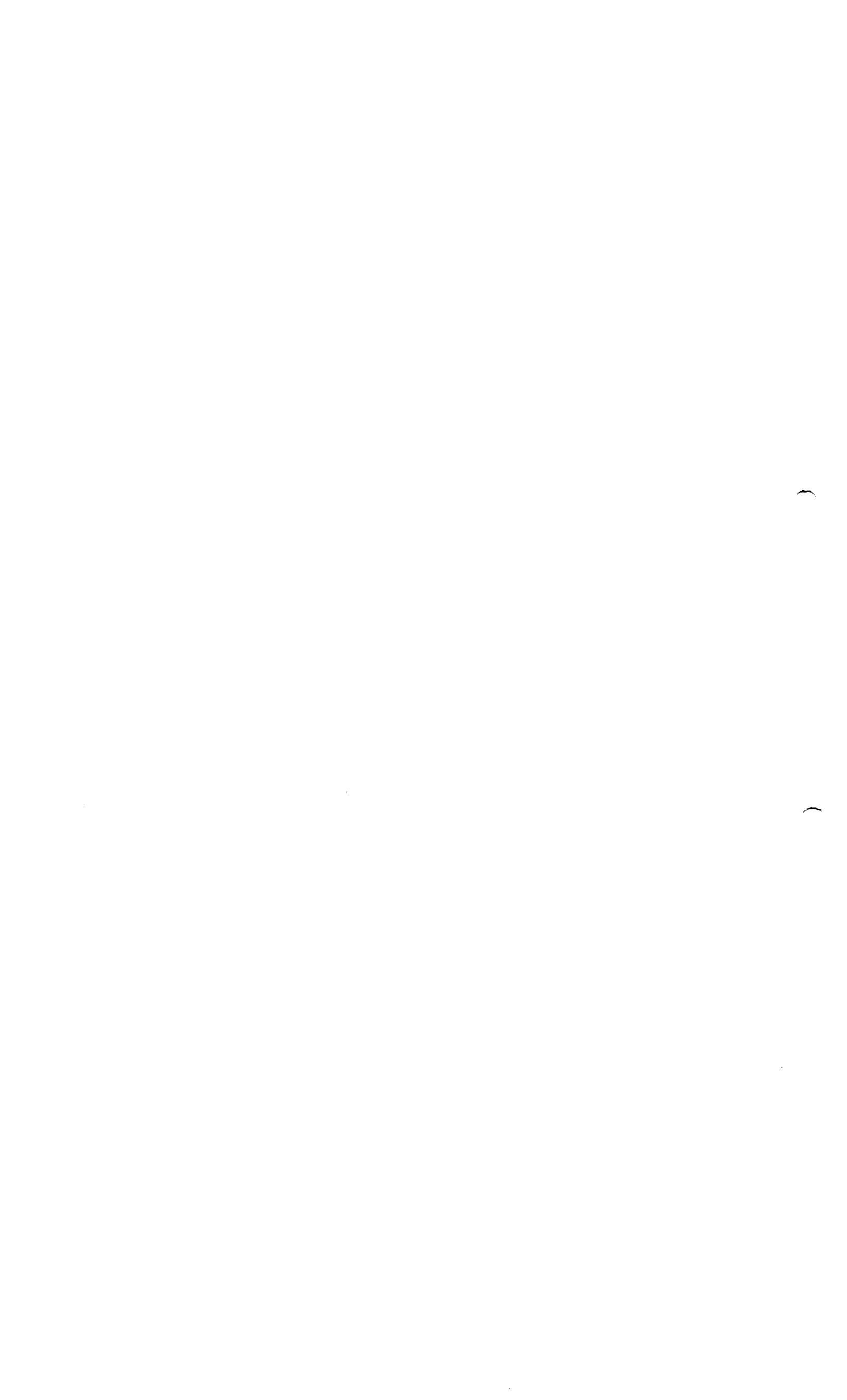
La ausencia de un arco de precipitina indica la especificidad de la identificación de FHA.

#### 4.3.2.5 Identificación del principio activo de PTxd

Los resultados cumplen los criterios de validez de la instrucción descrita en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

Aparece un arco de precipitina entre el antisuero de la toxina y:

- La vacuna Hexaxim desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%





- La referencia de la toxina.

La presencia de un arco de precipitina indica la identificación positiva de PT.

No aparece un arco de precipitina entre el antisuero de la toxina y:

- La matriz de Hexaxim (sin PT) desorbida en solución de tetraborato disódico al 5% (pH 10) + BSA 0,5%.

La ausencia de un arco de precipitina indica la especificidad de la identificación de PT.

#### 4.3.2.6 Identificación del principio activo de *Haemophilus influenzae*

Los resultados cumplen los criterios de validez de la instrucción descrita en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

Aparece un arco de precipitina entre el antisuero de haemophilus y:

- La vacuna Hexaxim (no centrifugada);
- El sobrenadante de centrifugación de la vacuna Hexaxim;
- La referencia de haemophilus.

La presencia de un arco de precipitina indica la identificación positiva de PRPC.

No aparecen arcos de precipitina entre el antisuero de haemophilus y:

- La matriz de Hexaxim sin PRPC (no centrifugada);
- El sobrenadante de centrifugación de la matriz de Hexaxim (sin PRPC).

La ausencia de un arco de precipitina indica la especificidad de la identificación de PRPC.

Dado que la centrifugación de la muestra no mejora de manera significativa el resultado (nitidez e intensidad del arco), se seleccionó el procedimiento operativo sin centrifugación.

#### 4.3.3 Conclusión

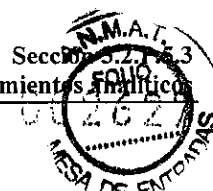
Los resultados de las pruebas realizadas en la vacuna Hexaxim fueron los esperados: "identidad positiva de la muestra para cada uno de los antisueros analizados (difteria, tétanos, FHA, PTxd y *Haemophilus influenzae*)".

Además, las pruebas demostraron la ausencia de arcos de precipitina entre los antisueros tetánico, diftérico, FHA, PTxd y *Haemophilus influenzae*, y los antígenos heterólogos.

El método es específico y válido.

El método de Ouchterlony para la identificación de las valencias de tétanos, difteria, pertussis acelular (FHA y PTxd) y *Haemophilus influenzae* en la vacuna Hexaxim es aplicable en la etapa de producto llenado.





#### 4.4 Identidad de la poliomielitis (ELISA)

El método utilizado para identificar la poliomielitis es idéntico al método utilizado para determinar el contenido de antígeno D en la vacuna. El informe de validación de este método se presenta en el apartado 3.5.

#### 4.5 Identidad de la hepatitis B (ELISA)

El método ELISA utilizado para identificar el antígeno de hepatitis B es similar al método ELISA utilizado para determinar el contenido de HBsAg. Por tanto, la validación de la prueba de identidad de la hepatitis B se basa en los datos sin procesar generados para la validación del contenido de antígeno de hepatitis B mediante ELISA, que se describe en el apartado 3.4.

##### 4.5.1 Panorama

De conformidad con la guía de la ICH y como parte de las BPM, este estudio describe la validación de la prueba de identidad del antígeno de la hepatitis B (HBsAg) mediante ELISA en la formulación de la vacuna Hexaxim en la etapa de producto final a granel.

El antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) es capturado en primer lugar por un anticuerpo de ratón anti-hepatitis B que recubre los pocillos. Luego, el antígeno unido es reconocido por un segundo anticuerpo anti-hepatitis B que es detectado por un anticuerpo de ratón anti-inmunoglobulina conjugado con peroxidasa. Al agregar tetrametilbenzidina (TMB, sustrato de peroxidasa), se produce un color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de antígeno capturada en el pocillo. El resultado es la presencia o ausencia de HBsAg en la muestra.

Dado que el método es una prueba de identidad, la característica estudiada es la especificidad. La identificación del HBsAg en una vacuna Hexaxim también se documentará.

Los resultados de la validación se resumen en la Tabla 102.

La especificación de la prueba de identidad de la hepatitis B para Hexaxim es una identificación positiva.

**Tabla 102: Identificación del HBsAg mediante ELISA, resumen de validación**

Características	Criterios de aceptabilidad	Resultados
Especificidad	La densidad óptica de la dilución 1/800 de la matriz de Hexaxim, que contiene todas las diversas valencias excepto el antígeno de hepatitis B, debe ser inferior a la densidad óptica del testigo	La densidad óptica de la dilución 1/800 de matriz de Hexaxim, que contiene todas las diversas valencias excepto el antígeno de hepatitis B es inferior a la densidad óptica del testigo
Identificación de HBsAg	Identificación positiva de la vacuna Hexaxim	El lote de Hexaxim analizado es positivo para la identificación de antígeno de hepatitis B.

El método es válido para la identificación de HBsAg en la vacuna Hexaxim en las etapas de PFAG y PL.





**4.5.2 Resultados**

**4.5.2.1 Especificidad**

La especificidad del antígeno de HBsAg se estudia mediante al análisis de la matriz de Hexaxim (lote n° BBO09081) sin HBsAg tras una dilución a 1/800.

**4.5.2.1.1 Resultados analíticos**

Los resultados se presentan en la Tabla 103 siguiente:

**Tabla 103: Especificidad: resultados**

Densidad óptica del testigo	Densidad óptica de la matriz de Hexaxim sin HBsAg
0,068	0,050

**4.5.2.1.2 Análisis**

Puesto que la densidad óptica de la matriz de Hexaxim con todas las valencias excepto la de la hepatitis B es menor que la densidad óptica del testigo, no existe interferencia, por lo que el método es específico para HBsAg.

**4.5.2.2 Aplicación a la vacuna Hexaxim**

La prueba de identificación de la hepatitis B se aplica al lote de vacuna Hexaxim FDV01416.

- El diseño experimental aplicado al lote n° FDV01416 fue: 1 operador llevó a cabo 1 serie. En esta serie se realizaron 6 ensayos en condiciones que garantizaban la repetibilidad: los ensayos se llevaron a cabo de manera independiente, utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio, con el mismo equipo, por el mismo operador y el mismo día.

Los resultados se resumen en la Tabla 104.

**Tabla 104: Resultados de la vacuna Hexaxim**

Ensayos	Identificación de HBsAg en la vacuna Hexaxim FDV01416			
	DO del testigo	Umbral T = 5 x DO testigo	DO de la muestra	Resultado de la identificación
Ensayo 1	0,0523	0,262	3,058	Positivo
Ensayo 2	0,0523	0,262	3,302	Positivo
Ensayo 3	0,0669	0,335	3,345	Positivo
Ensayo 4	0,0669	0,335	3,394	Positivo
Ensayo 5	0,0677	0,339	3,304	Positivo
Ensayo 6	0,0677	0,339	3,172	Positivo





#### 4.5.3 Conclusión

Se cumplen todos los criterios de aceptación:

El método es específico.

La identificación del lote de Hexaxim es positiva.

La prueba de identidad del antígeno de hepatitis B por el método de ELISA es válida para la identificación del antígeno de hepatitis B en las etapas de producto final a granel y producto llenado en la vacuna Hexaxim.

