



- Como se esperaba en una formulación que contiene PRP-T líquido, se observó una tendencia al aumento del PRP despolimerizado, que no tiene ningún efecto sobre la inmunogenicidad contra haemophilus en los 3 lotes. Esta evolución es uniforme en todos los lotes, similar a la de la formulación inicial y ha sido modelizada (vea el párrafo 4). Durante el estudio de estabilidad, se ha definido una especificación a $\leq 50\%$. Los resultados cumplen con los criterios de aceptación.
- Adsorción
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados;
 - Los resultados del porcentaje de adsorción de los toxoides tetánico y diftérico por el método Rocket son concordantes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para el toxoide diftérico a $\geq 23\%$ (vea 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con estos criterios de aceptación.
 - Se observó una tendencia a la disminución en los resultados de adsorción del HBsAg, que no tiene ningún efecto en la inmunogenicidad contra hepatitis B y que sigue siendo conforme en los 3 lotes. Se ha determinado un modelo no lineal para establecer un criterio de aceptación de vida útil (vea el párrafo 4) y se ha definido una especificación a $\geq 28\%$. Los resultados concuerdan en los tres lotes y cumplen con los criterios de aceptación durante el estudio de estabilidad.
- Potencia e inmunogenicidad
 - La potencia diftérica y tetánica, la inmunogenicidad (*in vivo*) contra pertussis y hepatitis B y el contenido de antígeno D satisfacen los criterios de aceptación;
 - Para el tipo 2 del contenido de antígeno D no adsorbido, se observa una disminución. Puesto que los resultados satisfacen los criterios de aceptación para los 3 serotipos y no se observa ninguna tendencia en el contenido de antígeno D (total, parámetro exigido por la Ph. Eur.), los resultados se consideran aceptables;
 - La inmunogenicidad contra Haemophilus cumple con los resultados esperados;
 - Los resultados de la potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) concuerdan en los 3 lotes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para la potencia relativa de la hepatitis B a $\geq 0,70$ (vea 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con este criterio de aceptación.
- Conclusión

El estudio de estabilidad a largo plazo de lotes industriales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) está en curso. Todos los resultados disponibles satisfacen los criterios de aceptación tras 6 meses de almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3.1.2.2.2 Estudio 3: condiciones de almacenamiento aceleradas

El estudio de estabilidad 3 controlado con las condiciones de almacenamiento aceleradas (6 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) se evalúa según los parámetros siguientes:





- Físicoquímicos
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes satisfacen en todos los momentos de medición los criterios de aceptación. No obstante, se observó una partícula blanca en el lote FDNC0491 a los 6 meses. La presencia de esta partícula en este lote en un único momento de medición permite concluir que es un resultado puntual y no un signo de degradación del producto;
 - La medición de pH satisface los criterios de aceptación y permanece estable a lo largo del tiempo;
 - Se señaló un aumento en los 3 lotes del PRP no adsorbido con resultados que se mantuvieron conformes a lo largo del tiempo;
 - Al igual que para las condiciones de almacenamiento normales, se detectó un aumento del PRP despolimerizado.
- Adsorción
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados y permanecen estables a lo largo del tiempo;
 - Para el porcentaje de adsorción de los toxoides diftérico y tetánico mediante el método Rocket, se observó un aumento a lo largo del tiempo, que no tiene ningún efecto sobre los resultados de la potencia.
 - Como se observó para las condiciones de almacenamiento normales, se detectó una disminución de la adsorción del HBsAg, que no tiene ningún efecto sobre la inmunogenicidad contra hepatitis B, que se mantuvo conforme y estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes.
- Potencia e inmunogenicidad
 - La potencia tetánica y diftérica y la inmunogenicidad (*in vivo*) para hepatitis B satisfacen los criterios de aceptación y permanecen estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados de la potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) concuerdan en los 3 lotes;
 - La inmunogenicidad contra Haemophilus cumple con los resultados esperados hasta 3 meses. A los 6 meses no hubo resultados conformes para ninguno de los 3 lotes;
 - Para el contenido de antígeno D, se cumplieron los criterios de aceptación para los 3 serotipos. Para el tipo 1, se observó una disminución. Como los resultados satisfacen los criterios de aceptación, los resultados se consideran aceptables;
 - Los resultados de la inmunogenicidad contra pertussis satisfacen los criterios de aceptación hasta los 3 meses, excepto en el lote FDNC0504. De hecho, esta prueba fue invalidada a los 3 meses para este lote. El momento de medición a los 6 meses está en curso.
- Seguridad
 - El producto permanece estéril a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 6 meses.
 - La prueba de integridad cumple con los criterios.
- Conclusión


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.





Basándose en los datos disponibles, se puede concluir que el producto es estable durante 36 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.1.2.3 Conclusión general para los estudios de estabilidad del producto llenado almacenado en jeringas monodosis

Los datos de estabilidad disponibles para la formulación inicial demuestran una vida útil de 36 meses cuando se almacena a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Se ha llevado a cabo un estudio de comparabilidad entre la formulación inicial y la formulación mejorada (vea 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración). Este estudio demuestra que los parámetros de calidad de la formulación inicial y de la formulación mejorada son muy similares. Por consiguiente, la estabilidad de la formulación mejorada está respaldada por la estabilidad de la formulación inicial.

Así pues, basándose en el estudio de comparabilidad (vea 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración) y en los resultados sobre la estabilidad disponibles para la formulación mejorada, sanofi pasteur declara una vida útil de 36 meses para la formulación mejorada almacenada en jeringas monodosis a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Asimismo, el estudio de estabilidad en condiciones aceleradas (a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) demuestra que los desvíos a corto plazo fuera de las condiciones prescritas (por ejemplo, en caso de interrupción de la cadena de frío) no son perjudiciales para la calidad del producto.

3.2 Producto llenado almacenado en viales monodosis


3.2.1 Protocolo de los estudios de estabilidad del producto llenado almacenado en viales monodosis


3.2.1.1 Lotes analizados

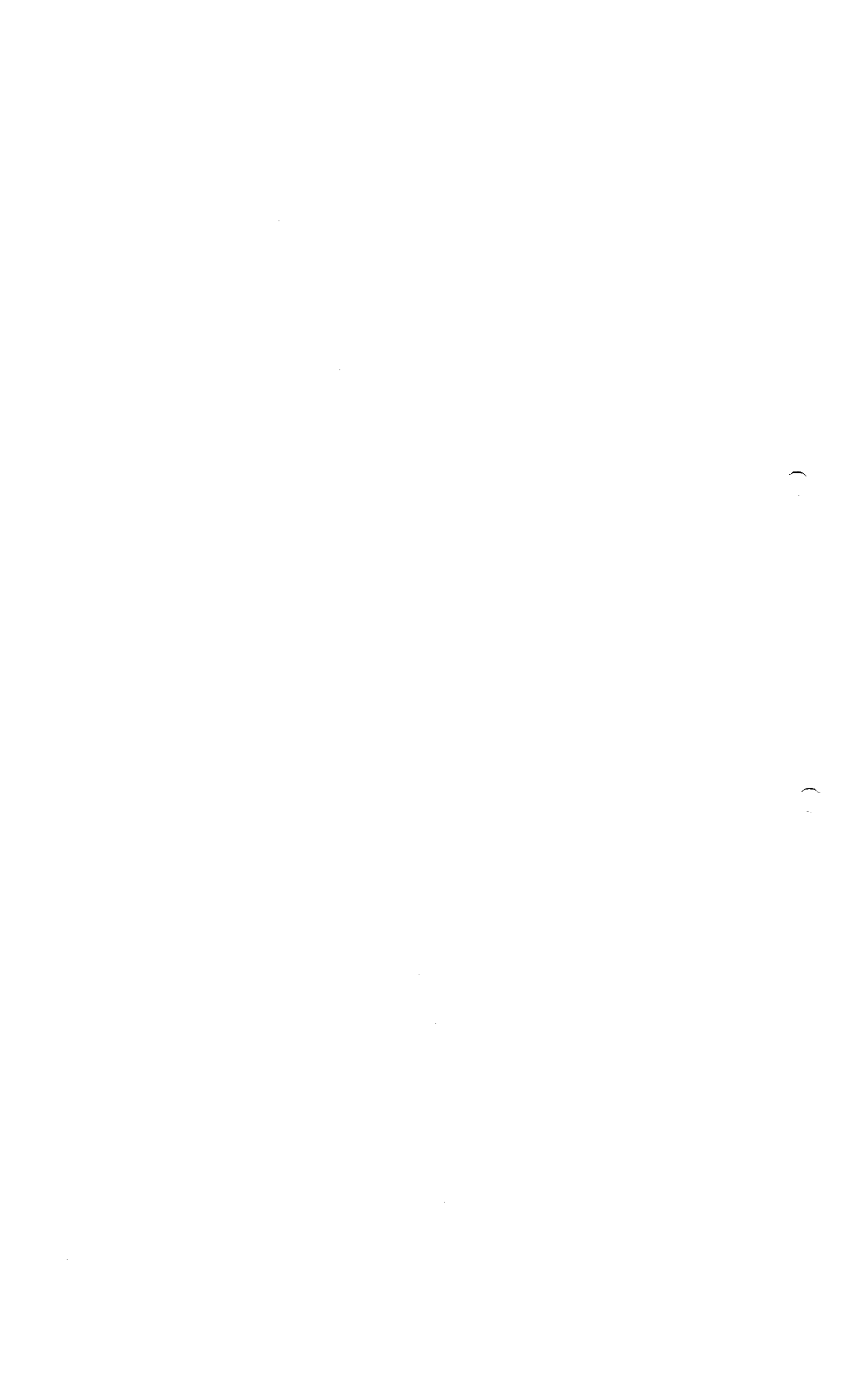
La información sobre los lotes de producto final sometidos al estudio de estabilidad se resume en la Tabla 7 para Anagni y en la Tabla 8 para VDR.

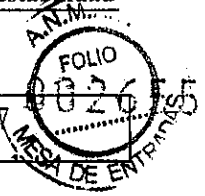
Tabla 7: lotes analizados para el estudio de estabilidad realizado sobre el producto llenado de Anagni con formulación inicial (estudio 4)

Producto llenado					Producto final a granel correspondiente
Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño del lote	Cierre del envase	Número de lote
S4114	Anagni	30 de marzo de 2006	127 021 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDNC0005
S4115	Anagni	30 de marzo de 2006	133 637 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDNC0006


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 GERENTE
 SANOFI PASTEUR S.A.





S4116	Anagni	30 de marzo de 2006	118 684 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDNC0007
-------	--------	---------------------	------------------	---	----------

Tabla 8: lotes analizados para el estudio de estabilidad realizado sobre el producto llenado de Val de Reuil con formulación optimizada (estudio 5)

Producto llenado					Producto final a granel correspondiente
Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño del lote	Cierre del envase	Número de lote
S4312	Val de Reuil	25 de febrero de 2010	20 354 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDV01398
S4313	Val de Reuil	02 de marzo de 2010	20 217 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDV01416
S4314	Val de Reuil	03 de marzo de 2010	19 765 unidades	Vial de vidrio monodosis con tapón y tapa	FDV01420

3.2.1.2 Pruebas y criterios de aceptación

Para los estudios en condiciones normales de almacenamiento recomendados, los parámetros monitoreados son los correspondientes al perfil de aprobación del producto llenado (excepto las pruebas de identidad que no son indicadoras de la estabilidad), además del contenido de formaldehído libre, la medición de osmolalidad, la actividad de sensibilización a la histamina, el PRP no adsorbido y el PRP despolimerizado, así como las pruebas de potencia, inmunogenicidad y adsorción del perfil de aprobación del producto final a granel, tal como se describen en la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones. Los límites fueron los definidos en el momento en que se realizó el estudio.

Los demás parámetros evaluados durante los estudios de estabilidad se incluyeron como información complementaria, como se detalla a continuación:

- Prueba de integridad

Se trata de una prueba indicadora de la estabilidad que permite evaluar la capacidad del sistema de cierre del envase para proteger y garantizar la eficacia y esterilidad durante la vida útil del producto medicinal estéril.



- Inmunogenicidad contra Haemophilus

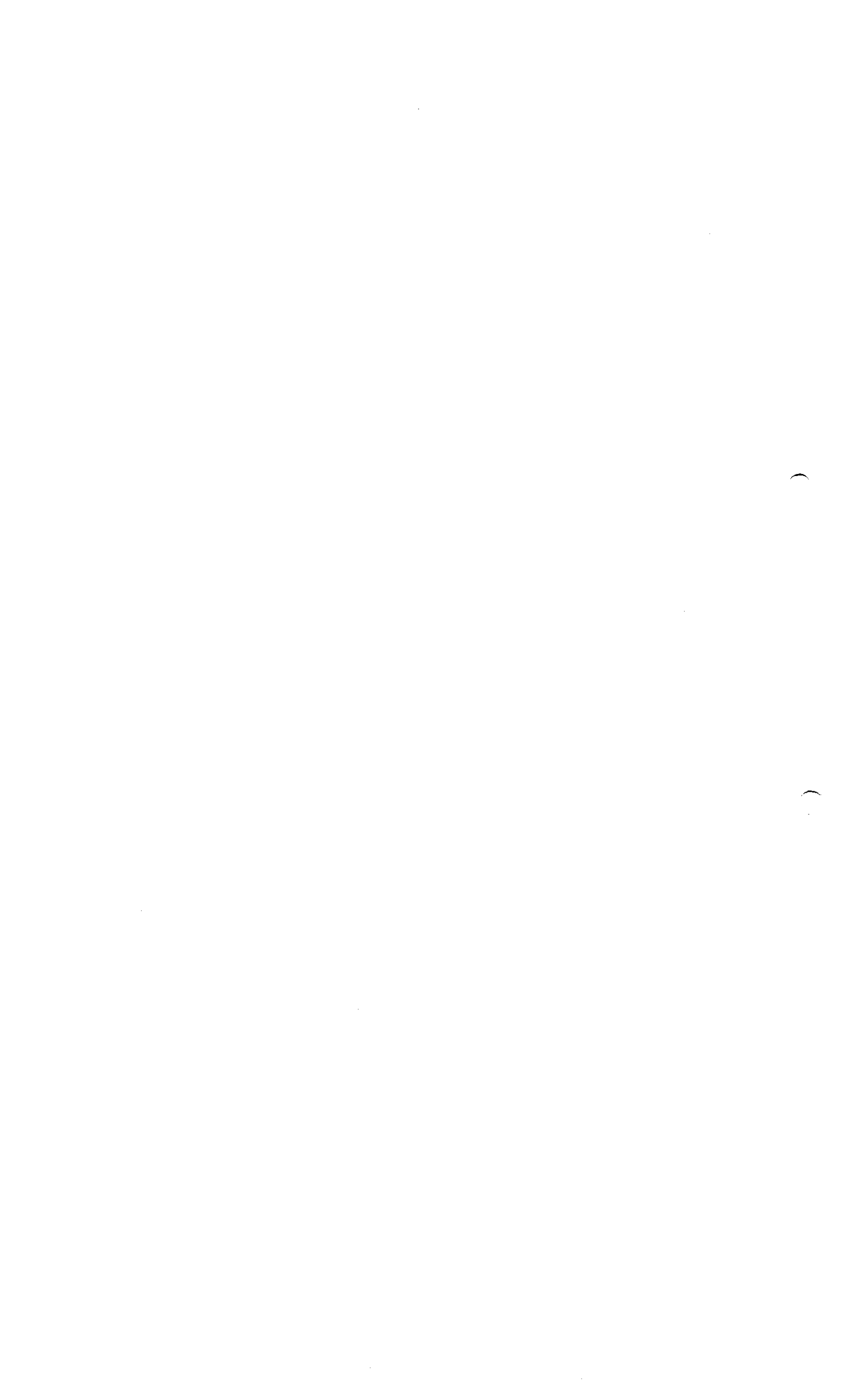
La monografía 2067 de la Ph. Eur. exige que se realice esta prueba durante el desarrollo de la vacuna para demostrar la respuesta inmunitaria a PRP.

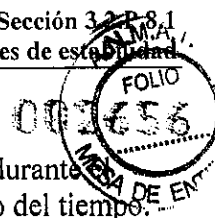
- PT no adsorbido y FHA no adsorbida

Tal como se exige en la monografía 0153 de la Ph. Eur., estas pruebas se realizan durante el desarrollo de la vacuna para demostrar que los antígenos permanecen totalmente adsorbidos a lo largo del tiempo.

- Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico (Rocket)



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





Tal como se exige en la monografía 0153 de la Ph. Eur., esta prueba se realiza durante el desarrollo de la vacuna para documentar la adsorción de los antígenos a lo largo del tiempo.

- Potencia de la poliomiелitis en pollos y ensayo de inmunogenicidad contra IPV en ratas

La prueba de potencia de la poliomiелitis en pollos se lleva a cabo en la formulación inicial. Este método ha sido sustituido en la formulación mejorada por el ensayo de inmunogenicidad contra IPV en ratas.

Según la monografía 2067 de la Ph. Eur., la prueba de potencia se realiza durante el desarrollo de la vacuna para demostrar la respuesta inmunitaria a IPV. Asimismo, esta prueba se utilizó para respaldar su omisión y la utilización en su lugar de una prueba *in vitro*, como se describe en Ph. Eur. 2.7.20 "*In vivo* assay of poliomyelitis vaccine (inactivated)" (Valoración *in vivo* de la vacuna contra la poliomiелitis, inactivada).

- Contenido de antígeno D no adsorbido

Tal como se exige en la monografía 0153 de la Ph. Eur., esta prueba se realiza durante el desarrollo de la vacuna para documentar la adsorción de los antígenos a lo largo del tiempo.


- Inmunogenicidad contra hepatitis B


De conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur. y Ph. Eur. 2.7.15, se ha implementado un método inmunoquímico para reducir las pruebas en animales y se han aplicado métodos tanto *in vivo* como *in vitro* durante el desarrollo del producto.

- Toxicidad específica de los componentes diftéricos y tetánicos

Esta prueba se realiza durante el desarrollo del producto de conformidad con la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Todas las pruebas realizadas durante los estudios de estabilidad del producto final de Anagni y VDR, con los métodos y criterios de aceptación asociados a ellas, se resumen en la Tabla 9 para la formulación inicial y la mejorada.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

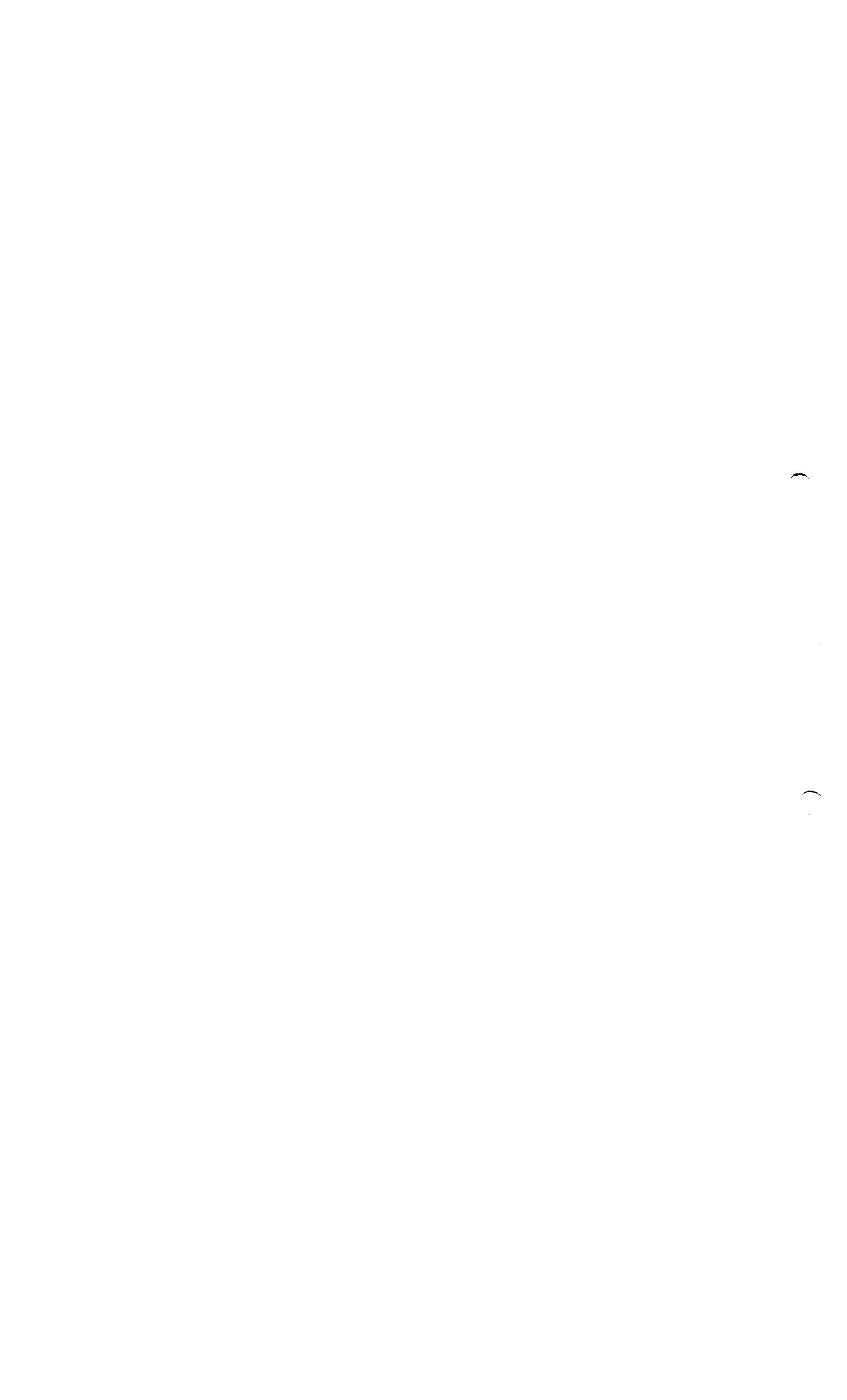
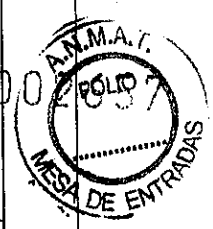




Tabla 9: prueba de estabilidad y criterios de aceptación para el producto llenado de Anagni y Val de Reuil, realizado respectivamente con formulación inicial y mejorada (estudios de estabilidad 4 y 5)

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)
Aspecto	Ph. Eur. 2.9.20, edición actual. Inspección visual	Suspensión turbia y blancuzca	Suspensión turbia y blancuzca	+5 °C ± 3 °C	+25 °C ± 2 °C
Medición de pH	Ph. Eur. 2.2.3, edición actual. Método potenciométrico	6,5-8,0	6,5-7,5	T0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses
Contenido de formaldehído libre	Según la Ph. Eur. 2.4.18, edición actual. Ensayo colorimétrico	≤ 30 µg/mL	≤ 30 µg/mL	T0, 12, 24 y 36 meses	/
Volumen extraíble	Ph. Eur. 2.9.17, versión actual. Volumen = masa/densidad	Al menos el volumen nominal	Al menos el volumen nominal	T0 y 36 meses	T0 y 36 meses
Contenido de aluminio	Según la Ph. Eur. 2.5.13, edición actual. Ensayo de complejometría (EDTA)	/	0,40-0,80 mg/dosis	/	/
Medición de osmolaridad	Ph. Eur. 2.2.35, edición actual. Método fisicoquímico	250-450 mosmol/kg	300-400 mosmol/kg	T0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses
Fosfato de polirribosil ribitol (PRP) no adsorbido	Ph. Eur. 2.2.29, edición actual. Cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución con detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD)	≥ 16 µg/mL	≥ 16 µg/mL	T0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses
PRP despolimerizado		Para información*	Para información †		



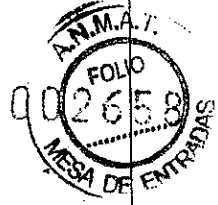

 LUXANA MONTMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 GERENTE
 SANOFI PASTEUR S.A.



sanofi pasteur
352 - Hexaxim

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)
Potencia diftérica	Ph. Eur. 2.7.6, edición actual Prueba de desaffo intradérmica en cobayos - Inyección de la vacuna por vía intradérmica	Actividad ≥ 30 UI/dosis Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis	Actividad ≥ 30 UI/dosis Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis	+5 °C \pm 3 °C T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	+25 °C \pm 2 °C T0, 3 y 6 meses
Potencia tetánica	Ph. Eur. 2.7.8, edición actual Prueba de desaffo en ratones - Inyección de la vacuna por vía subcutánea	Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis Supervivencia $\geq 95\%$	Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis Supervivencia $\geq 95\%$	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 12, 24 y 36 meses
Actividad de sensibilización a la histamina	Monografía 2067 de la Ph. Eur., edición actual Inyección de la vacuna en ratones por vía intraperitoneal seguida por inyección de una solución base de histamina	Supervivencia $\geq 95\%$	Supervivencia $\geq 95\%$	T0, 12, 24 y 36 meses	/
Inmunogenicidad contra pertussis	Ph. Eur. 2.7.16, edición actual Prueba de inmunogenicidad en ratones (análisis serológico: método de ELISA)	Los títulos de anticuerpos anti-toxide pertúsico (PTxd) y anti-hemaglutinina filamentososa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente inferiores a los ($P = 0,95$) inferiores a los de la vacuna de referencia	Los títulos de anticuerpos anti-toxide pertúsico (PTxd) y anti-hemaglutinina filamentososa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente inferiores a los ($P = 0,95$) inferiores a los de la vacuna de referencia	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 3 y 6 meses



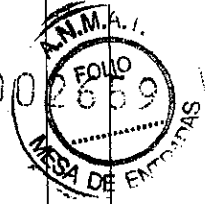
JULIANA GONZALEZ
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DUNNIGUE
ENCARGADO
SANOFI PASTEUR S.A.



sanofi pasteur
352 - Hexaxim

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)
Inmunogenicidad contra Haemophilus	Prueba de inmunogenicidad en ratones (análisis serológico: método de ELISA)	No menos del 50% de los ratones vacunados se han seroconvertido. Su título no es inferior a 4 veces el del suero de control agrupado	Para información †	+5 °C ± 3 °C	+25 °C ± 2 °C
PT no adsorbido	Según la Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	Para información §	Para información **	T0, 6, 12, 24 y 36 meses	
FHA no adsorbida	Según la Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	Para información §	Para información **		
Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico	Método de inmunoelectroforesis Rocket	Para información ††	Para información ††	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses
Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico	Método de inmunoelectroforesis Rocket	Para información *	Para información *	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	
Potencia de la poliomielititis en pollos	Ph. Eur. 2.7.20, edición actual Ensayo <i>in vivo</i> en pollos	Tipo 1 ≥ 2 Tipo 2 ≥ 2 Tipo 3 ≥ 2	/	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	/
Ensayo de inmunogenicidad contra IPV en ratas	Según la Ph. Eur. 2.7.20, edición actual Ensayo <i>in vivo</i> en ratas	/	Para información ††	/	/
Contenido de antígeno D	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses



RA_0303395

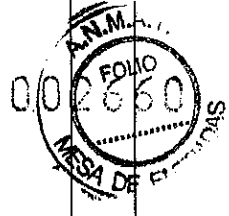
Información confidencial/propietaria
Página 29 de 44

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINIGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.



Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación mejorada (estudio 5)
Contenido de antígeno D no adsorbido	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	/	Para información ^{††}	+5 °C ± 3 °C	+25°C ± 2°C
Porcentaje de adsorción de hepatitis B (ELISA)	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	Para información [*]	Para información [†]	T0, 3, 6, 9, 12 y 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses
Potencia relativa <i>in vitro</i> de la hepatitis B (IVRP)	Ph. Eur. 2.7.15, edición actual Método ELISA	Para información [*]	Para información [*]	T0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 3 y 6 meses
Inmunogenicidad contra hepatitis B	Ph. Eur. 2.7.15, edición actual Método ELISA	El límite superior de confianza ($P = 0,95$) de la potencia relativa estimada no es menor que 1,0	El límite superior de confianza ($P = 0,95$) de la potencia relativa estimada no es menor que 1,0	T0, 12, 24 y 36 meses	T0, 3 y 6 meses
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual Filtración por membrana	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	T0 y 36 meses	T0 y 6 meses
Prueba de pirógenos	Ph. Eur. 2.6.8, edición actual Medición del aumento de la temperatura corporal en animales	Cumple el criterio de la Ph. Eur.	Cumple el criterio de la Ph. Eur.	T0 y 36 meses	/
Toxicidad específica de los componentes diftéricos y tetánicos	Según la Ph. Eur. 2067, edición actual. Toxicidad específica	/	No deben producirse reacciones tóxicas ni muerte. Todos los animales deben tener un aspecto sano durante el período de observación y su peso no debe ser menor al final de la prueba que en el momento en que se administró la inyección.	/	/



ROXANA VENTURINI
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

