

Pruebas	Criterios de aceptación	Número de lote		
		FDV01398	FDV01416	FDV01420
Inmunogenicidad contra pertussis (pruebas de inmunogenicidad en ratones)	Los títulos de anticuerpos anti-toxoides pertúsico (PTxd) y anti-hemaglutinina filamentososa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente ( $P = 0,95$ ) inferiores a los de la vacuna de referencia	Cumple	Cumple	Cumple
Potencia de la poliomielitis en ratas	Para información (potencia relativa) §	Tipo 1: 0,7 Tipo 2: 0,6 Tipo 3: 1,9	Tipo 1: 0,5 Tipo 2: 0,5 Tipo 3: 1,6	Tipo 1: 0,6 Tipo 2: 1,2 Tipo 3: 3,1
Contenido de antígeno D	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 5-9 UD/dosis Tipo 3: 17-36 UD/dosis	Tipo 1: 26,9 Tipo 2: 5,5 Tipo 3: 26,3	Tipo 1: 28,8 Tipo 2: 6,0 Tipo 3: 25,7	Tipo 1: 28,1 Tipo 2: 5,8 Tipo 3: 24,6
Inmunogenicidad contra hepatitis B <i>in vivo</i>	Límite superior de confianza ( $P = 0,95$ ) $\geq 1,0$	1,210 (0,628-2,561)	1,164 (0,658-2,041)	1,171 (0,644-2,268)
Potencia relativa <i>in vitro</i> de la hepatitis B (IVRP)	Para información (potencia relativa) †	1,22	1,18	1,27
Inmunogenicidad contra Haemophilus en ratones	Para información *	** NR/R = 0/8 Media geométrica: 43,6 UE/mL	NR/R = 0/8 Media geométrica: 51,4 UE/mL	NR/R = 0/8 Media geométrica: 45,8 UE/mL

\* Esta prueba se realizó de acuerdo con la monografía 1356 de la Ph. Eur. para evaluar la seguridad del producto (los criterios de aceptación de la monografía 1356 de la Ph. Eur. requieren un índice de supervivencia de  $\geq 95\%$ ). Vea la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones (Parte 3, "Supresión de pruebas")

† Considerando el estudio de validación, este valor debe interpretarse como  $< 7,1\%$ , que es el límite de cuantificación.

‡ En el momento de la liberación no se había definido este criterio de aceptación.

§ Esta prueba se llevó a cabo para obtener información que respaldara el estudio de omisión del ensayo *in vivo*. Por consiguiente, no se estableció ningún criterio de aceptación.

\*\* NR: ratones que no responden, R: ratones que responden. Se considera que un ratón "responde" cuando su título es como mínimo cuatro veces el título del grupo de ratones de control negativo. La media geométrica incluye los títulos de los sueros de ratones analizados.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.



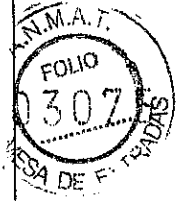


Tabla 8: Análisis de los lotes de producto llenado de la formulación mejorada

Pruebas	Criterios de aceptación	Número de lote					
		S4312	S4313	S4314	FDNC0491	FDNC0504	FDNC0505
Aspecto	Suspensión turbia y blancuzca	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Medición de pH	6,5-7,5	7,29	7,18	7,20	7,27	7,17	7,19
Volumen extraíble	≥ 0,5 ml. de cada una de las 5 jeringas/viales individuales analizados	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de aluminio	0,40-0,80 mg/dosis	0,62	0,60	0,62	0,61	0,61	0,59
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento cuando se prueba para contaminación fúngica y bacteriana	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Toxicidad anormal	Ausencia de muerte o signos de enfermedad en los 7 días después de la inoculación	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Prueba de pirógenos	Cumple el criterio de la Ph. Eur.	0°36 (0°13-0°13-0°10)	0°63 (0°14-0°40-0°09)	0°44 (0°22-0°10-0°13)	0°05 (0°00-0°00-0°05)	0°23 (0°00-0°23-0°00)	0°68 (0°25-0°31-0°12)
Identidad de cada valencia por el método Laminex (difteria, tétanos, tos ferina, poliomiéctis, hepatitis B, haemophilus)	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia	Positivo para cada valencia
Identidad de la difteria (Ouchterlony)	Para información*	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Identidad del tétanos (Ouchterlony)	Para información*	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Identidad de pertussis (Ouchterlony)	Para información*	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

RA\_030388

Información confidencial/propietaria  
Página 20 de 25



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



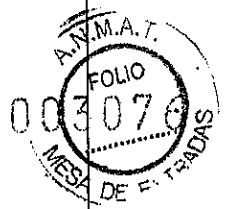
sanofi pasteur  
352 – Hexaxim

Pruebas	Criterios de aceptación	Número de lote					
		S4312	S4313	S4314	FDNC0491	FDNC0504	FDNC0505
Identidad de la poliomielitis (ELISA)	Para información *	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Identidad de la hepatitis B (ELISA)	Para información *	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Identidad de haemophilus (Ouchterlony)	Para información *	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

\* La prueba oficial de identidad para la liberación se realiza por el método Luminex.

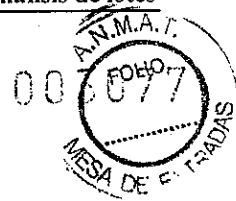
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.



RA\_0303388





## 4 Conclusión

Todos los resultados presentados anteriormente demuestran que todos los lotes con las formulaciones inicial y mejorada cumplen las especificaciones definidas en la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones y respaldan totalmente la uniformidad de la elaboración.

## 5 Procedimientos analíticos históricos

Estas pruebas se realizaron durante el desarrollo del producto en los lotes de PFAG o PL tal como se describe en esta sección.

### 5.1 Irreversibilidad del toxoide pertúsico

Esta prueba se llevó a cabo en tres lotes de PFAG para demostrar la seguridad del proceso durante el desarrollo del producto.

El objetivo de esta prueba es comprobar la ausencia de irreversibilidad de la toxina pertúsica en la vacuna en función del tiempo y la temperatura. La prueba se realiza en la toxina pertúsica después de un periodo de almacenamiento de 4 semanas a +37°C.

Esta prueba se basa en el método descrito en la monografía 1356 de la Ph. Eur. (vacuna contra la tos ferina, de componentes acelulares, adsorbida).

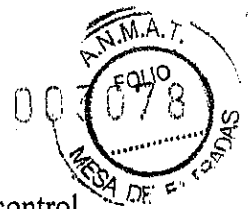
#### 5.1.1 Principio

En primer lugar, las muestras se inyectan en los ratones por vía intraperitoneal. Luego se inyecta una solución base de histamina (2 mg/ratón) a todos los ratones. Los ratones se observan y se registra la cantidad de ratones muertos.

#### 5.1.2 Muestras

- Control positivo: 1 grupo de 10 ratones a los que se inyecta la toxina pertúsica, 50 ng/ratón;
- Control negativo: 1 grupo de 10 ratones a los que se inyecta 1 mL de solución salina tamponada con fosfato (PBS) en gelatina al 0,2%;
- Productos por analizar:
  - 1 grupo de 10 ratones a los que se inyecta por vía intraperitoneal 1 mL de la muestra de vacuna que contiene 50 µg/mL de PTxd previamente almacenado a +5°C ± 3°C durante cuatro semanas;
  - 1 grupo de 10 ratones a los que se inyecta por vía interaperitoneal 1 mL de la muestra de vacuna que contiene 50 µg/mL de PTxd previamente almacenado a + 37°C ± 2°C durante cuatro semanas.





### 5.1.3 Procedimiento operativo

La prueba dura 6 días.

Día 0, se inyecta a los ratones las muestras descritas anteriormente (control positivo, control negativo y productos analizados) por vía intraperitoneal.

Día 5, se inyecta a todos los grupos de 10 ratones 0,5 mL de solución base de histamina (2 mg/ratón).

Los ratones se observan justo después de la inyección de histamina y un día después.

### 5.1.4 Resultados

Se registra la cantidad de ratones muertos.

### 5.1.5 Criterios de validez

Todos los controles negativos tienen que sobrevivir.

Tasa de supervivencia para los controles positivos: no menos del 20% de los ratones murieron tras recibir una dosis de toxina pertúsica de 50 ng/ratón.

Para cumplir con la Ph. Eur., se deberá comprobar una vez al año la sensibilidad de las cepas de ratones mediante una inyección por vía intravenosa. Debe registrarse al menos un 50% de mortalidad en los ratones a los que se inyecta 50 ng de toxina pertúsica por vía intravenosa.

## 5.2 Identidad de la hepatitis B mediante ELISA (kit de Murex) (método alternativo)

La identificación de los antígenos de superficie de la hepatitis B se realizó en lotes de PL por un método de ELISA (kit comercial), de acuerdo con los requisitos de Ph. Eur. 2.7.2 (Métodos inmunoquímicos). Este kit comercial ya no es suministrado por la compañía Murex y la identificación de la hepatitis B se realizará por el método interno de ELISA como se describe en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos, párrafo 2.10.

El método en el que se utiliza el kit de Murex se resume a continuación.

### 5.2.1 Principio

La prueba de identidad de la hepatitis B se basa en el principio de neutralización del antígeno por unos anticuerpos específicos. La muestra de prueba se incuba con un reactivo específico (anticuerpos anti-HBsAg) que entra en competencia con los anticuerpos anti-HBsAg que recubren los pocillos.

El HBsAg presente en la muestra de prueba será fijado de manera prioritaria por el reactivo específico. Un HBsAg neutralizado no puede ser fijado por los anticuerpos de recubrimiento.

Por consiguiente, la señal de una muestra que contiene HBsAg (muestra neutralizada) es inferior a la de una muestra que no contiene HBsAg (muestra no neutralizada).





### 5.2.2 Procedimiento operativo

- Composición del kit Murex:
  - Soporte recubierto con anticuerpos monoclonales anti-HBsAg de ratón;
  - Control negativo: suero humano sin HBsAg;
  - Control positivo: suero humano con HBsAg;
  - Segundo anticuerpo: anticuerpos anti-HBsAg de cabra conjugados con peroxidasa;
  - Sustrato: 3-3', 5-5'-tetrametilbenzidina (TMB);
  - Reactivo de control: suero no reactivo para HBsAg;
  - Reactivo específico: anticuerpos anti-HBsAg de caballo.
- Preparación de las muestras

Las muestras de prueba se tratan con una solución de tratamiento (dietanolamina 20%, trítón X100 10% y tampón de fosfato).

A continuación, las muestras de prueba tratadas se diluyen.

- Titulación mediante ELISA

La titulación mediante ELISA sigue varios pasos:

- 1) Se cargan las muestras:

El reactivo de control y el reactivo específico se colocan cada uno en 2 soportes.

El control positivo y el control negativo se añaden por duplicado<sup>a</sup>.

Se añaden las muestras de prueba por duplicado y se incuba la placa (1 hora a +37°C)<sup>a</sup>

- 2) Se añade el segundo anticuerpo en cada pocillo y se incuba la placa (30 minutos a +37°C).
- 3) Se lava la placa, se añade el sustrato y se incuba la placa (30 minutos a +37°C).
- 4) La reacción se detiene con ácido sulfúrico.

### 5.2.3 Resultados

La absorbancia de cada pocillo se registra a 450 nm y a 690 nm. Una muestra es positiva si la inhibición por el reactivo específico es superior o igual al 50%.

### 5.2.4 Criterios de validez

La DO media del control negativo debe ser inferior a 0,150.

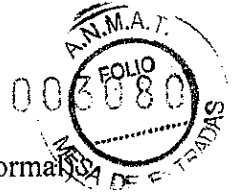
La DO del control positivo incubado con el reactivo de control debe ser superior a 0,8 más la DO media del control negativo.

<sup>a</sup> Un duplicado se incuba con el reactivo de control, mientras que el segundo duplicado se incuba con el reactivo específico.




### 5.3 Toxicidad anormal

Esta prueba se realizó en lotes de PL de conformidad con Ph.Eur. 2.6.9 (Toxicidad anormal)



  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.


  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.





### 3.2.S.4.4

### Análisis de Lote - Diftérico

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANGRE PASTEUR S.A

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
INGENIERO  
SANGRE PASTEUR S.A







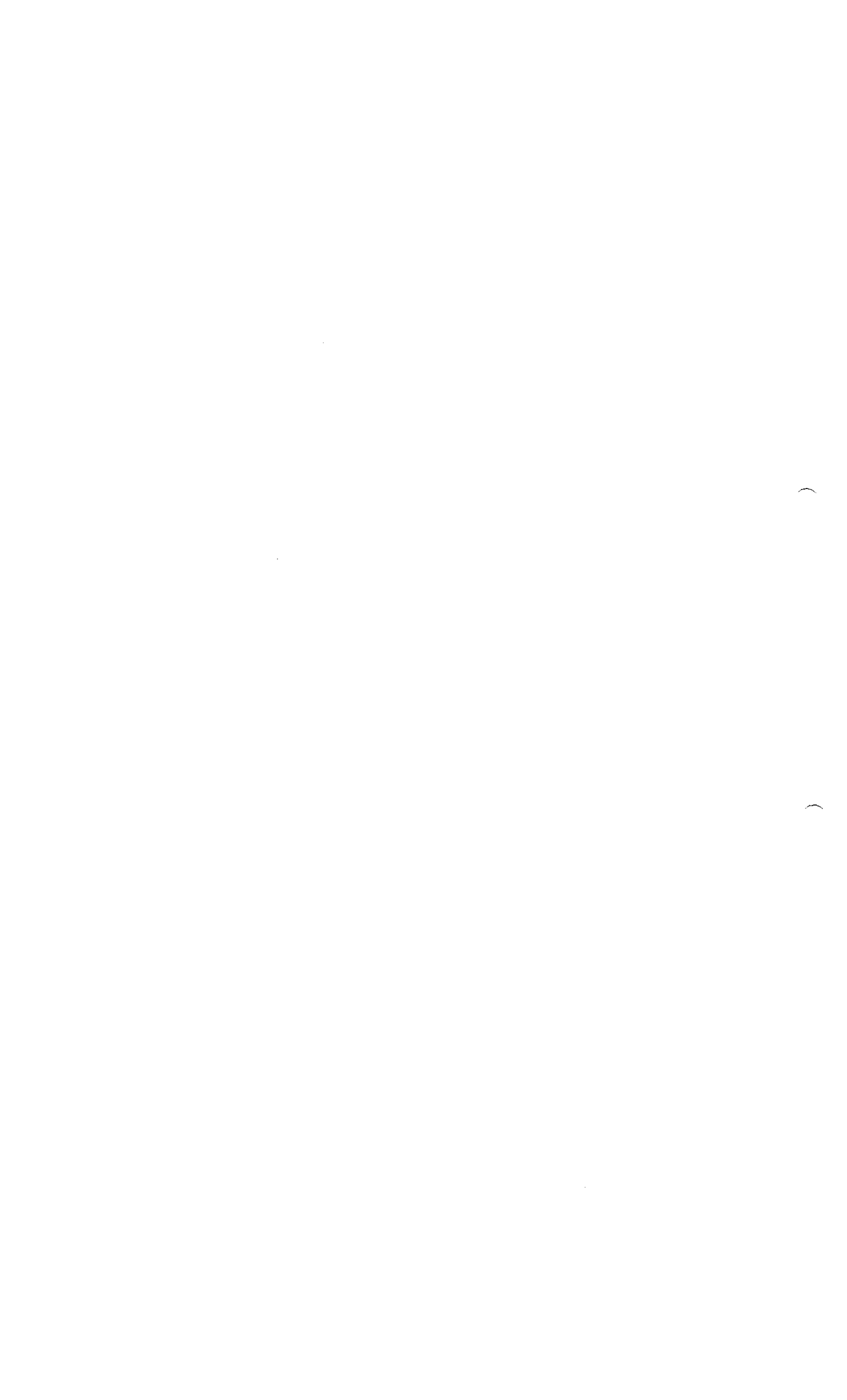
## Sección 3.2.S.4.4 Análisis de lote

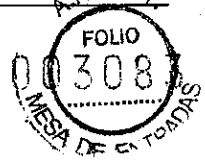
### Índice

Lista de tablas .....	2
<b>1 Descripción de los lotes .....</b>	<b>3</b>
1.1 Lotes de uniformidad utilizados en la elaboración del producto medicinal formulado optimizado .....	3
1.2 Lotes de producción actuales .....	3
<b>2 Tablas de resumen de los análisis de lotes.....</b>	<b>4</b>
2.1 Datos de calidad de los lotes de uniformidad .....	4
2.2 Datos de calidad de los lotes de producción actuales .....	4

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.





### Lista de tablas

Tabla 1: Descripción de tres lotes clínicos de PDT.....3  
Tabla 2: Descripción de tres lotes de producción actuales.....3  
Tabla 3: Datos de análisis de lote para los lotes de PDT utilizados en estudios clínicos.....4  
Tabla 4: Datos de los análisis de lote de 3 lotes de producción actuales .....4

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
INGENIERO  
SANOFI PASTEUR S.A.





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

## 1 Descripción de los lotes

### 1.1 Lotes de uniformidad utilizados en la elaboración del producto medicinal formulado optimizado

La descripción de 3 lotes de toxoide diftérico purificado (PDT) se presenta en la tabla 1. Estos lotes se utilizaron en la producción de la formulación optimizada de los lotes de producto medicinal incluidos en los estudios clínicos. Se eligieron al azar y son representativos de los lotes destinados a la comercialización.

Tabla 1: Descripción de tres lotes clínicos de PDT

Número de lote	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (L)	Planta de producción	Utilización
FA293606	19 nov 2007	109,23	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad
FA293607	03 dic 2007	118,91	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad
FA320479	08 sep 2008	110,10	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad

### 1.2 Lotes de producción actuales

La descripción de 3 lotes industriales actuales de toxoide diftérico purificado (PDT) se presenta en la tabla 2. Se eligieron al azar y por lo tanto representan de forma adecuada los lotes de producción actuales.

Tabla 2: Descripción de tres lotes de producción actuales

Número de lote	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (L)	Planta de producción	Utilización
FA346601	27 abr 2009	120,04	Marcy l'Etoile	Lote de producción
FA346602	18 may 2009	157,84	Marcy l'Etoile	Lote de producción
FA386546	10 may 2010	75,14	Marcy l'Etoile	Lote de producción





## 2 Tablas de resumen de los análisis de lotes

### 2.1 Datos de calidad de los lotes de uniformidad

Los resultados del control de calidad de 3 lotes de uniformidad de PDT se presentan en la tabla 3.

**Tabla 3: Datos de análisis de lote para los lotes de PDT utilizados en estudios clínicos**

Pruebas	Criterios de aceptación	FA293606	FA293607	FA320479
Título de floculación (Lf/ml)	Para calcular la pureza antigénica	5500	5500	5500
Contenido de nitrógeno proteico (mg/mL)	Para calcular la pureza antigénica	3,32	3,27	3,01
Pureza antigénica	≥ 1500 Lf/mg de nitrógeno proteico	1657	1682	1827
Contenido de formaldehído libre (µg/mL)	Para información (utilizado para la formulación en el producto final a granel cuando corresponda)	32,51	24,78	37,64
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple
Ausencia de toxina	Sin efecto citotóxico	Negativo	Negativo	Negativo
Irreversibilidad del toxoide	Sin efecto citotóxico	Negativo	Negativo	Negativo

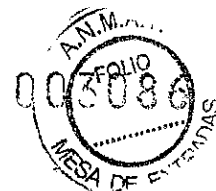
### 2.2 Datos de calidad de los lotes de producción actuales

Los resultados del control de calidad de 3 lotes actuales de PDT se presentan en la tabla 4.

**Tabla 4: Datos de los análisis de lote de 3 lotes de producción actuales**

Pruebas	Criterios de aceptación	FA346601	FA346602	FA386546
Título de floculación (Lf/mL)	Para calcular la pureza antigénica	4500	4500	5000
Contenido de nitrógeno proteico (mg/mL)	Para calcular la pureza antigénica	2,29	2,36	2,73
Pureza antigénica	≥ 1500 Lf/mg de nitrógeno proteico	1965	1907	1832
Contenido de formaldehído libre (µg/mL)	Para información (utilizado para la formulación en el producto final a granel cuando corresponda)	25,13	39,49	26,19
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple
Ausencia de toxina	Sin efecto citotóxico	Negativo	Negativo	Negativo
Irreversibilidad del toxoide	Sin efecto citotóxico	Negativo	Negativo	Negativo





**3.2.S.4.4**

**Análisis de Lote - Tetánico**

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
SECRETARIO  
SANOFI PASTEUR S.A.



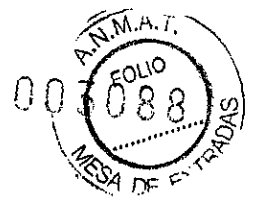


## Sección 3.2.S.4.4 Análisis de lote

### Índice

<b>Lista de tablas .....</b>	<b>2</b>
<b>1 Descripción de los lotes .....</b>	<b>3</b>
1.1 Lotes de uniformidad utilizados en la elaboración del producto medicinal formulado optimizado .....	3
1.2 Lotes de producción actuales .....	3
<b>2 Tabla de resumen para los análisis de lote.....</b>	<b>4</b>
2.1 Datos de calidad de los lotes de uniformidad .....	4
2.2 Datos de calidad de los lotes de producción actuales .....	4





### Lista de tablas

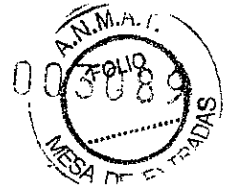
Tabla 1: Descripción de 3 lotes clínicos de PTT .....3  
Tabla 2: Descripción de los 3 lotes de producción actuales de PTT .....3  
Tabla 3: Datos de análisis de lote para los lotes de PTT utilizados en estudios clínicos .....4  
Tabla 4: Datos de los análisis de lote de 3 lotes de producción actuales .....5

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.



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



## 1 Descripción de los lotes

### 1.1 Lotes de uniformidad utilizados en la elaboración del producto medicinal formulado optimizado

La descripción de 3 lotes de toxoide tetánico purificado (PTT) se presenta en la tabla 1. Estos lotes se utilizaron en la producción de lotes de la formulación optimizada del producto medicinal que se incluyeron en los estudios clínicos. Se eligieron al azar y por lo tanto representan de forma adecuada los lotes que están destinados a la comercialización.

Tabla 1: Descripción de 3 lotes clínicos de PTT

Número de lote	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (L)	Planta de producción	Uso
FA269112	05 mar 2007	71,19	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad
FA276217	04 jun 2007	40,90	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad
FA309471	19 may 2008	62,50	Marcy l'Etoile	Lote de uniformidad

### 1.2 Lotes de producción actuales

La descripción de 3 lotes industriales actuales de toxoide tetánico purificado (PTT) se presenta en la tabla 2. Se eligieron al azar y por lo tanto representan de forma adecuada los lotes de producción actuales.

Tabla 2: Descripción de los 3 lotes de producción actuales de PTT

Número de lote	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (L)	Planta de producción	Uso
FA349552	15 jun 2009	76,60	Marcy l'Etoile	Lote de producción
FA362652	14 sep 2009	99,60	Marcy l'Etoile	Lote de producción
FA372078	14 dic 2009	87,20	Marcy l'Etoile	Lote de producción

