



Lista de abreviaturas

Ac	anticuerpo
Ag	antígeno
aP	<i>B. pertussis</i> acelular
°C	grados Celsius
CBER	Centro para la Evaluación e Investigación de Biológicos
IC	intervalo de confianza
³⁶ Cl	isótopo de cloro 36
CPE	efecto citopático
CPM	conteos por minuto
CO ₂	dióxido de carbono
CSR	informe de estudio clínico
D	difteria
ELISA	enzimoinmunoanálisis de adsorción
EMA	Agencia Europea de Medicamentos
PAI	Programa Ampliado de Inmunizaciones
UE	unidad de ELISA
FAMA	anticuerpo fluorescente para antígeno de membrana
FBS	suero fetal bovino
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
FHA	hemaglutinina filamentosa
GCI	Inmunología Clínica Global
GMT	título medio geométrico
³ H	tritio
HAI	análisis de inhibición de la hemaglutinación
HbOHA	antígeno de oligosacáridos de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado con albúmina de suero humano
HBsAg	antígeno de superficie de hepatitis B
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
HELFB	fibroblasto de pulmón embrionario humano
Hep B	hepatitis B
HPA	Agencia para la Protección de la Salud
HRP	peroxidasa de rábano picante



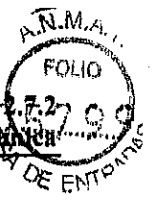
IgG	inmunoglobulina G
IM	intramuscular
IPV	vacuna antipoliomielítica inactivada
UI	unidad internacional
Lf	límite de floculación
LOD	límite de detección
LLOQ	límite inferior de cuantificación (también se utiliza LOQ)
µg	microgramo
µL	microlitro
mL	mililitro
MCD	dosis citopática mínima
MDA	antitoxina detectable mínima
mUI	miliunidades internacionales
MIT-CV	prueba de inhibición micrometabólica con cristal violeta para difteria
MIT-pH	prueba de inhibición micrometabólica con indicador de desarrollo de pH para difteria
MIT-Sa	prueba de inhibición micrometabólica con virus de la cepa Sabin/células HEp2 para polio
MIT-WT	prueba de inhibición micrometabólica con virus de tipo salvaje/células Vero para polio
MMRV	sarampión, parotiditis, rubéola, varicela
MNT	prueba de neutralización en ratones
nm	nanómetro
DO	densidad óptica
PBS	solución salina tamponada con fosfato
PD	farmacodinamia
UFP	unidad formadora de placas
PRNT	neutralización reductora de placas
PP	per-protocol
PRP	fosfato de polirribosil ribitol
PT	toxina pertúsica
RIA	radioinmunoanálisis
Rpm	revoluciones o rotaciones por minuto
SD	desviación estándar
POE	procedimiento operativo estándar



sanofi pasteur
352-Hexaxim


Resumen de estudios de farmacología clínica

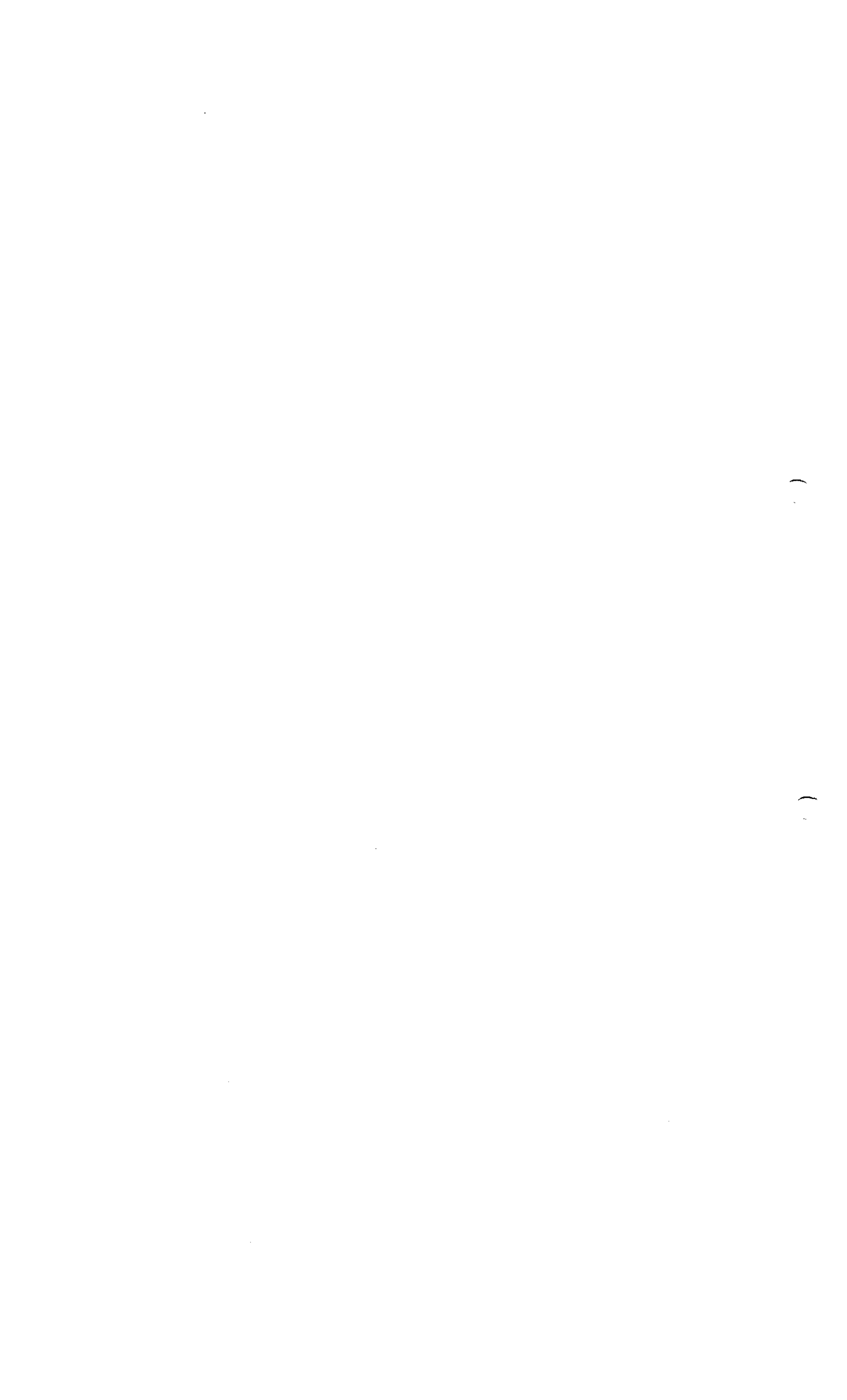
Sección 7.2



SWI	instrucciones de trabajo estándar
T	tétanos
EE. UU.	Estados Unidos
OMS	Organización Mundial de la Salud
VZV	virus de varicela zóster


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Preámbulo

Hexaxim es una nueva vacuna pediátrica hexavalente de combinación que sanofi pasteur ha desarrollado para la inmunización primaria y de refuerzo de lactantes y niños pequeños en el área internacional. Brinda protección contra 6 enfermedades que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera prioritarias para la salud pública: la difteria, el tétanos, la tos ferina (tos convulsiva), la poliomielitis, la hepatitis b y la infección invasiva por *Haemophilus influenzae* tipo b. Las poblaciones objetivo son los lactantes de 6 semanas a 2 meses de edad y los niños en su 2º año de vida, en el área del mercado internacional^a.

Hexaxim es una vacuna totalmente líquida, lista para usar, que se presenta en forma de suspensión para inyección en un vial monodosis o en jeringas precargadas. Combina toxoides diftéricos (D) y tetánicos (T); los antígenos pertúsicos acelulares (aP) de dos componentes, toxoide pertúsico y hemaglutinina filamentosa (FHA); virus inactivados de la poliomielitis de los tipos 1, 2 y 3; polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b conjugado con toxoide tetánico, y un nuevo antígeno recombinante de superficie de hepatitis B (Hep B) producido a partir de la levadura *Hansenula polymorpha*.

Con excepción del componente Hep B, todos estos antígenos han sido investigados extensamente en estudios clínicos como parte de diversas vacunas con licencia producidas por sanofi pasteur: vacunas combinadas contra difteria, tétanos y tos ferina, acelular (DTaP); vacuna de poliovirus inactivado (IPV) (p. ej., Imovax Polio™), Hib conjugado con toxoide tetánico (p. ej., ActHIB™), y vacunas de combinación como DTaP-IPV (p. ej., Tetravac™/Tetraxim™) y DTaP-IPV//Hib (p. ej., Pentavac™/Pentaxim™). Las cantidades de toxoides tetánico y diftérico, antígenos de poliomielitis y antígenos pertúsicos que contiene Hexaxim son idénticas a las de Pentaxim. El único antígeno común que difiere en cantidad es el fosfato de polirribosil ribitol capsular de Hib (PRP) conjugado con toxoide tetánico^b. La hepatitis B es el único componente activo nuevo. Los antígenos de hepatitis B se evaluaron previamente en estudios clínicos (1).

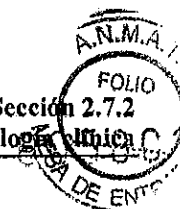
El programa de desarrollo clínico para Hexaxim coincide con las recomendaciones de la OMS. Cubre los esquemas de vacunación más comunes para una serie primaria, que varían en función del país objetivo, desde el más condensado (6, 10, 14 semanas) (PAI) hasta el menos condensado (2, 4, 6 meses) y el refuerzo durante el 2º año de vida. Las vacunas de control se seleccionaron según el estándar de atención de los países en los que se realizaron los estudios. También se evaluó la administración concomitante de Hexaxim con otras vacunas pediátricas y el efecto de la presencia o ausencia de la vacuna contra hepatitis B al nacer.

^a El término "mercado internacional" se utiliza por convención a lo largo de este documento para referirse a los países fuera de Norteamérica y Europa en los que sanofi pasteur desea solicitar la licencia para esta vacuna hexavalente.

^b El PRP-T presente en Hexaxim se ha aumentado de 10 µg/dosis a 12 µg/dosis para garantizar un contenido de PRP-T no adsorbido de 10 µg/dosis.

(

(



1 Antecedentes y fundamentos

El siguiente documento resume los análisis serológicos utilizados para evaluar las respuestas de inmunogenicidad para los objetivos principal, secundario y de observación de los estudios clínicos incluidos en el actual documento de solicitud para la autorización de Hexaxim.

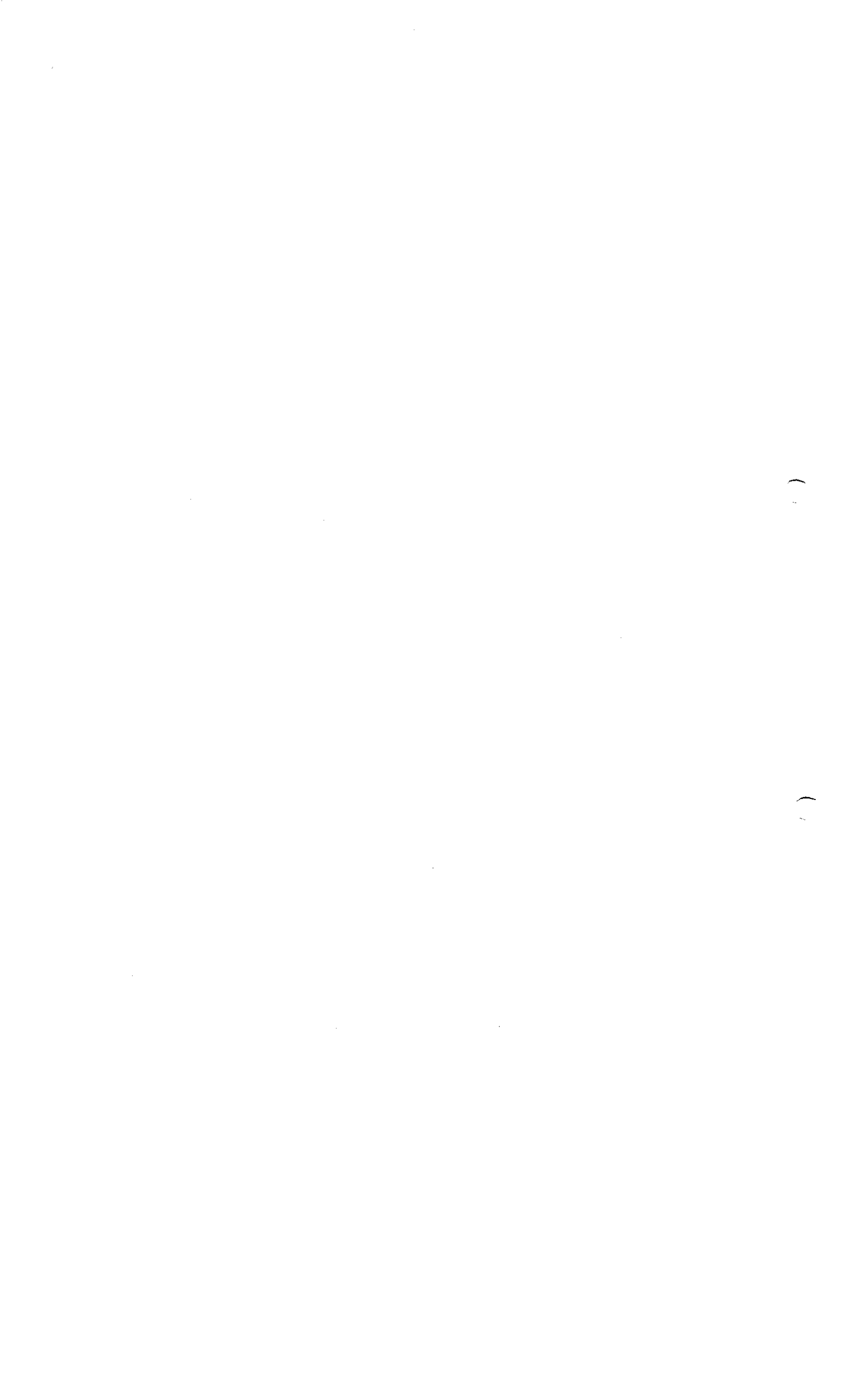
En 2.7.1 Resumen de estudios biofarmacéuticos y métodos analíticos asociados, se presenta una tabla resumen de la composición de Hexaxim.

En ciertos casos concretos no se genera información acerca de la biodisponibilidad de los diferentes componentes de una nueva vacuna (los antígenos y los demás ingredientes) tras la administración, en función de los siguientes parámetros, que son aplicables a Hexaxim:

- La naturaleza del producto (esto es, vacuna con polisacáridos purificados conjugados con proteína portadora del toxoide D).
- La cantidad de antígeno contenida en la dosis inyectada es similar a la de otras vacunas similares comercializadas.
- Hexaxim no contiene adyuvantes nuevos ni excipientes inusuales en comparación con otras vacunas comercializadas.
- La forma farmacéutica es totalmente líquida.
- La vía de administración es por inyección intramuscular (IM), al igual que las vacunas pediátricas que se administran de forma rutinaria. No se utiliza un nuevo sistema de administración de la vacuna para Hexaxim.
- Las mediciones de las respuestas inmunitarias son parámetros adecuados para el análisis de eficacia de este tipo de vacunas pediátricas combinadas. Se han establecido los niveles de seroprotección de anticuerpos frente a la difteria, el tétanos, la poliomielitis (IPV), la hepatitis B y el *Haemophilus influenzae* tipo b, y se definen indicadores indirectos de protección para la respuesta inmunitaria a los antígenos de la difteria en los informes de los estudios clínicos.

Además, esto concuerda con la directriz de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para la evaluación de nuevas vacunas en el sentido de que normalmente no se requieren estudios de farmacocinética y farmacodinamia (FD) para las vacunas (2). Como suele ocurrir con las vacunas, el perfil FD de la vacuna Hexaxim viene definido por su perfil de inmunogenicidad. Los datos relevantes que se resumen en 2.7.3 Resumen de eficacia clínica, ofrecen una perspectiva exhaustiva del enfoque y el fundamento para la creación de la base de datos de respuestas inmunitarias que respalda la dosis, el esquema de dosificación y la forma farmacéutica del producto final. La fundamentación completa de estos estudios de inmunogenicidad se presenta en 2.5 Panorama clínico.

La concordancia de análisis realizada durante el plan de desarrollo clínico de Hexaxim y que respalda los análisis inmunológicos utilizados en los estudios se presenta en la sección 5.





2 Resumen de resultados de estudios individuales

En 2.7.3 Resumen de eficacia clínica, se presenta un resumen completo de la inmunogenicidad y de la eficacia clínica de Hexaxim.

3 Comparación y análisis de los resultados entre los estudios

No se llevaron a cabo estudios de farmacología clínica con Hexaxim que no formaran parte de los estudios de inmunogenicidad y eficacia clínica de Hexaxim descritos en 2.7.3 Resumen de eficacia clínica.

4 Estudios especiales

No se llevaron a cabo estudios especiales con Hexaxim.

5 Metodología del análisis inmunológico

Se utilizaron análisis serológicos para evaluar las respuestas de inmunogenicidad para los objetivos primario, secundario y de observación de todos los estudios clínicos incorporados en este documento de solicitud. Estos estudios clínicos analizaron la seguridad, la eficacia/inmunogenicidad, la uniformidad de lotes y el uso concomitante de Hexaxim con otras vacunas comercializadas y se presentan como descripciones narrativas en 2.7.3 Resumen de eficacia clínica (secciones 2.1, 2.2 y 2.3). La eficacia de la vacuna Hexaxim administrada con diferentes esquemas de inmunización ha sido evaluada por correlatos e indicadores indirectos de protección que se acepta que están correlacionados con la inmunidad protectora (2.7.3 Resumen de eficacia clínica, sección 1.3).

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Inmunología Clínica Global (GCI) de Sanofi Pasteur Inc. en Swiftwater, Pennsylvania, EE. UU., o en laboratorios cualificados contratados y aprobados por sanofi pasteur: Agencia para la Protección de la Salud en Porton Down, Reino Unido; Focus Diagnostics, Inc. en Cypress, California, EE. UU., y en la Universidad de Columbia en Nueva York, EE. UU. En la tabla 5.1 se presenta una lista de los análisis serológicos utilizados para generar los resultados presentados en los informes de estudios clínicos (CSR), ubicados en 5.3.5.1 Informes de estudios clínicos controlados pertinentes para la indicación propuesta, de este documento de solicitud, ordenada por estudio, por antígeno y por ubicación del laboratorio.

0

1



Tabla 5.1: Resumen de análisis por estudio, antígeno y ubicación del laboratorio

Estudio clínico	Análisis	Ubicación del laboratorio
Estudios clínicos de fase I		
A3L01 refuerzo (16-19 meses)	Difteria/ Prueba de inhibición micrometabólica con células Vero e indicador de desarrollo de pH (MIT-pH)	GCI
	Tétanos/ Enzimoanálisis de adsorción para IgG (ELISA)	
	Tos ferina (PT, FHA)/ELISA para IgG	
	Poliovirus/ Prueba de inhibición micrometabólica con virus de tipo salvaje/células Vero (MIT-WT)	
	Antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg)/ Radioinmunoanálisis(RIA) AUSAB® PRP/ RIA	
Estudios clínicos de fase II		
A3L02 primaria (2, 4 y 6 meses)	Difteria/ MIT-pH	GCI
	Tétanos/ ELISA para IgG	
	Tos ferina/ ELISA para IgG	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ AUSAB RIA PRP/ RIA	
Estudios clínicos de fase III		
A3L16 refuerzo (18 meses)	Difteria/ MIT con células Vero y cristal violeta (MIT-CV)	GCI
	Tétanos/ ELISA para IgG	
	Tos ferina/ ELISA para IgG	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis de quimioluminiscencia (análisis VITROS® anti-HBs)	HPA
Conjugado de polisacárido capsular de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b con albúmina de suero humano (HbOHA)/ ELISA		
A3L04 primaria (2, 4 y 6 meses)	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	GCI

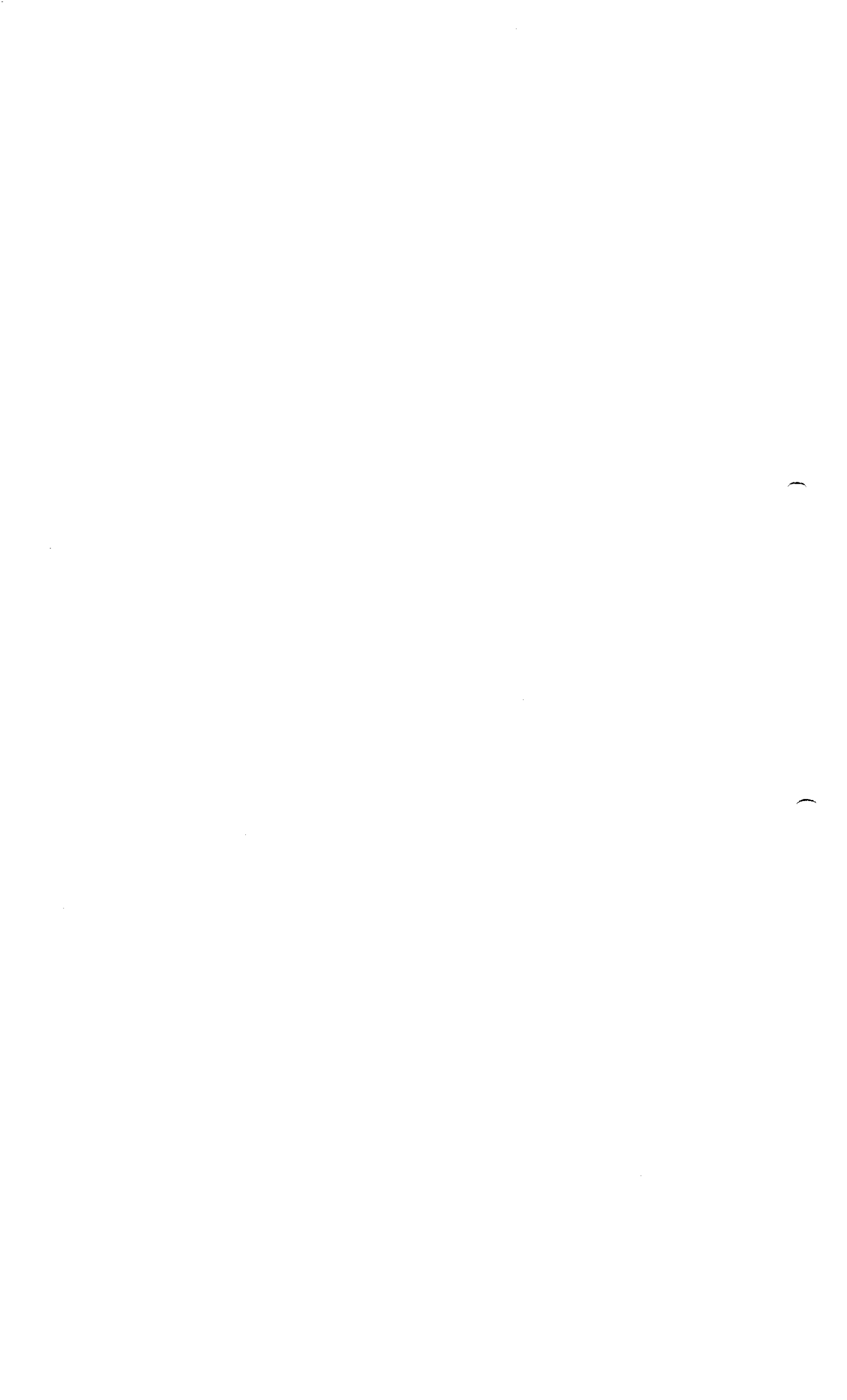
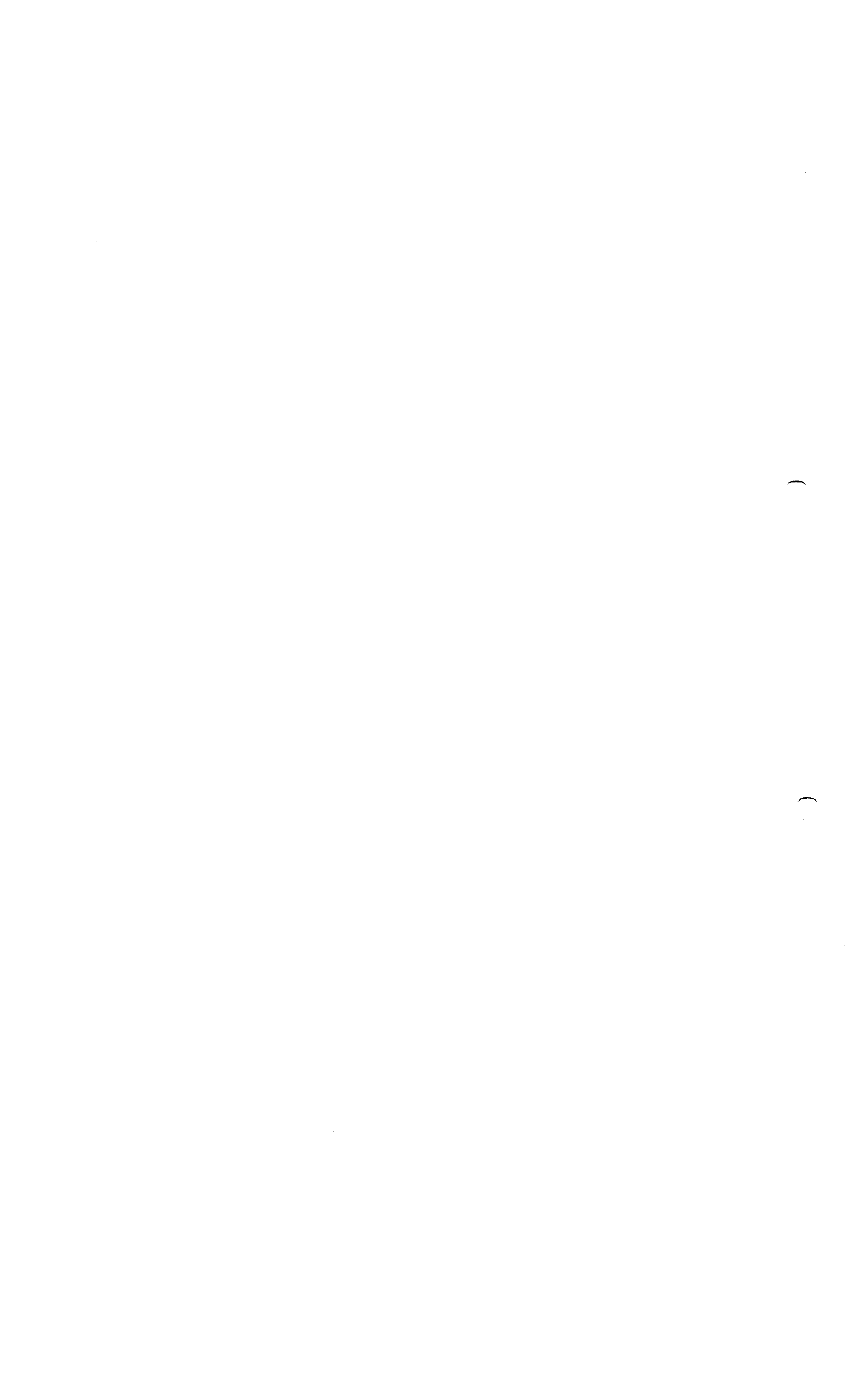


Tabla 5.1: Resumen de análisis por estudio, antígeno y ubicación del laboratorio

Estudio clínico	Análisis	Ubicación del laboratorio
A3L10 primaria (2, 3 y 4 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	Poliovirus/ MIT con virus de la cepa Sabin/células HEp2 (MIT-Sa)	Focus Diagnostics, Inc.
	HbOHA/ ELISA	HPA
A3L2 refuerzo (15-18 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	
A3L11 primaria (2, 4 y 6 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	
A3L21 refuerzo (15-18 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	
A3L12 primaria (2, 4 y 6 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	



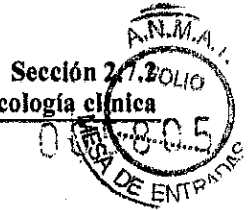


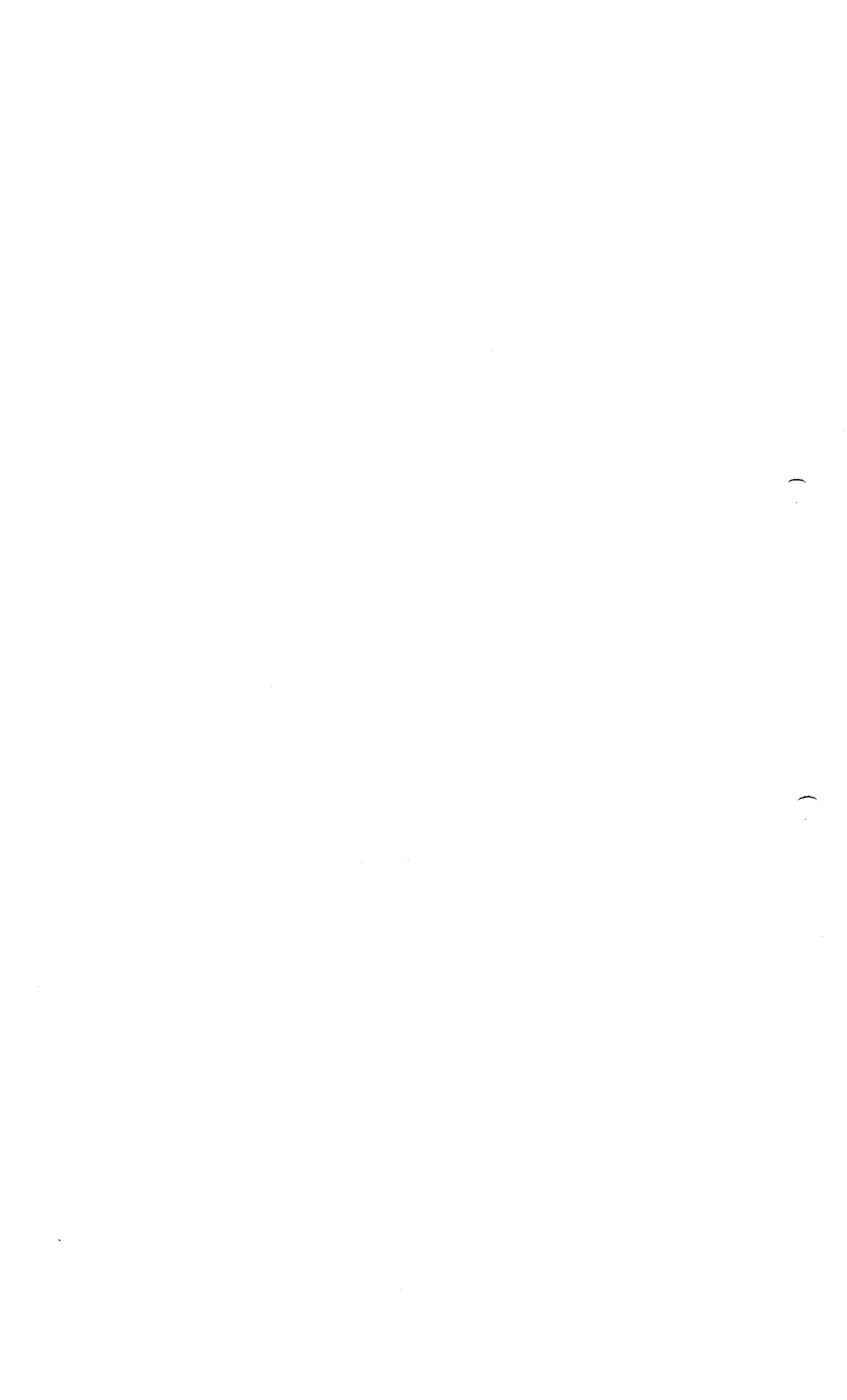
Tabla 5.1: Resumen de análisis por estudio, antígeno y ubicación del laboratorio

Estudio clínico	Análisis	Ubicación del laboratorio
A3L15 primaria (6, 10 y 14 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	
A3L15 refuerzo (15-18 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	Tétanos/ ELISA	
	Tos ferina/ ELISA	
	Poliovirus/ MIT-WT	
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	
	Sarampión, parotiditis, rubéola, varicela (MMRV)/ ELISA	
	Sarampión y parotiditis/ Prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT)	
	Virus de la varicela-zóster (VZV)/ Anticuerpo fluorescente para antígeno de membrana (FAMA)	Universidad de Columbia
A3L17 primaria (2, 4 y 6 meses)	Difteria/ MIT-CV	GCI
	HBsAg/ Análisis VITROS anti-HBs	
	PRP/ RIA	

En las siguientes secciones, se presenta una descripción resumida del principio, justificación y procedimiento de cada análisis serológico realizado. Se presenta también un resumen de los estudios de validación para cada análisis. En 5.3.5.4 Resumen de análisis serológicos, se presentan descripciones detalladas de cada análisis, que demuestran que los análisis son adecuados e idóneos para el uso previsto en la evaluación de muestras clínicas.

De la sección 5.1 a la sección 5.8 se presenta un debate sobre los diferentes procedimientos de análisis serológico, enumerados en la tabla 5.1.

- Difteria:
 - MIT-pH (sección 5.1.1)
 - MIT-CV (sección 5.1.2)
- ELISA para IgG de tétanos (sección 5.2)



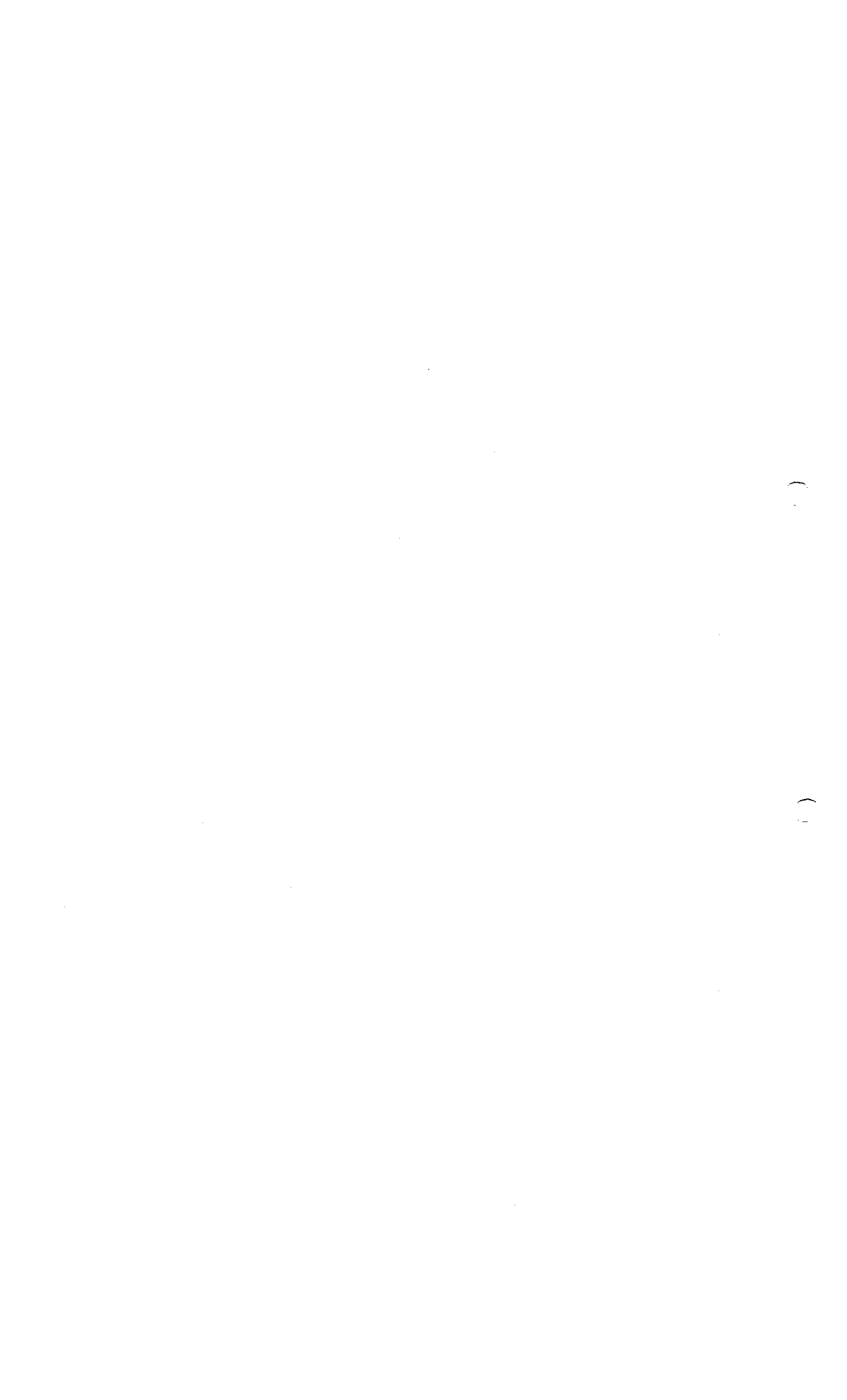


- ELISA para IgG de tos ferina (sección 5.3)
 - ELISA para IgG de PT (sección 5.3.3)
 - ELISA para IgG de FHA (sección 5.3.4)
- Prueba de inhibición micrometabólica para poliovirus
 - con MIT-WT (sección 5.4.1)
 - con MIT-Sa (sección 5.4.2)
- Hepatitis B
 - AUSAB RIA (sección 5.5.1)
 - VITROS anti-HBs (sección 5.5.2)
- *Haemophilus influenzae* tipo b
 - RIA (sección 5.6.1)
 - ELISA (sección 5.6.2)
- Kit ELISA Enzygnost de Dade Behring contra IgG de MMRV (sección 5.7)
 - ELISA Enzygnost contra IgG de sarampión (sección 5.7.3)
 - ELISA Enzygnost contra IgG de parotiditis (sección 5.7.4)
 - ELISA Enzygnost contra IgG de rubéola (sección 5.7.5)
 - ELISA Enzygnost contra IgG de varicela (sección 5.7.6)
- Análisis funcionales para MMV (sección 5.8)
 - PRNT contra sarampión (sección 5.8.1)
 - PRNT contra parotiditis (sección 5.8.2)
 - Análisis FAMA para el virus de varicela zóster (sección 5.8.3)

Durante el desarrollo clínico de Hexaxim se produjeron cambios en las metodologías y en las ubicaciones de los laboratorios, entre la serie primaria y el correspondiente estudio de refuerzo, que se limitaron a los antígenos de difteria, Hep B, PRP y poliovirus.

- Para los estudios A3L02 y A3L16 (Fase II), hubo un cambio en las metodologías de la difteria y la hepatitis B, y un cambio en la metodología de PRP y en la ubicación del laboratorio.
- Para los estudios A3L02 y A3L16 (Fase II), hubo un cambio en las metodologías de PRP y poliovirus y en la ubicación de los laboratorios.

Se llevaron a cabo análisis de concordancia para cuatro de estos análisis, para evaluar la relación entre los métodos y los laboratorios. Se demostró la concordancia para los análisis de la difteria, la hepatitis B y el Hib, pero no para los análisis del poliovirus (se presentan más datos en 2.5 Panorama clínico, sección 3). En las secciones de los análisis asociados se presenta un resumen de los análisis de concordancia.





5.1 Análisis serológicos para difteria

GCI utilizó dos análisis para evaluar anticuerpos diftéricos en sueros humanos: la MIT-pH para toxina diftérica y la MIT-CV para toxina diftérica. Ambos análisis miden la presencia de anticuerpos que neutralizan los efectos biológicos de la toxina diftérica.

La MIT-CV para toxina diftérica es similar a la MIT-pH para toxina diftérica, pero con una lectura más fácil de la monocapa Vero al final del análisis. Se utiliza colorante cristal violeta en lugar del cambio de color de un indicador de pH. A partir de 2006 se utilizó el método MIT-CV para evaluar las respuestas contra la difteria en los estudios de Hexaxim. Un estudio de concordancia mostró que los análisis MIT-pH para toxina diftérica y MIT-CV para toxina diftérica realizados por GCI eran concordantes (sección 5.1.2.5).

5.1.1 Prueba de inhibición micrometabólica para toxina diftérica con indicador de desarrollo de pH

5.1.1.1 Principio de la prueba

La MIT-pH para toxina diftérica es un análisis funcional *in vitro* que mide el nivel de anticuerpos neutralizantes de la toxina diftérica en sueros humanos. Se mezclan diluciones seriadas de suero con toxina de desafío diftérico y se incuban con células Vero sensibles a la toxina. Los anticuerpos neutralizantes específicos para la toxina diftérica que contiene el suero se unen a la toxina de desafío y la neutralizan. La toxina neutralizada no afecta la viabilidad celular; por lo tanto, estas células continúan metabolizando y liberando dióxido de carbono (CO₂), lo cual reduce el pH del medio de cultivo. La supervivencia celular se correlaciona con el cambio en el indicador de pH (rojo de fenol a amarillo a un pH ≤ 7,0) que contenía el medio. En ausencia de anticuerpos neutralizantes, la toxina de desafío reduce el metabolismo celular y la producción de CO₂, con lo que el pH no disminuye y no se detecta ningún cambio de color.

5.1.1.2 Justificación/Fundamentación de la prueba

La MIT-pH para toxina diftérica se considera un análisis muy sensible y específico para determinar la respuesta protectora de anticuerpos a la toxina diftérica secretada por *Corynebacterium diphtheriae* durante la infección. Este procedimiento es reproducible, utiliza un volumen de suero pequeño y permite analizar numerosas muestras de suero al mismo tiempo. La MIT-pH para toxina diftérica, que utiliza células Vero, es un análisis de neutralización recomendado en las directrices del Programa Ampliado de Inmunizaciones de la OMS para determinar el nivel circulante de antitoxina diftérica en sueros humanos (3).

5.1.1.3 Resumen del procedimiento de prueba

MIT-pH para toxina diftérica realizada de conformidad con las instrucciones de trabajo estándar (SWI) J000067 de sanofi pasteur (*Determinación de antitoxina diftérica en unidades internacionales*).

Cada muestra de prueba y control se diluye en diluciones dobles en serie a lo largo de las filas de la placa de microtitulación. En cada pocillo, se dispensa toxina diftérica titulada para que

