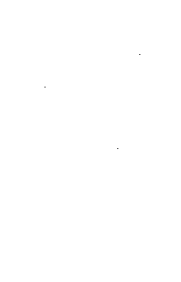


Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 2)	Formulación optimizada (estudio 3)	Formulación inicial (estudio 2)	Formulación optimizada (estudio 3)
Prueba de integridad	Prueba de integridad de cierre del envase con riboflavina al 0,1 % p/v	/	No se detecta presencia de colorante en el contenido de ninguna de las jeringas monodosis analizadas.	+5°C ± 3°C	+25°C ± 2°C
				T0, 12, 24 y 36 meses	T0 y 6 meses

- * Criterio de aceptación no establecido al inicio del estudio.
- † Criterios de aceptación definidos para los lotes futuros utilizados en los próximos estudios de estabilidad y justificados en el párrafo 4.
- ‡ Resultados esperados: No menos del 50 % de los ratones vacunados se seroconvirtieron. Su título no es inferior a 4 veces el título del suero de control agrupado.
- § Esta prueba se llevó a cabo para información, a fin de observar una adsorción máxima del antígeno.
- ** Valor esperado: $\leq 2,5 \mu\text{g/mL}$
- †† Prueba utilizada para documentar la adsorción pero que no se mantuvo para el producto comercializado
- ‡‡ Esta prueba se llevó a cabo para recolectar información que respaldase la eliminación del análisis *in vivo* (se cambió por la prueba *in vitro*). Por tal motivo, no se definieron criterios de aceptación.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.







3.1.2 Resultados de los estudios de estabilidad del producto llenado almacenado en jeringas monodosis

Los resultados detallados se presentan en la sección 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad.

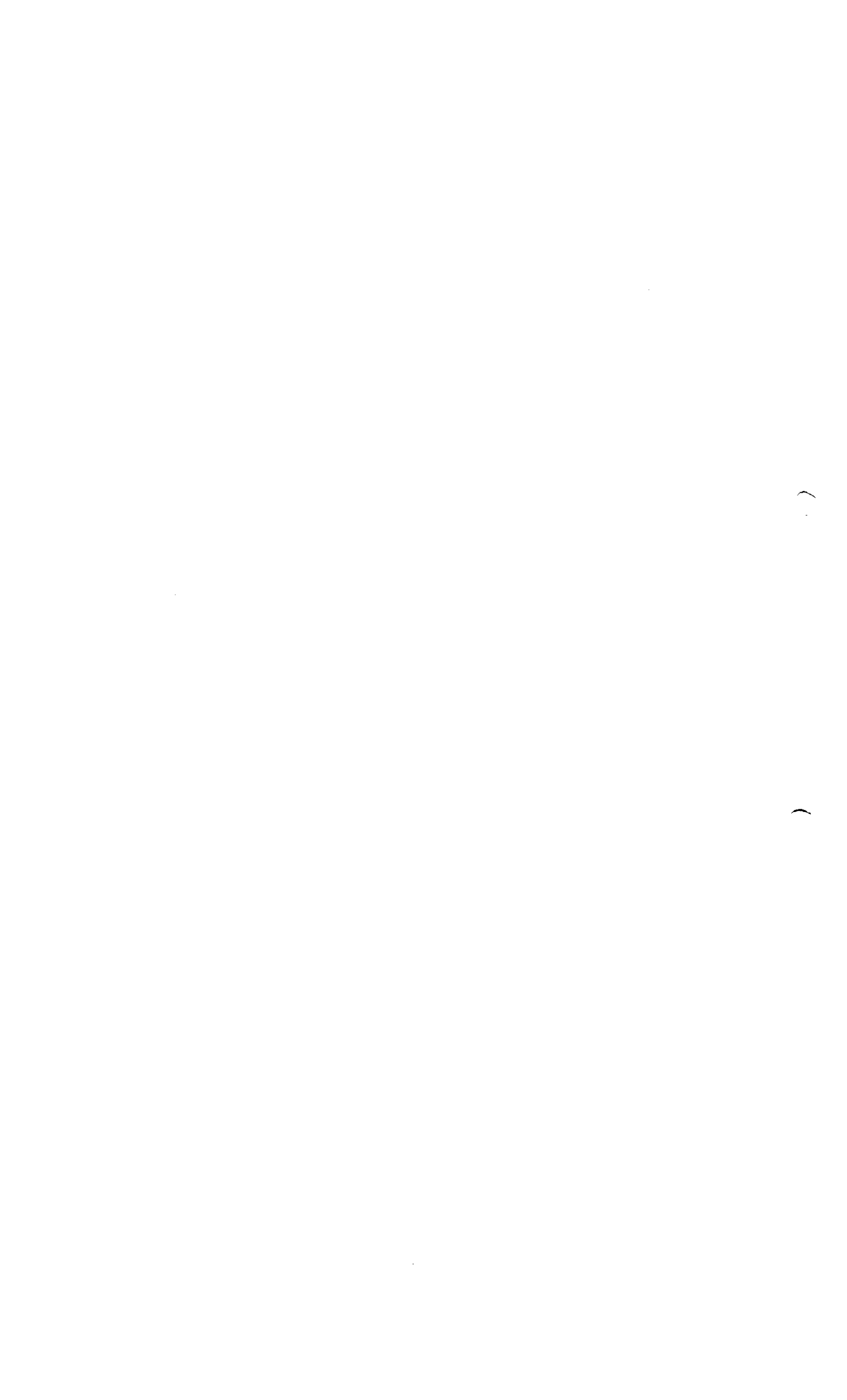
A fin de respaldar la vida útil de 36 meses, se presentan los datos de estabilidad completos sobre la formulación inicial y los datos de estabilidad disponibles sobre la formulación optimizada.

3.1.2.1 Estudio 2: Producto llenado en Marcy l'Etoile con la formulación inicial

El estudio de estabilidad a largo plazo con lotes de la formulación inicial almacenados 36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ está completado.

El estudio de estabilidad 2 se llevó a cabo con tres lotes de PF elaborados con la formulación inicial, evaluando los siguientes parámetros:

- Pruebas fisico-químicas
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes en todos los momentos de medición cumplen los criterios de aceptación salvo el lote S4107 a los 12 meses. De hecho, se observó una partícula blanca en una jeringa de este lote a los 12 meses. Se realizaron pruebas complementarias como identificación de partículas e inspección visual. La identificación de partículas mostró la presencia de fosfato de zinc, tungsteno y sílice, y no se observó ningún elemento visible durante la inspección visual de 100 jeringas como tampoco en los siguientes momentos de medición. Este resultado puntual no está relacionado con la estabilidad del producto;
 - Los resultados de medición del pH, contenido de formaldehído libre, medición de osmolalidad y volumen extraíble cumplen con los criterios de aceptación y se mantienen estables con el tiempo;
 - En los 3 lotes, se observó una tendencia creciente en el PRP no adsorbido, pero los resultados cumplen los criterios de aceptación a lo largo del tiempo;
 - Tal como se esperaba de una vacuna líquida que contenga PRP-T, se observó una tendencia creciente en el PRP despolimerizado, sin que afecte la inmunogenicidad de Haemophilus en los 3 lotes. Se ha generado un modelo de esta evolución (vea el párrafo 4).
- Adsorción
 - Los resultados referidos al porcentaje de adsorción del toxoide tetánico mediante el método Rocket son uniformes para los 3 lotes;
 - Con respecto al porcentaje de adsorción del toxoide diftérico mediante el método Rocket, se observa un aumento significativo con el tiempo en los 3 lotes, sin que afecte los resultados de potencia. Además, no se observó una tendencia con la otra presentación (estudio 4);
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados y son estables a lo largo del tiempo;





- Los resultados relativos a la adsorción del HBsAg muestran una tendencia descendente que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, cumple con el criterio de aceptación y se mantiene estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes. Se ha determinado un modelo no lineal a fin de establecer un criterio de aceptación para la vida útil. El criterio de aceptación al final de la vida útil se define de acuerdo con los datos de estabilidad y clínicos obtenidos con la formulación inicial. (vea el párrafo 4).
- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de potencia diftérica y tetánica, inmunogenicidad de la tos ferina, Haemophilus y hepatitis B (*in vivo*) cumplen con los criterios de aceptación y se mantienen estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes;
 - Con respecto a la potencia de poliomiелitis en pollos y el contenido de antígeno D, los criterios de aceptación se cumplen con los 3 serotipos. Con el tipo 2, la disminución observada en la potencia de la poliomiелitis en pollos podría explicarse en función de la variabilidad de la prueba *in vivo*. Dado que el contenido de antígeno D se mantiene estable y que se ha demostrado que puede detectarse en lotes subpotentes (vea la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones), los resultados se consideran aceptables.
- Seguridad
 - El producto se mantiene estéril a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 36 meses;
 - Los resultados de pirógenos y actividad de sensibilización a la histamina cumplen los criterios de aceptación a lo largo del tiempo.
- Conclusión

A $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 36 meses, todos los resultados cumplen los criterios de aceptación y confirman la calidad y la estabilidad del producto durante la vida útil de 36 meses.

3.1.2.2 Estudio 3: Producto llenado en Marcy l'Etoile con la formulación optimizada

El estudio de estabilidad 3 se lleva a cabo con 3 lotes de PF de MLE elaborados con la formulación optimizada en condiciones normales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) y en condiciones aceleradas (6 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

3.1.2.2.1 Estudio 3: Estudio de estabilidad a largo plazo

El estudio de estabilidad 3 monitoreado con las condiciones de almacenamiento normales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) se evalúa con los siguientes parámetros:

- Pruebas fisico-químicas
 - Los resultados de aspecto, medición del pH, contenido de aluminio y medición de osmolalidad cumplen con los criterios de aceptación;





- Como se menciona respecto del estudio de estabilidad del producto final a granel (vea el párrafo 2.2.1), se observó una tendencia descendente en el contenido de formaldehído libre, que puede explicarse a raíz del consumo a lo largo del tiempo del formaldehído libre por parte de los aminoácidos esenciales. Los resultados cumplen los criterios de aceptación a lo largo del tiempo;
- Los resultados referidos al PRP no adsorbido cumplen con los criterios de aceptación;
- Tal como se esperaba de una formulación líquida que contenga PRP-T, se observó una tendencia creciente en el PRP despolimerizado, sin que afecte la inmunogenicidad de Haemophilus en los 3 lotes. Esta evolución es uniforme en todos los lotes, similar a la formulación inicial y se ha representado en un modelo (vea el párrafo 4). Durante el estudio de estabilidad, se ha definido una especificación de $\leq 50\%$. 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 referidos al porcentaje de adsorción del toxoide diftérico y tetánico mediante el método Rocket son uniformes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para el toxoide diftérico de $\geq 23\%$ (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con este criterio de aceptación;
 - Se observó una tendencia descendente en los resultados de adsorción de HBsAg que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, la cual sigue cumpliendo con los requisitos en los 3 lotes. Se ha determinado un modelo no lineal a fin de establecer un criterio de aceptación para la vida útil (vea el párrafo 4) y se ha definido una especificación de $\geq 28\%$. Los resultados son uniformes en los tres lotes y cumplen con los criterios de aceptación durante el estudio de estabilidad.
- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de potencia diftérica y tetánica, inmunogenicidad de la tos ferina y hepatitis B (*in vivo*), y contenido de antígeno D cumplen con los criterios de aceptación. Con los lotes FDNC0491 y FDNC0504, la prueba de inmunogenicidad de la tos ferina a los T18 meses está en curso;
 - Los resultados de contenido de antígeno D no adsorbido son uniformes para los 3 lotes;
 - La inmunogenicidad de Haemophilus cumple con los resultados esperados;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para la potencia relativa de la hepatitis B de $\geq 0,70$ (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con este criterio de aceptación.
- Conclusión

El estudio de estabilidad a largo plazo con lotes industriales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) está en curso. Todos los resultados disponibles cumplen con los criterios de aceptación tras 18 meses de almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

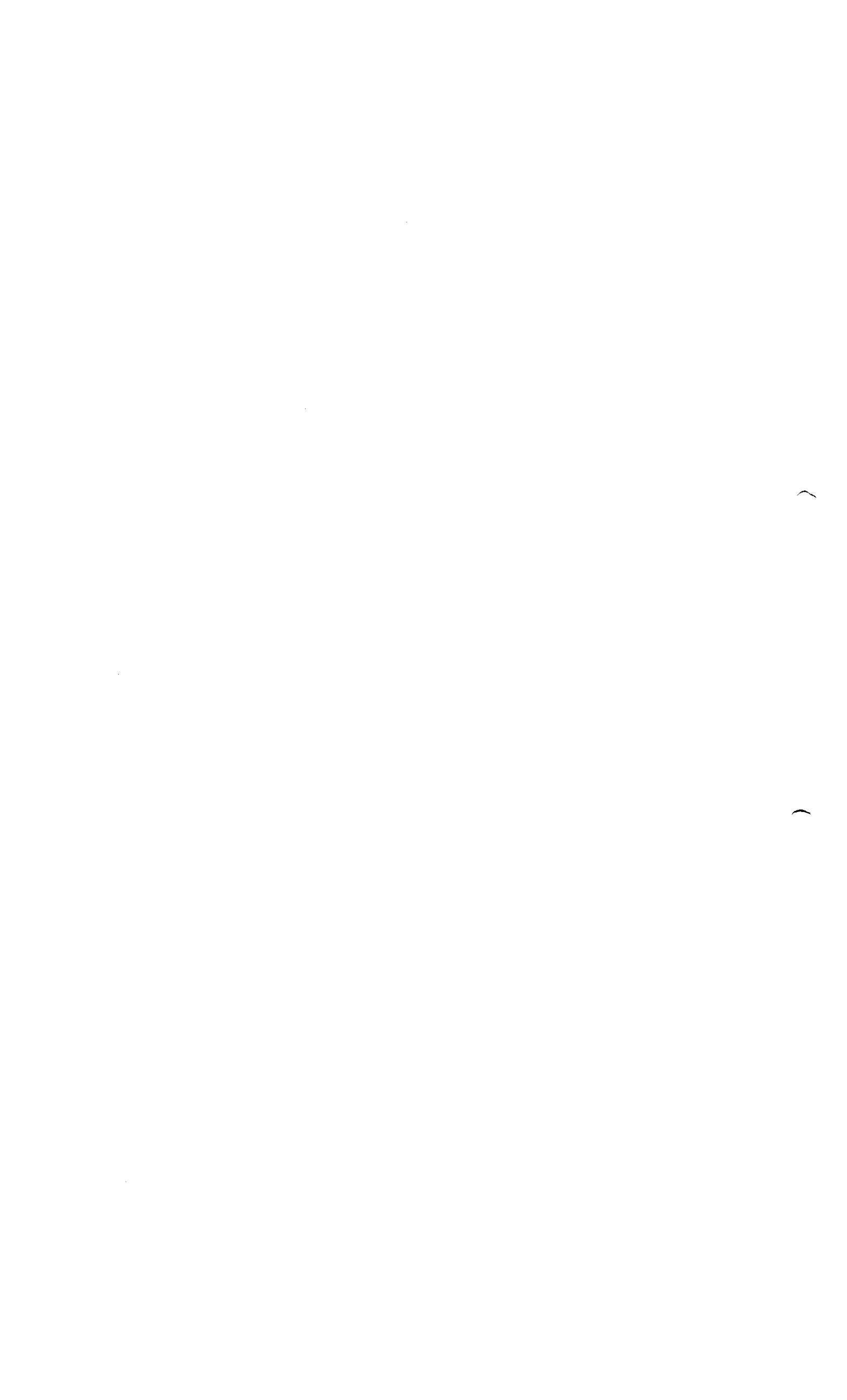




3.1.2.2.2 Estudio 3: Condiciones de almacenamiento aceleradas

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

- Pruebas fisico-químicas
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes en todos los momentos de medición cumplen los criterios de aceptación. Sin embargo, se observó una partícula blanca en el lote FDNC0491 a los 6 meses. La presencia de esta partícula en un solo momento de medición en este lote permite concluir que se trata de un resultado puntual y no es signo de la degradación del producto;
 - La medición del pH cumple con los criterios de aceptación y se mantiene estable a lo largo del tiempo;
 - Se observó un aumento de PRP no adsorbido en los 3 lotes, con resultados que siguieron cumpliendo los requisitos a lo largo del tiempo;
 - Tal como se observó en las condiciones de almacenamiento normales, se registró un aumento en el PRP despolimerizado.
- Adsorción
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados y son estables a lo largo del tiempo;
 - Con respecto al porcentaje de adsorción de los toxoides diftérico y tetánico mediante el método Rocket, se observa un aumento con el tiempo, sin que afecte los resultados de potencia;
 - Tal como se observó en las condiciones de almacenamiento normales, se registró una disminución en la adsorción del HBsAg que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, que siguió cumpliendo con los requisitos y se mantuvo estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes.
- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de potencia diftérica, potencia tetánica e inmunogenicidad de la hepatitis B (*in vivo*) cumplen con los criterios de aceptación y se mantienen estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes;
 - La inmunogenicidad de Haemophilus cumple con los resultados esperados hasta los 3 meses. A los 6 meses, los resultados fallaron para los 3 lotes;
 - Con respecto al contenido de antígeno D, los criterios de aceptación se cumplen con los 3 serotipos. Con el tipo 1 se observa una disminución. Como los resultados cumplen con los criterios de aceptación, los resultados se consideran aceptables;
 - Los resultados de inmunogenicidad de la tos ferina cumplen con los criterios de aceptación hasta los 3 meses, salvo con el lote FDNC0504. De hecho, esta prueba fue no válida a los 3 meses para este lote. El momento de medición de los 6 meses está en curso.





- Seguridad
 - El producto se mantiene estéril a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 6 meses;
 - La prueba de integridad sigue cumpliendo con los requisitos.
- Conclusión

Basándose en los resultados disponibles, se puede concluir que el producto es estable durante 3 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.1.2.3 Conclusión general de los estudios de estabilidad con el producto llenado almacenado en jeringas monodosis

Los datos de estabilidad disponibles con 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 realizado un estudio de comparabilidad (vea la sección 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración) entre la formulación inicial y la optimizada. El estudio demuestra que los atributos de calidad de la formulación inicial y la formulación optimizada son muy similares. Por consiguiente, la estabilidad de la formulación optimizada queda respaldada por la estabilidad de la formulación inicial.

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

Asimismo, el estudio de estabilidad acelerada (a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) demuestra que desviaciones breves que se alejan de las condiciones indicadas (p. ej. en caso de que se interrumpa 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 PF colocados en estabilidad se resume en la Tabla 7 para Anagni y en la Tabla 8 para VDR.

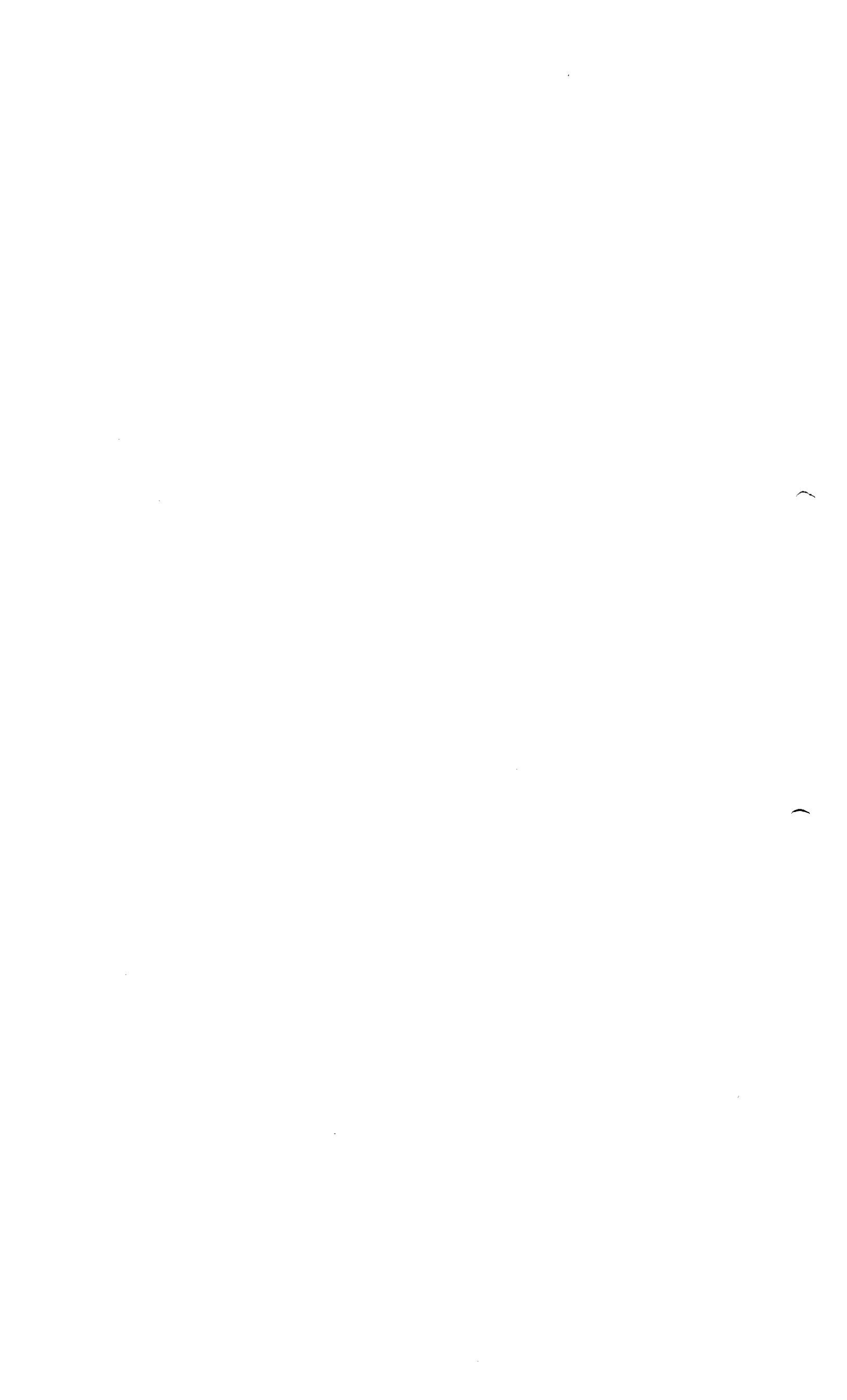




Tabla 7: Lotes analizados para el estudio de estabilidad realizado con producto llenado en Anagni con la formulación inicial (estudio 4)

Producto llenado					Producto final a granel correspondiente
Número de lote	Lugar de elaboración	Comienzo del estudio	Tamaño de lote	Cierre del envase	Número de lote
S4114	Anagni	30 mar 2006	127 021 unidades	Vial monodosis de vidrio con tapón y tapa	FDNC0005
S4115	Anagni	30 mar 2006	133 637 unidades	Vial monodosis de vidrio con tapón y tapa	FDNC0006
S4116	Anagni	30 mar 2006	118 684 unidades	Vial monodosis de vidrio con tapón y tapa	FDNC0007


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


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

3.2.1.2 Pruebas y criterios de aceptación

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

Los otros parámetros analizados durante los estudios de estabilidad se investigaron para obtener información complementaria, como se detalla a continuación:


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





- Prueba de integridad
Esta prueba es indicadora de estabilidad; de hecho, permite evaluar la capacidad del sistema de cierre del envase para brindar protección y mantener la eficacia y la esterilidad durante la vida útil del producto farmacéutico estéril.
- Inmunogenicidad contra Haemophilus
La monografía 2067 de la Ph. Eur. requiere realizar esta prueba durante el desarrollo de la vacuna para demostrar la respuesta inmunitaria al PRP.
- PT no adsorbido y FHA no adsorbida
Según lo requiere la monografía 0153 de la Ph. Eur., estas pruebas se realizan durante el desarrollo de la vacuna para demostrar que el antígeno se mantiene adsorbido por completo a lo largo del tiempo.
- Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico (método Rocket)
Según lo requiere la monografía 0153 de la Ph. Eur., esta prueba se realiza durante el desarrollo de la vacuna para documentar la adsorción del antígeno a lo largo del tiempo.
- Prueba de potencia de la poliomielitis en pollos y análisis de inmunogenicidad en ratas para la vacuna IPV
La prueba de potencia de la poliomielitis en pollos se realiza con la formulación inicial. Este método ha sido cambiado con la formulación optimizada por el análisis de inmunogenicidad en ratas para la vacuna IPV.
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 la vacuna IPV. Además, esta prueba se utilizó para respaldar su eliminación y el cambio por una prueba *in vitro* como se describe en la Ph. Eur. 2.7.20 "Análisis *in vivo* de la vacuna antipoliomielítica (inactivada)".
- Contenido de antígeno D no adsorbido
Según lo requiere la monografía 0153 de la Ph. Eur., esta prueba se realiza durante el desarrollo de la vacuna para documentar la adsorción del antígeno a lo largo del tiempo.
- Inmunogenicidad de la hepatitis B
De acuerdo con la monografía 2067 de la Ph. Eur. y la Ph. Eur. 2.7.15, se ha implementado un método inmunoquímico para reducir las pruebas en animales, y se han aplicado tanto métodos *in vivo* como *in vitro* durante el desarrollo del producto.
- Toxicidad específica en relación con los componentes diftérico y tetánico
Esta prueba se realiza durante el desarrollo del producto de acuerdo con la monografía 2067 de la Ph. Eur.

Todas las pruebas realizadas durante los estudios de estabilidad del PF de Anagni y VDR, con sus métodos y criterios de aceptación asociados, se resumen en la Tabla 9 en relación con la formulación inicial y la formulación optimizada.



Tabla 9: Pruebas de estabilidad y criterios de aceptación para el producto llenado en Anagni y Val de Reuil realizadas, respectivamente, con la formulación inicial y la formulación optimizada (estudios de estabilidad 4 y 5)

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)
Aspecto	Ph. Eur. 2.9.20, edición actual Inspección visual	Suspensión blanqueza y turbia	Suspensión blanqueza y turbia	+5°C ± 3°C	+25°C ± 2°C
Medición del 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 Análisis colorimétrico	≤ 30 µg/mL	≤ 30 µg/mL	T0, 12, 24 y 36 meses	/
Volumen extraíble	Ph. Eur. 2.9.17, edición actual Volumen = masa/densidad	Por lo menos el volumen nominal	Por lo menos el volumen nominal	T0 y 36 meses	T0 y 36 meses
Contenido de aluminio	Según la Ph. Eur. 2.5.13, edición actual Análisis de complexometría (EDTA)	/	0,40-0,80 mg/dosis	/	/
Medición de osmolaridad	Ph. Eur. 2.2.35, edición actual Método físico-químico	250-450 mosmoles/kg	300-400 mosmoles/kg	T0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	
Poliirribosil ribitol fosfato (PRP) no adsorbido	Ph. Eur. 2.2.29, edición actual Cromatografía de intercambio iónico 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†		

ROXANA MONTMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.





sanofi pasteur
352 - Hexaxim

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)
Potencia diftérica	Ph. Eur. 2.7.6, edición actual Prueba de desafío intradérmico en cobayos, inyección de la vacuna por vía intradérmica	Actividad ≥ 30 IU/dosis Límite inferior de confianza ($P = 0,95$) de la potencia estimada ≥ 20 UI/dosis	Actividad ≥ 30 IU/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 desafío en ratones, inyección de la vacuna por vía subcutánea	Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis	Límite inferior de confianza ($P=0,95$) de la potencia estimada ≥ 40 UI/dosis		
Actividad de sensibilización a la histamina	Ph. Eur. monografía 2067, edición actual Inyección de la vacuna en ratones por vía intraperitoneal, seguida por la inyección de una solución basada en histamina	Supervivencia ≥ 95 %	Supervivencia ≥ 95 %	T0, 12, 24 y 36 meses	/
Inmunogenicidad de la tos ferina	Ph. Eur. 2.7.16, edición actual Prueba de inmunogenicidad en ratones (análisis serológico: método ELISA)	Los títulos de anticuerpos anti-toxide pertúsico (PTxd) y anti-hemaglutinina filamentosa (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 filamentosa (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

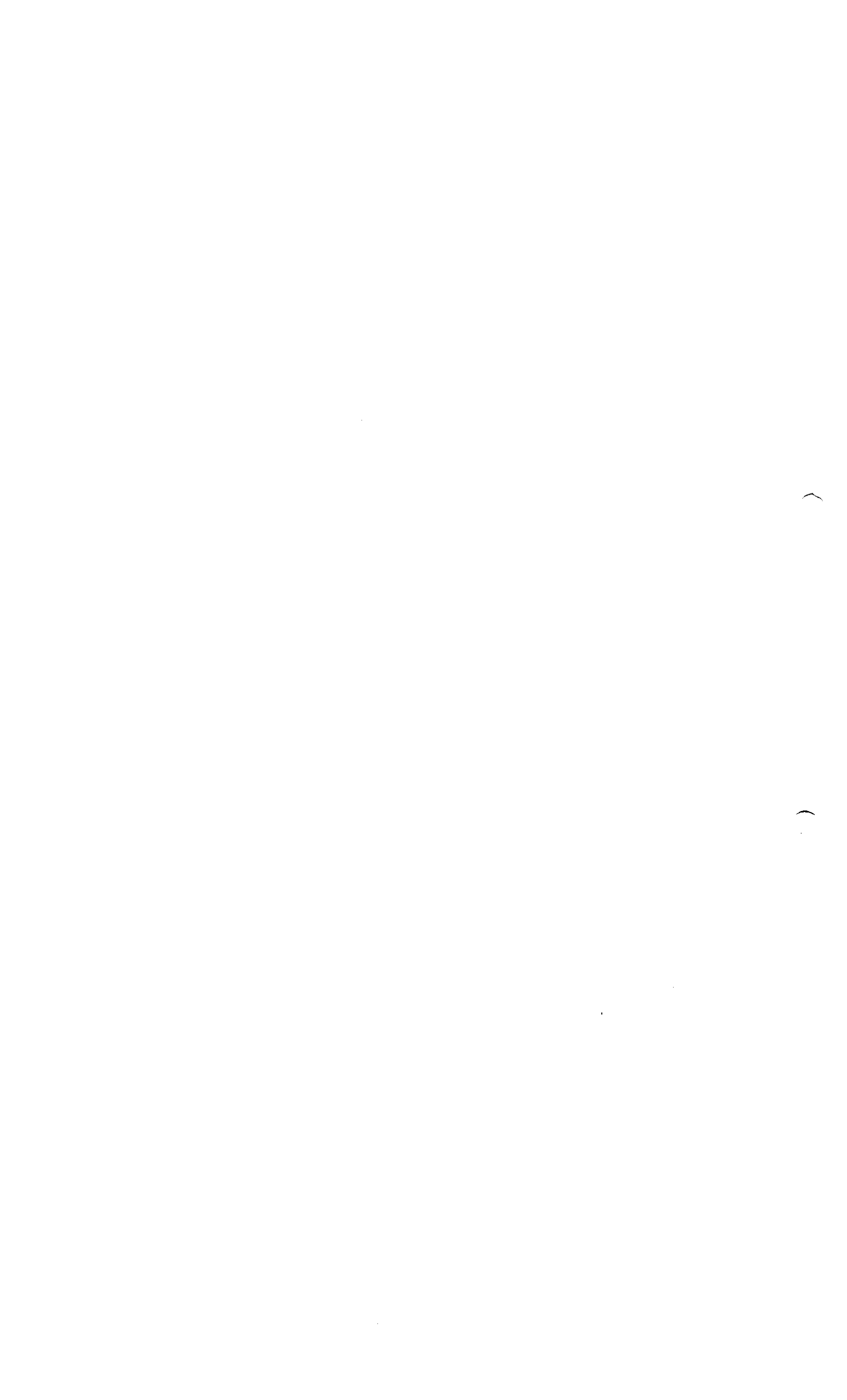
ROXANA MONTENILON
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301819

Información confidencial/proprietaria
Página 28 de 44





sanofi pasteur
352 - Hexaxim

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)
Inmunogenicidad contra Haemophilus	Prueba de inmunogenicidad en ratones (análisis serológico: método ELISA)	No menos del 50 % de los ratones vacunados se seroconvirtieron. Su título no es inferior a 4 veces el título 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, 12, 24 y 36 meses	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**	T0, 12, 24 y 36 meses	T0, 6, 12, 24 y 36 meses
Porcentaje de adsorción del toxoide tetánico	Método de inmunoelectroforesis Rocket	Para información††	Para información††	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 3, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses
Porcentaje de adsorción del toxoide diftérico	Método de inmunoelectroforesis Rocket	Para información*	Para información*	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses
Potencia de la poliomielititis en pollos	Ph. Eur. 2.7.20, edición actual Análisis <i>in vivo</i> en pollos	Tipo 1 ≥ 2 Tipo 2 ≥ 2 Tipo 3 ≥ 2	/	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	/
Análisis de inmunogenicidad en ratas, IPV	Según la Ph. Eur. 2.7.20, edición actual Análisis <i>in vivo</i> en ratas	/	Para información††	/	T0, 12, 24 y 36 meses
Contenido de antígeno D	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método ELISA	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 59 UD/dosis Tipo 3: 1736 UD/dosis	Tipo 1: 20-43 UD/dosis Tipo 2: 59 UD/dosis Tipo 3: 1736 UD/dosis	T0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses	T0, 1, 3 y 6 meses

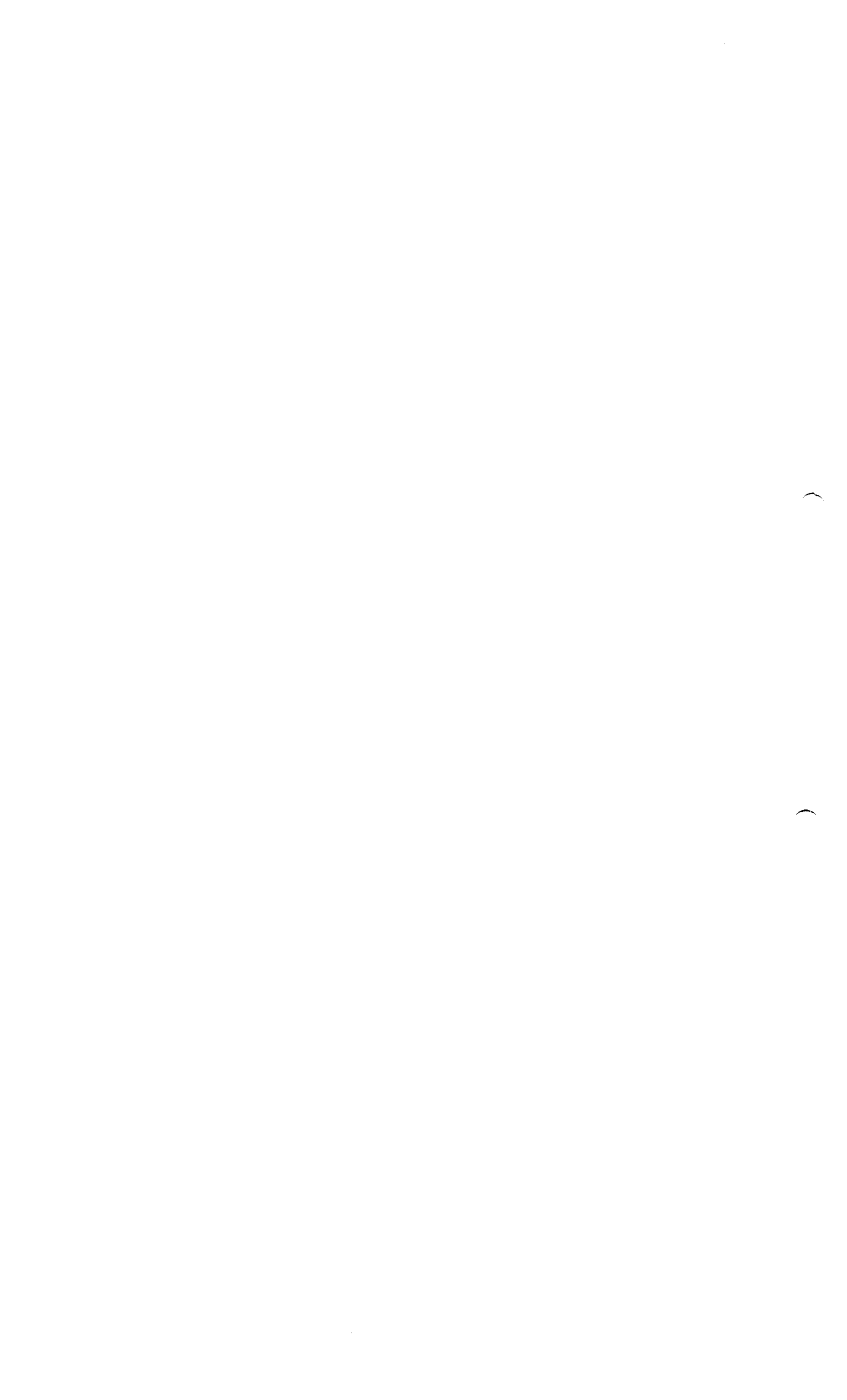
ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301819

Información confidencial/proprietaria
Página 29 de 44





sanofi pasteur
352 - Hexaxim

Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (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, 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 de la hepatitis B	Ph. Eur. 2.7.15, edición actual Método ELISA	El límite superior de confianza ($P = 0,95$) de la potencia relativa estimada es no inferior a 1,0.	El límite superior de confianza ($P = 0,95$) de la potencia relativa estimada es no inferior a 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 los animales	Conforme al criterio de la Ph. Eur.	Conforme al criterio de la Ph. Eur.		/
Toxicidad específica en relación con los componentes diftérico y tetánico	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 periodo 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 MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301819





Prueba	Método de referencia	Criterios de aceptación		Frecuencia	
		Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)	Formulación inicial (estudio 4)	Formulación optimizada (estudio 5)
Prueba de integridad	Prueba de integridad de cierre del envase con riboflavina al 0,1 % p/v	/	No se detecta presencia de colorante en el contenido de ninguno de los viales monodosis analizados.	+5°C ± 3°C	+25°C ± 2°C
				T0, 12, 24 y 36 meses	T0 y 6 meses

- * Criterio de aceptación no establecido al inicio del estudio de estabilidad.
- † Criterios de aceptación definidos para los lotes futuros utilizados en los próximos estudios de estabilidad y justificados en el párrafo 4.
- ‡ Resultados esperados: No menos del 50 % de los ratones vacunados se seroconvirtieron. Su título no es inferior a 4 veces el título del suero de control agrupado.
- § Esta prueba se llevó a cabo para información, a fin de observar una adsorción máxima del antígeno.
- ** Valor esperado: ≤ 2,5 µg/mL
- †† Prueba utilizada para documentar la adsorción pero que no se mantuvo para el producto comercializado
- ‡‡ Esta prueba se llevó a cabo para recolectar información que respaldase la eliminación del análisis *in vivo* (se cambió por la prueba *in vitro*). Por tal motivo, no se definieron criterios de aceptación.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301819







3.2.2 Resultados de los estudios de estabilidad del producto llenado almacenado en viales monodosis

Los resultados detallados se presentan en la sección 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad.

A fin de respaldar la vida útil de 36 meses, se presentan los datos de estabilidad completos sobre la formulación inicial y los datos de estabilidad en curso sobre la formulación optimizada.

3.2.2.1 Estudio 4: Producto llenado en Anagni con la formulación inicial

El estudio de estabilidad a largo plazo con lotes de la formulación inicial almacenados 36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ está completado.

El estudio de estabilidad 4 se lleva a cabo con 3 lotes de PF elaborados con la formulación inicial, evaluando los siguientes parámetros:

- Pruebas fisico-químicas
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes en todos los momentos de medición cumplen los criterios de aceptación. Sin embargo, se observaron partículas blancas en el lote S4116 a los 36 meses. Luego de una investigación, la identificación de las partículas como partículas de hidróxido de aluminio mostró que son endógenas del producto. Dado que no se observaron partículas en los momentos de medición anteriores con este lote en particular, este resultado puntual no está vinculado con la estabilidad del producto;
 - Los resultados de medición del pH, contenido de formaldehído libre, medición de osmolalidad y volumen extraíble cumplieron con los criterios de aceptación y se mantienen estables con el tiempo;
 - En los 3 lotes, se observó una tendencia creciente en el PRP no adsorbido, pero los resultados siguen cumpliendo los requisitos a lo largo del tiempo;
 - Tal como se esperaba de una formulación líquida que contenga PRP-T, se observó una tendencia creciente en el PRP despolimerizado, sin que afecte la inmunogenicidad de Haemophilus en los 3 lotes. Esta evolución es uniforme en todos los lotes, similar a la formulación inicial y se ha representado en un modelo (vea el párrafo 4).
- Adsorción
 - Los resultados referidos al porcentaje de adsorción del toxoide diftérico mediante el método Rocket son uniformes;
 - Con respecto al porcentaje de adsorción del toxoide tetánico mediante el método Rocket, se observa un aumento significativo con el tiempo en los lotes S4115 y S4116, sin que afecte los resultados de potencia. Además, no se observó una tendencia con la otra presentación (estudio 2);
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados y son estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados relativos a la adsorción del HBsAg muestran una tendencia descendente que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, cumple con los requisitos y se



mantiene estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes. Se ha determinado un modelo no lineal a fin de establecer un criterio de aceptación para la vida útil (vea el párrafo 4)

- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de actividad diftérica y tetánica, inmunogenicidad de la tos ferina, Haemophilus y hepatitis B (*in vivo*), potencia de la poliomielitis en pollos y contenido de antígeno D cumplen con los criterios de aceptación y se mantienen estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes.
- Seguridad
 - El producto se mantiene estéril a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 36 meses;
 - Los resultados de pirógenos siguen cumpliendo con los requisitos;
 - En cuanto a la actividad de sensibilización a la histamina, se observó un valor fuera de especificación en el lote S4115 a los 12 meses, pero no se confirmó en los momentos de medición siguientes. Se realizó una investigación, cuya conclusión fue que no se afectan la calidad ni la estabilidad del producto.
- Conclusión

Todos los resultados de estabilidad cumplen con los criterios de aceptación y confirman la estabilidad del producto a lo largo de la vida útil de 36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.2 Estudio 5: Producto llenado en Val de Reuil con la formulación optimizada

El estudio de estabilidad 5 se lleva a cabo con tres lotes de PF de VDR elaborados con la formulación optimizada en condiciones de almacenamiento normales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) y en condiciones aceleradas (6 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

3.2.2.2.1 Estudio 5: Estudio de estabilidad a largo plazo

El estudio de estabilidad 5 monitoreado con las condiciones de almacenamiento normales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) se evalúa con los siguientes parámetros:

- Pruebas físico-químicas
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes en todos los momentos de medición cumplen los criterios de aceptación. Sin embargo, se observaron partículas blancas en el lote S4312 a los 6 meses. Luego de una investigación, la identificación de las partículas como partículas de hidróxido de aluminio mostró que son endógenas del producto. Dado que no se observaron partículas en los siguientes momentos de medición con este lote en particular, este resultado puntual no está vinculado con la estabilidad del producto;
 - Los resultados de medición del pH, contenido de aluminio y medición de osmolalidad cumplen con los criterios de aceptación;





- Como se menciona respecto del estudio de estabilidad del producto final a granel (vea el párrafo 2.2.1), se observó una tendencia descendente en el contenido de formaldehído libre, que puede explicarse a raíz del consumo a lo largo del tiempo del formaldehído libre por parte de los aminoácidos esenciales. Los resultados cumplen los criterios de aceptación a lo largo del tiempo;
- En los 3 lotes, se observó una tendencia creciente en el PRP no adsorbido hasta los T6 meses que se mantuvo estable en los siguientes momentos de medición. Todos los resultados cumplen con los criterios de aceptación;
- Tal como se esperaba de una formulación líquida que contenga PRP-T, se observó una tendencia creciente en el PRP despolimerizado, sin que afecte la inmunogenicidad de Haemophilus en los 3 lotes. Esta evolución es uniforme en todos los lotes, similar a la formulación inicial y se ha representado en un modelo (vea el párrafo 4). Durante el estudio de estabilidad, se ha definido una especificación de $\leq 50\%$. 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 referidos al porcentaje de adsorción del toxoide diftérico y tetánico mediante el método Rocket son uniformes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para el toxoide diftérico de $\geq 23\%$ (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con este criterio de aceptación. Se observó un resultado atípico en la adsorción del toxoide tetánico del lote S4314 a los 18 meses que no se confirmó en el nuevo análisis;
 - Los resultados relativos a la adsorción del HBsAg muestran una tendencia descendente que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, cumple con los requisitos y se mantiene estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes. Se ha determinado un modelo no lineal a fin de establecer un criterio de aceptación para la vida útil (vea el párrafo 4) y se ha definido una especificación de $\geq 28\%$. Los resultados son uniformes en los 3 lotes y cumplen con este criterio de aceptación durante el estudio de estabilidad.
- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de potencia diftérica y tetánica, inmunogenicidad de la tos ferina y hepatitis B (*in vivo*), y contenido de antígeno D total cumplen con los criterios de aceptación. Con los lotes S4312 y S4313 a los T18 meses, las pruebas de inmunogenicidad de la FHA pertúsica no fueron válidas y no se realizaron nuevos análisis debido a la proximidad del siguiente momento de medición (T24 meses);
 - La inmunogenicidad de Haemophilus cumple con los resultados esperados;
 - Los resultados de contenido de antígeno D no adsorbido son uniformes para los 3 lotes;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes. Asimismo, durante el estudio de estabilidad se ha definido una especificación para la potencia relativa de la hepatitis B de $\geq 0,70$ (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones). Los resultados cumplen con este criterio de aceptación.





- Conclusión

El estudio de estabilidad a largo plazo con lotes industriales (36 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) está en curso. Todos los resultados disponibles cumplen con los criterios de aceptación tras 18 meses de almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.2.2 Estudio 5: Condiciones de almacenamiento aceleradas

El estudio de estabilidad 5 monitoreado con las condiciones de almacenamiento aceleradas (6 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) se evalúa con los siguientes parámetros:

- Pruebas fisico-químicas
 - En cuanto al aspecto, todos los lotes en todos los momentos de medición cumplen los criterios de aceptación. No obstante, se observaron partículas blancas en el momento de medición de 1 mes en los 3 lotes. Luego de una investigación, la identificación de las partículas como partículas de hidróxido de aluminio mostró que son endógenas del producto. Dado que no se observaron partículas en los siguientes momentos de medición, este resultado puntual no está vinculado con la estabilidad del producto;
 - La medición del pH cumple con los criterios de aceptación y se mantiene estable a lo largo del tiempo;
 - Tal como se observó en las condiciones de almacenamiento normales, se registró un aumento de PRP no adsorbido en los 3 lotes, pero los resultados siguieron cumpliendo los requisitos a lo largo del tiempo;
 - Tal como se observó en las condiciones de almacenamiento normales, se registró un aumento en el PRP despolimerizado.
- Adsorción
 - El PT no adsorbido y la FHA no adsorbida cumplen con los valores esperados y son estables a lo largo del tiempo;
 - Con respecto al porcentaje de adsorción de los toxoides diftérico y tetánico mediante el método Rocket, se observa un aumento con el tiempo, sin que afecte los resultados de potencia;
 - Tal como se observó en las condiciones de almacenamiento normales, se registró una disminución en la adsorción del HBsAg que no afecta la inmunogenicidad de la hepatitis B, que siguió cumpliendo con los requisitos y se mantuvo estable a lo largo del tiempo en los 3 lotes.
- Potencia e inmunogenicidad
 - Los resultados de potencia diftérica y tetánica, inmunogenicidad de la tos ferina y hepatitis B (*in vivo*) cumplen con los criterios de aceptación y se mantienen estables a lo largo del tiempo;
 - Los resultados de potencia relativa de la hepatitis B (*in vitro*) son uniformes para los 3 lotes;
 - Los resultados de inmunogenicidad de Haemophilus son los esperados, salvo por el lote S4313 en el momento de medición a los 6 meses;



- Con respecto al contenido de antígeno D, los criterios de aceptación se cumplen con los 3 serotipos. Con el tipo 1 se observa una disminución. Como los resultados cumplen con los criterios de aceptación, se los considera aceptables.
- Seguridad
 - El producto se mantiene estéril a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 6 meses;
 - Los resultados de la prueba de integridad siguen cumpliendo con los requisitos.
- Conclusión

El estudio de estabilidad acelerada con lotes industriales (6 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) está completado. Todos los resultados cumplen con los criterios de aceptación y son estables después de 3 meses a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.3 Conclusión general de los estudios de estabilidad con el producto llenado almacenado en viales monodosis

Los datos de estabilidad disponibles con 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 realizado un estudio de comparabilidad (vea la sección 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración) entre la formulación inicial y la optimizada. El estudio demuestra que los atributos de calidad de la formulación inicial y la formulación optimizada son muy similares. Por consiguiente, la estabilidad de la formulación optimizada queda respaldada por la estabilidad de la formulación inicial.

Así, sobre la base del estudio de comparabilidad (vea la sección 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración) y los resultados de estabilidad disponibles con la formulación optimizada, sanofi pasteur declara una vida útil de 36 meses para la formulación optimizada almacenada en viales monodosis cuando se almacenan a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Asimismo, el estudio de estabilidad acelerada (a $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) demuestra que desviaciones breves que se alejan de las condiciones indicadas (p. ej. en caso de que se interrumpa la cadena de frío) no son perjudiciales para la calidad del producto.





4 Justificación de los criterios de aceptación de la vida útil

Las especificaciones que se apliquen al producto farmacéutico para los estudios de estabilidad futuros serán las aplicadas en la liberación del producto farmacéutico (vea la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones) salvo por el PRP despolimerizado y el porcentaje de adsorción de la hepatitis B (ELISA) normalmente realizados sobre el PFAG en la liberación de rutina, dado que ambos atributos de calidad evolucionan durante el almacenamiento. Para ellos se establece un criterio de aceptación específico de los estudios de estabilidad aplicable a los lotes utilizados en los estudios de estabilidad futuros.

- PRP despolimerizado:

Conforme con la monografía 1219 de la Ph. Eur., el criterio de aceptación es de menos de 20,0 % en la liberación.

Basándose en los datos de estabilidad disponibles con la formulación inicial, se observa un aumento del porcentaje de PRP despolimerizado durante el almacenamiento. A fin de determinar un criterio de aceptación relevante para los estudios de estabilidad futuros, se estableció un perfil de cinética.

- Porcentaje de adsorción, hepatitis B (ELISA):

En la liberación, el criterio de aceptación es superior o igual a 64 %.

Basándose en los datos de estabilidad disponibles con la formulación inicial, se observa una disminución del porcentaje de adsorción de la hepatitis B durante el almacenamiento. A fin de determinar un criterio de aceptación relevante para los estudios de estabilidad futuros, se estableció un perfil de cinética.

4.1 PRP despolimerizado

4.1.1 Metodología

A fin de establecer el contenido máximo aceptable de PRP despolimerizado en la vacuna Hexaxim al final de la vida útil (36 meses) para los estudios de estabilidad futuros, se consideraron los datos de estabilidad y los datos clínicos.

- Se realizó un análisis estadístico con los datos de la formulación inicial obtenidos en la liberación y la experiencia de monitoreo de la estabilidad para desarrollar un modelo que describa la despolimerización del PRP-T durante el almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Este conjunto de datos incluyó los datos de liberación (3 lotes de PFAG) y los datos de estabilidad (3 lotes de PFAG evaluados 4 veces entre 1 mes y 9 meses de antigüedad; 9 lotes de PF evaluados de 6 a 8 veces entre los 3 meses y los 39 meses de antigüedad). La Tabla 10 presenta los lotes utilizados.





Tabla 10: Lotes utilizados para establecer los criterios de aceptación del PRP despolimerizado

	Número de lote	Escala de lote
Producto final a granel (datos de las pruebas de liberación y de estabilidad)	FDNC005	250 litros
	FDNC006	250 litros
	FDNC007	250 litros
Producto llenado (datos de estabilidad)	PFAGI006-01	10 600 unidades
	PFAGI007-01	10 900 unidades
	PFAGI008-01	10 600 unidades
	S4009	138 456 unidades
	S4106	137 880 unidades
	S4107	138 654 unidades
	S4114	127 021 unidades
	S4115	133 637 unidades
	S4116	118 684 unidades

Este conjunto de datos se utilizó para calcular la curva cinética de mejor ajuste (vea el párrafo 4.1.2.1) para describir el índice de despolimerización del PRP-T en la vacuna Hexaxim durante el almacenamiento.

- La especificación de vencimiento a los 36 meses del PRP despolimerizado para la vacuna Hexaxim también está respaldada por los datos clínicos (vea la sección 2.7.3 Resumen de eficacia clínica). El estudio A3L17 reveló que los lactantes que recibieron Hexaxim (en un calendario de inmunización de 2, 4, 6 meses) desarrollaron respuestas inmunitarias anti-PRP que son descriptivamente comparables a las de Infanrix Hexa, una vacuna combinada hexavalente comercial de comparación. En este estudio, el último sujeto se inscribió cuando el lote S4009 de Hexaxim tenía 36 meses de antigüedad. El valor de PRP despolimerizado medido en este lote S4009 a los 37 meses era de 41,2 % con un intervalo de confianza que abarcaba del 38,1 % al 44,3 %.
- Se propone un criterio de aceptación para la vida útil del PRP despolimerizado menor o igual a 50,0 % para los estudios de estabilidad futuros (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones).

4.1.2 Análisis estadístico

El conjunto de datos combinados (datos de liberación + estabilidad) se utilizó para determinar la curva cinética de mejor ajuste (no lineal en este caso) a fin de describir el índice de despolimerización del PRP-T con el tiempo y se determinó el límite de confianza unilateral superior del 99 % para el PRP despolimerizado.





4.1.2.1 Modelo no lineal

La cinética de la despolimerización del PRP puede describirse con el siguiente modelo exponencial negativo:

$$PRP_{despolimerizado}_t = \alpha (1 - \beta \cdot e^{-k \cdot t})$$

donde:

- α : valor meseta de la curva;
- k : tasa constante del patrón de PRP despolimerizado;
- t : tiempo.

La estimación de los parámetros del modelo puede obtenerse mediante un método de mínimos cuadrados iterativamente ponderados. Por lo tanto, puede derivarse el valor previsto en el momento t ($PRP_{despolimerizado}_t$).

4.1.2.2 Límites superiores unilaterales del 99 %

El límite superior unilateral en el momento t es el límite unilateral para el valor previsto en el momento t . Un límite superior unilateral del 99 % define el límite al cual sería inferior el valor verdadero con una confianza del 99 %.

Límite superior unilateral del 99 % en el momento t : $UL_{t,99} = PRP_{despolimerizado}_t + t_{(1-\alpha,v)} \cdot SE_t$

donde:

- $t_{(1-\alpha,v)}$: constante de Student para $\alpha = 0,01$;
- v : grados de libertad del modelo;
- SE_t : desvío estándar de la previsión en el momento t en particular.

4.1.3 Resultados

Los datos originales se trazan en la Figura 1 junto con la curva de previsión y los límites superiores unilaterales del 99 %. Se observa que el PRP despolimerizado aumenta con el tiempo en una proporción que gradualmente disminuye y se estabiliza a medida que aumenta la antigüedad del lote. Los valores de la previsión y del límite superior del 99 % al final de la vida útil se presentan en la siguiente tabla:

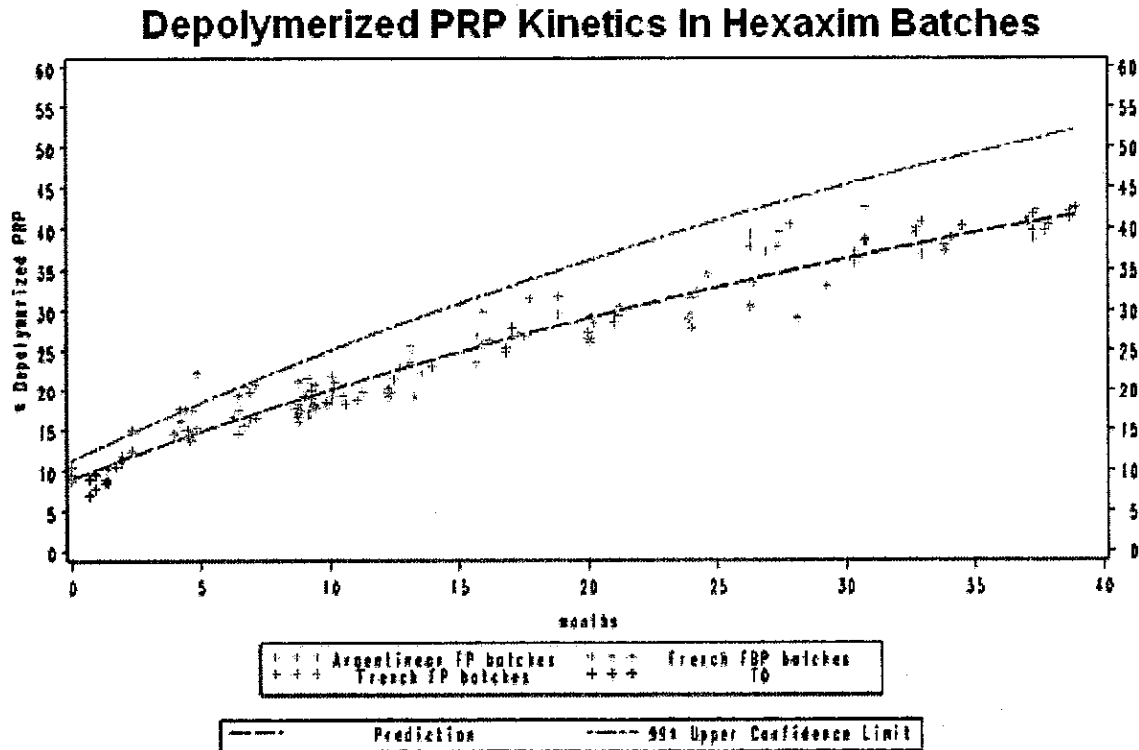
Tabla 11: Valores de previsión y límites superiores unilaterales del 99 % del PRP despolimerizado al momento del vencimiento

Tiempo (meses)	Valor previsto en % del PRP despolimerizado	Límite superior unilateral del 99 %
36	40,1%	50,0%





Figura 1: Datos del PRP despolimerizado^a junto con la línea de cinética y los límites superiores unilaterales del 99 %



Los datos farmacéuticos y clínicos disponibles demuestran que el producto es seguro e inmunogénico y cumple con los estándares de calidad requeridos durante la vida útil de 36 meses.

Utilizando el modelo de curva cinética de mejor ajuste y el límite de confianza unilateral superior del 99 %, se propone un criterio de aceptación para la vida útil del PRP despolimerizado menor o igual que 50,0 % para los estudios de estabilidad futuros.

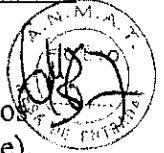
4.2 Porcentaje de adsorción, hepatitis B (ELISA)

4.2.1 Metodología

A fin de establecer la adsorción mínima aceptable de la hepatitis B en la vacuna Hexaxim al final de la vida útil (36 meses) para los estudios de estabilidad futuros, se consideraron los datos de estabilidad y los datos clínicos.

- Se realizó un análisis estadístico con los datos de la formulación inicial obtenidos en la liberación y la experiencia de monitoreo de la estabilidad para desarrollar un perfil de cinética de la desorción de la hepatitis B durante el almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

^a Datos obtenidos de los lotes con la formulación inicial



Este conjunto de datos incluyó los datos de liberación y de estabilidad (6 lotes de PF evaluados 8 veces entre los 4 meses y los 40 meses después de la elaboración del PFAG correspondiente). La Tabla 12 presenta los lotes utilizados.

Tabla 12: Lotes utilizados para establecer los criterios de aceptación del porcentaje de adsorción de la hepatitis B (ELISA)

	Número de lote	Tamaño de lote
Producto llenado (datos de las pruebas de liberación y de estabilidad)	S4009	138 456 unidades
	S4106	137 880 unidades
	S4107	138 654 unidades
	S4114	127 021 unidades
	S4115	133 637 unidades
	S4416	118 684 unidades

Este conjunto de datos se utilizó para calcular la curva cinética de mejor ajuste (vea el párrafo 4.2.2.1) a fin de describir la evolución de la tasa de adsorción de la hepatitis B en la vacuna Hexaxim durante el almacenamiento.

- La especificación de vida útil de 36 meses de la hepatitis B para la vacuna Hexaxim también está respaldada por los datos clínicos (vea la sección 2.7.3 Resumen de eficacia clínica). En el estudio A3L17, un mes después de la tercera inyección de vacuna, se demostró que la vacuna Hexaxim era no inferior a Infanrix Hexa (una vacuna combinada hexavalente comercial) en cuanto a los índices de seroprotección anti-Hep B (≥ 10 mUI/mL).

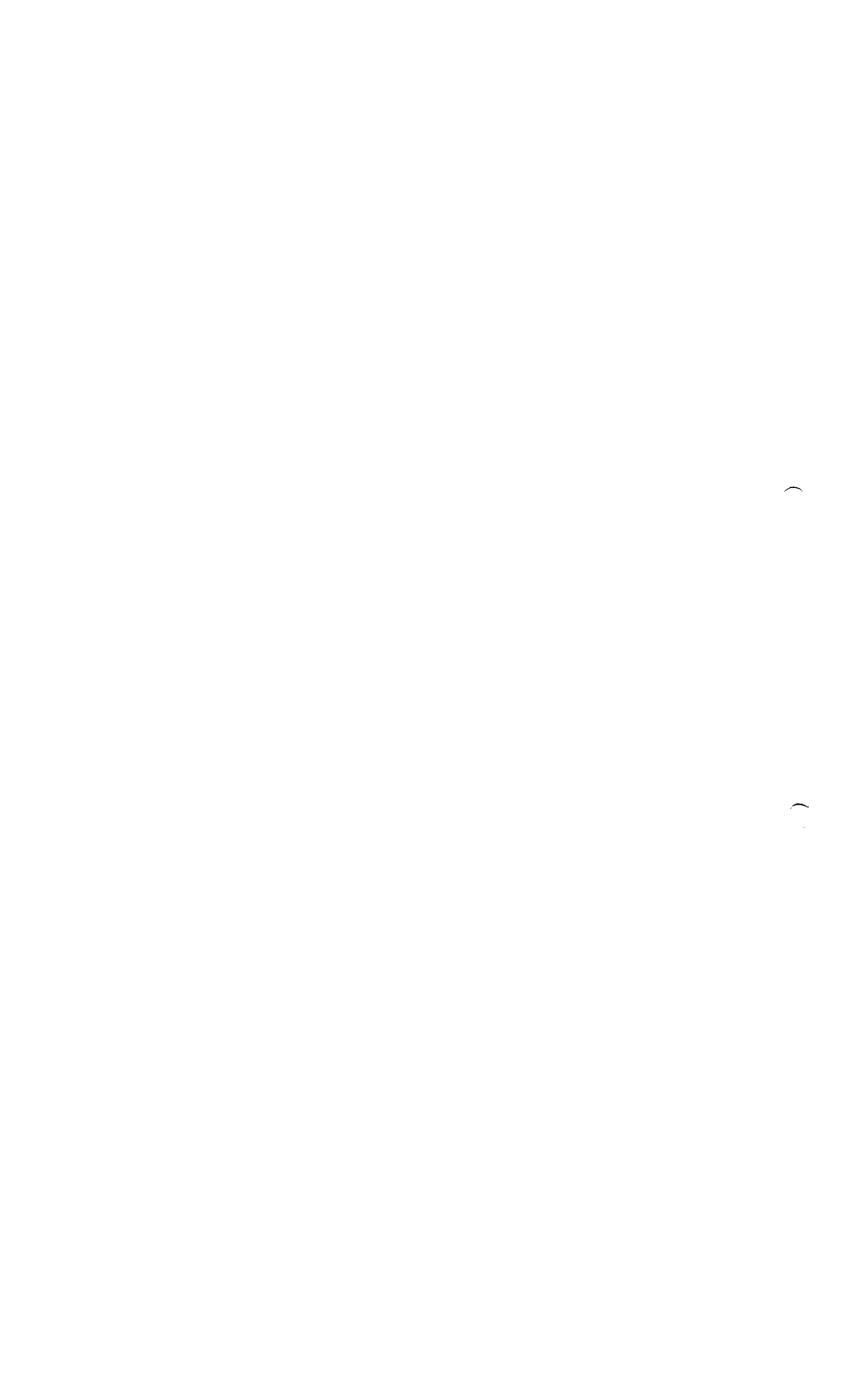
Los resultados descriptivos del estudio A3L11 (estudio de uniformidad entre lotes) también revelaron que los índices de seroprotección anti-Hep B (datos obtenidos de los 3 lotes agrupados de Hexaxim) demostraron ser similares a las respuestas anti-Hep B observadas con Infanrix Hexa.

Los dos estudios clínicos (A3L11 y A3L17) que utilizaron el mismo lote S4009 (respectivamente a los 23 y 36 meses de antigüedad) mostraron, respectivamente, una adsorción del antígeno de hepatitis B del 32 % con un intervalo de confianza del 26 % al 38 % y del 44 % con un intervalo de confianza del 36 % al 53 %.

Tomando en cuenta el valor clínico más bajo y la modelización, se justifica un criterio de aceptación de la vida útil para el porcentaje de hepatitis B a los 36 meses mayor o igual al 28 % para los estudios de estabilidad futuros (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones).

4.2.2 Análisis estadístico

Este conjunto de datos combinados (datos de liberación + estabilidad) se utilizó para construir la curva cinética de mejor ajuste (no lineal en este caso) a fin de describir la tasa de adsorción de la hepatitis B con el tiempo. Utilizando esta curva construida y examinando los datos de estabilidad, se determinó el límite inferior de confianza unilateral del 99 % para el porcentaje de adsorción de la hepatitis B.





4.2.2.1 Modelo no lineal

La cinética del porcentaje de adsorción de la hepatitis B puede describirse con el siguiente modelo:

$$HBsAg_{ads} = Y_{min} - ((Y_{min} - Y_0) \cdot e^{-k \cdot t})$$

donde:

- Y_{min} : valor meseta mínimo de la curva;
- Y_0 : porcentaje de adsorción de la hepatitis B en el momento 0;
- k : tasa constante del patrón de adsorción de la hepatitis B;
- t : tiempo.

La estimación de los parámetros del modelo puede obtenerse mediante un método de mínimos cuadrados. Por lo tanto, puede derivarse el valor previsto en el momento t ($HBsAg_{ads}$).

4.2.2.2 Límites inferiores unilaterales del 99 %

El límite inferior unilateral en el momento t es el límite unilateral para el valor previsto en el momento t . Un límite inferior unilateral del 99 % define el límite al cual sería superior el valor verdadero con una confianza del 99 %.

Límite inferior unilateral del 99 % en el momento t : $LL_{t,99} = HBsAg_{ads} + t_{(1-\alpha, \nu)} \cdot SE_t$

donde:

- $t_{(1-\alpha, \nu)}$: constante de Student para $\alpha = 0,01$;
- ν : grados de libertad del modelo;
- SE_t : desvío estándar de la previsión en el momento t en particular.

4.2.3 Resultados

Los datos originales se trazan en la Figura 2 junto con la curva de previsión y los límites inferiores unilaterales del 99 %. Se observa que el porcentaje de adsorción de la hepatitis B se reduce con el tiempo en una proporción que gradualmente disminuye y se estabiliza a medida que aumenta la antigüedad del lote. Los valores de la previsión y del límite inferior del 99 % al vencimiento se describen en la siguiente tabla:

Tabla 13: Valores de previsión y límites inferiores unilaterales del 99 % del porcentaje de adsorción de la hepatitis B al final de la vida útil

Tiempo (meses)	Valor previsto de % de adsorción de la hepatitis B	Límite inferior unilateral del 99 %
36	48%	28%

