



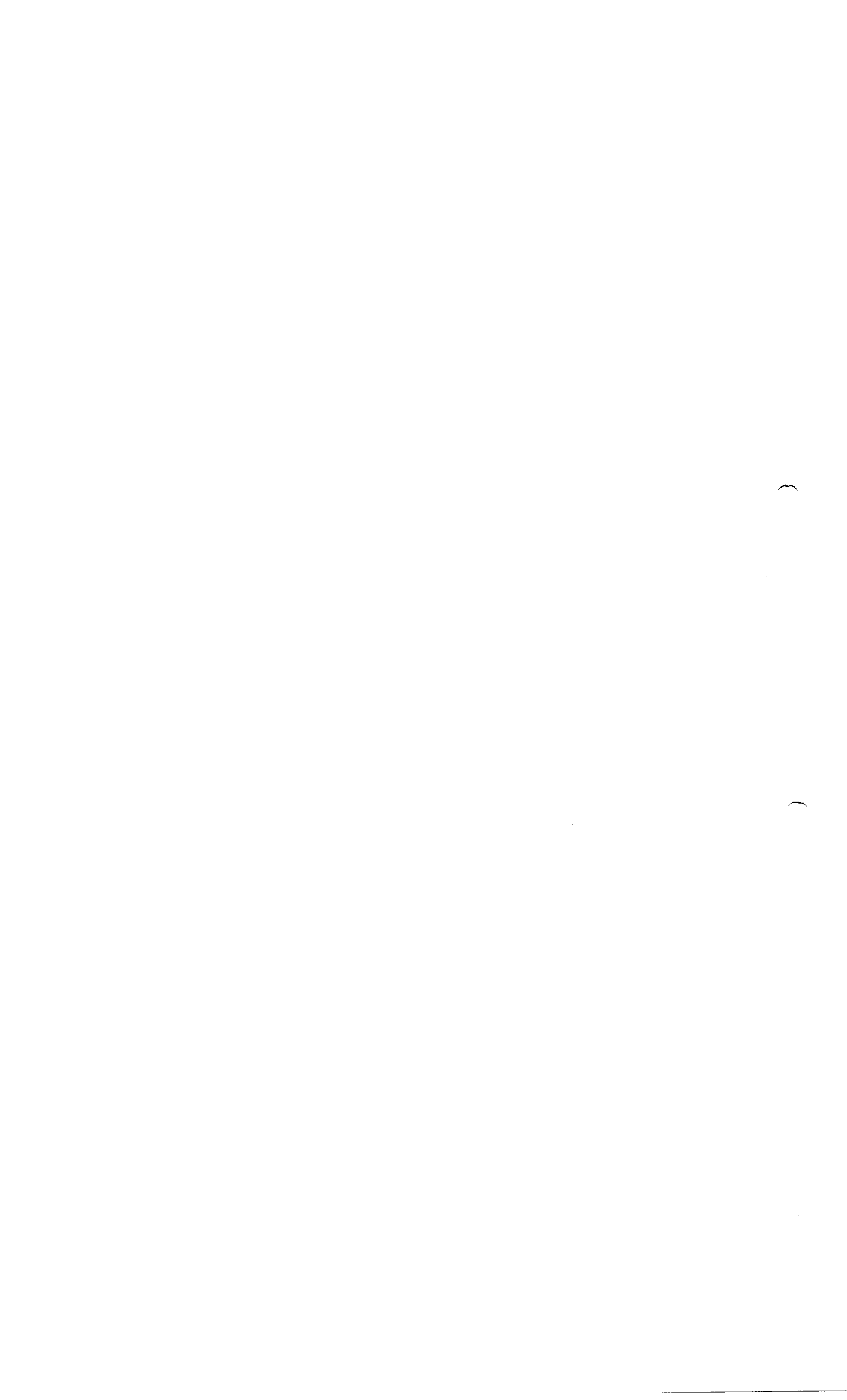
3 Descripción del sistema de cierre del envase

Los materiales de acondicionamiento primario se describen brevemente en la tabla 2. Se proporciona información detallada en la sección 3.2.P.7 Sistema de cierre del envase.

Tabla 2: Descripción de los materiales de acondicionamiento primario

Componentes	Jeringas monodosis sin aguja	Viales monodosis de vidrio
Jeringa	Vidrio tipo I, 1 mL	No se aplica
Vial	No se aplica	Vidrio tipo I, 2 mL
Capuchón	Halobutilo	No se aplica
Tapón-émbolo	Halobutilo	No se aplica
Tapón	No se aplica	Halobutilo
Tapa	No se aplica	Partes de aluminio y polipropileno

La jeringa va acompañada de su émbolo y como máximo por dos agujas estériles de un solo uso.





3.2.P.2.1

Componentes del Producto Farmacéutico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

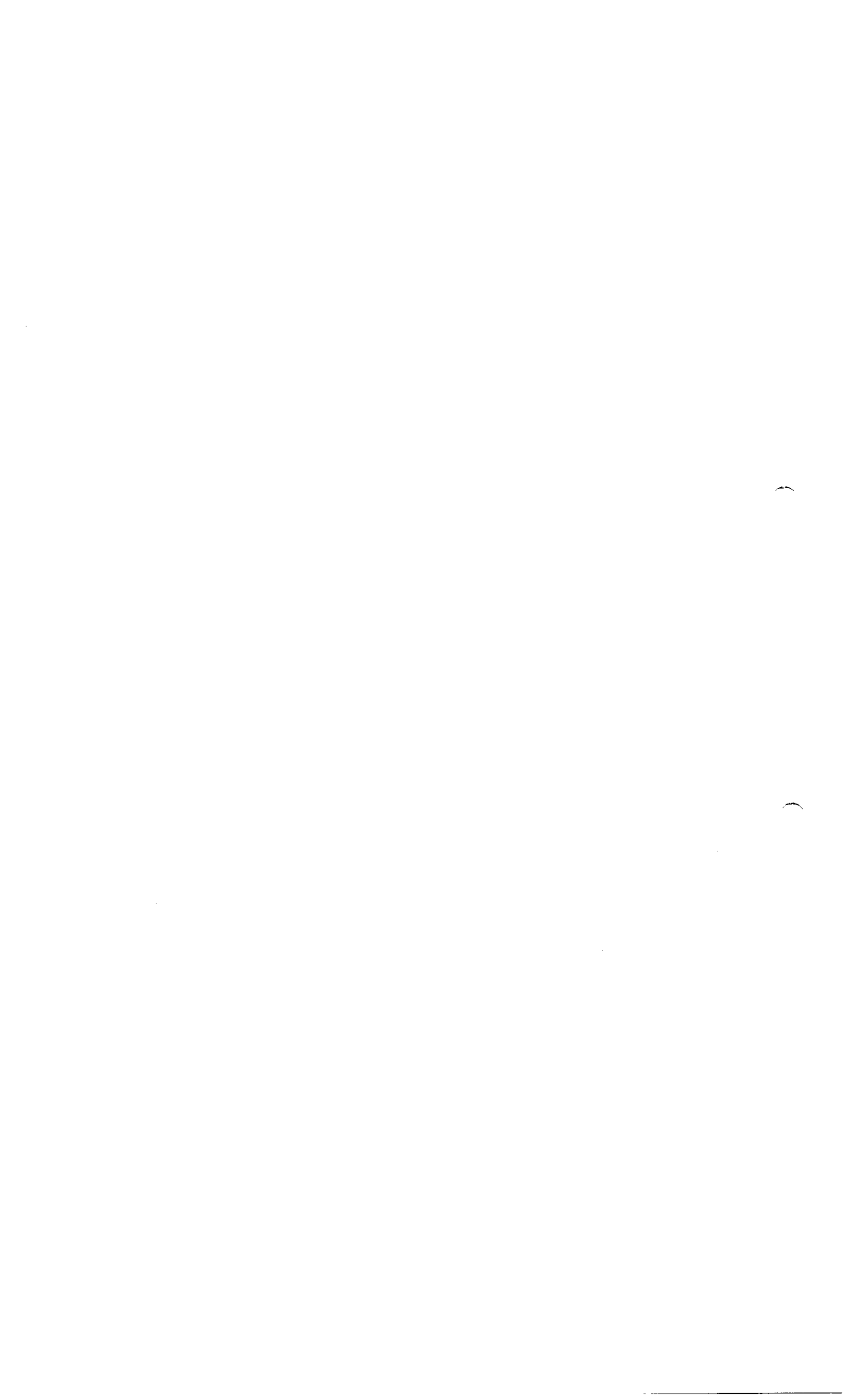

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Sección 3.2.P.2.1 - Componentes del producto farmacéutico

Índice

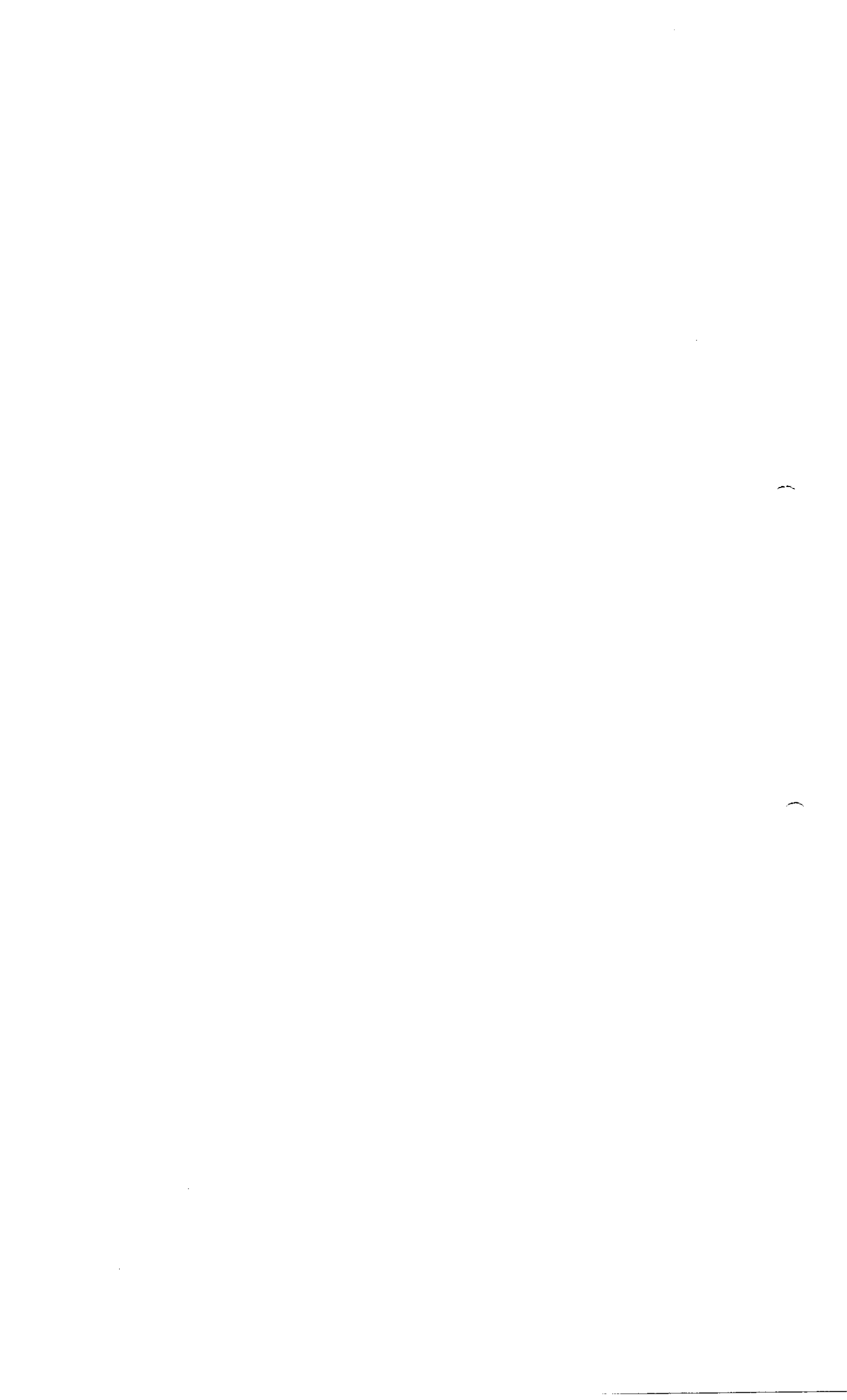
Lista de tablas	2
1 Principios activos.....	3
1.1 Componentes.....	3
1.1.1 Identificación.....	3
1.1.2 Concentraciones	5
1.2 Compatibilidad de los principios activos.....	5
1.2.1 Evaluaciones de potencia o inmunogenicidad.....	7
1.2.1.1 Potencia diftérica.....	7
1.2.1.2 Potencia tetánica.....	8
1.2.1.3 Inmunogenicidad contra la tos ferina.....	9
1.2.1.4 Contenido de antígeno D.....	10
1.2.1.5 Inmunogenicidad contra <i>Haemophilus</i>	12
1.2.2 Evaluación de la inmunogenicidad en modelo animal de la compatibilidad de HBsAg y PRP-T	13
2 Excipientes	13
2.1 Adyuvante.....	14
2.1.1 Hidróxido de aluminio.....	14
2.1.2 Interacciones entre los antígenos y el adyuvante.....	14
2.2 Composición del tampón	16
2.2.1 Tampón de fosfato.....	16
2.2.2 Aminoácidos esenciales.....	16
2.2.3 Trometamol y sacarosa.....	16
Lista de referencias	17





Lista de tablas

Tabla 1: Lista de los componentes principios activos	3
Tabla 2: Lotes de Tetravac, Act-Hib y Hexaxim utilizados para la evaluación de la compatibilidad de los antígenos	6
Tabla 3: Comparación de la potencia diftérica en lotes de Tetravac y Hexaxim	7
Tabla 4: Comparación de la potencia tetánica en lotes de Tetravac y Hexaxim	8
Tabla 5: Comparación de la inmunogenicidad contra FHA en los lotes de Tetravac y Hexaxim	9
Tabla 6: Comparación de la inmunogenicidad contra el toxoide pertúsico purificado en los lotes de Tetravac y Hexaxim.....	10
Tabla 7: Comparación del contenido de antígeno D en los lotes de Tetravac y Hexaxim.....	11
Tabla 8: Comparación de la inmunogenicidad contra Hib en los lotes de Tetravac y Hexaxim	12
Tabla 9: Lista de excipientes incluidos en la farmacopea	14
Tabla 10: Lista de excipientes no incluidos en la farmacopea	14





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

La vacuna Hexaxim es una vacuna hexavalente combinada adyuvada que se presenta como suspensión inyectable en una jeringa precargada o en un vial monodosis. Consiste en una formulación líquida sin conservantes. Su composición se presenta en la sección 3.2.P.1 Descripción y composición del producto farmacéutico.

1 Principios activos

1.1 Componentes

Los seis principios activos son los siguientes: toxoide diftérico purificado (PDT), toxoide tetánico purificado (PTT), antígenos pertúsicos acelulares de 2 componentes (toxoide pertúsico purificado (PTxd) y hemaglutinina filamentosa purificada (FHA)), virus inactivado de la poliomielitis (IPV), antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b conjugado con proteína tetánica (PRP-T).

En la tabla 1 se presentan los principios activos que componen la vacuna Hexaxim.

Tabla 1: Lista de los componentes principios activos

Componente	Referencia a la norma
Toxoide diftérico purificado	Monografía 0443 de la Ph. Eur.
Toxoide tetánico purificado	Monografía 0452 de la Ph. Eur.
Toxoide pertúsico purificado Hemaglutinina filamentosa purificada	Monografía 1356 de la Ph. Eur.
Virus inactivados de la poliomielitis tipo 1, 2 y 3	Monografía 0214 de la Ph. Eur.
Antígeno de superficie de hepatitis B	Monografía 1056 de la Ph. Eur.
Polisacárido de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado a proteína tetánica	Monografía 1219 de la Ph. Eur.

1.1.1 Identificación

Los principios activos de Hexaxim son elaborados por sanofi pasteur.

El PDT, PTT, PTxd y FHA, IPV y PRP-T se utilizan actualmente con licencia en vacunas combinadas bien consolidadas (por ejemplo, Tetravac (DTaP-IPV) y Pentavac (DTaP-IPV//PRP-T)).

El antígeno de superficie de hepatitis B se produce utilizando la levadura recombinante *Hansenula polymorpha*. Una vacuna monovalente contra la hepatitis B que utiliza el mismo sistema de expresión en *Hansenula polymorpha* ha sido precalificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Crucell Korea - Hepavax-Gene®).





A continuación se describen estos seis principios activos (PDT, PTT, PTxd y FHA, IPV, HBsAg y PRP-T):

- Toxoide diftérico purificado

El toxoide diftérico purificado se elabora a partir de su toxina respectiva mediante detoxificación con formaldehído, seguida de purificación: la toxina diftérica se prepara a partir de cepas de *Corynebacterium diphtheriae*. La toxina cruda se obtiene a partir de los cultivos del inóculo de los lotes de siembra de trabajo (WSL) (precultivos seguidos de cultivo industrial). La toxina cruda se clarifica y se concentra. A continuación se lleva a cabo la detoxificación utilizando formaldehído. El toxoide crudo concentrado obtenido se purifica mediante una precipitación selectiva con sulfato de amonio.

- Toxoide tetánico purificado

El toxoide tetánico purificado se elabora a partir de su toxina respectiva mediante detoxificación con formaldehído, seguida de purificación: la toxina tetánica se prepara a partir de cepas de *Clostridium tetani*. La toxina cruda se obtiene a partir de cultivos del inóculo de los WSL (precultivos seguidos de cultivo industrial). La toxina cruda se clarifica y se concentra. A continuación se lleva a cabo la detoxificación utilizando formaldehído. El toxoide crudo concentrado obtenido se purifica mediante una precipitación selectiva con sulfato de amonio.

- Toxoide pertúsico purificado y hemaglutinina filamentosa purificada

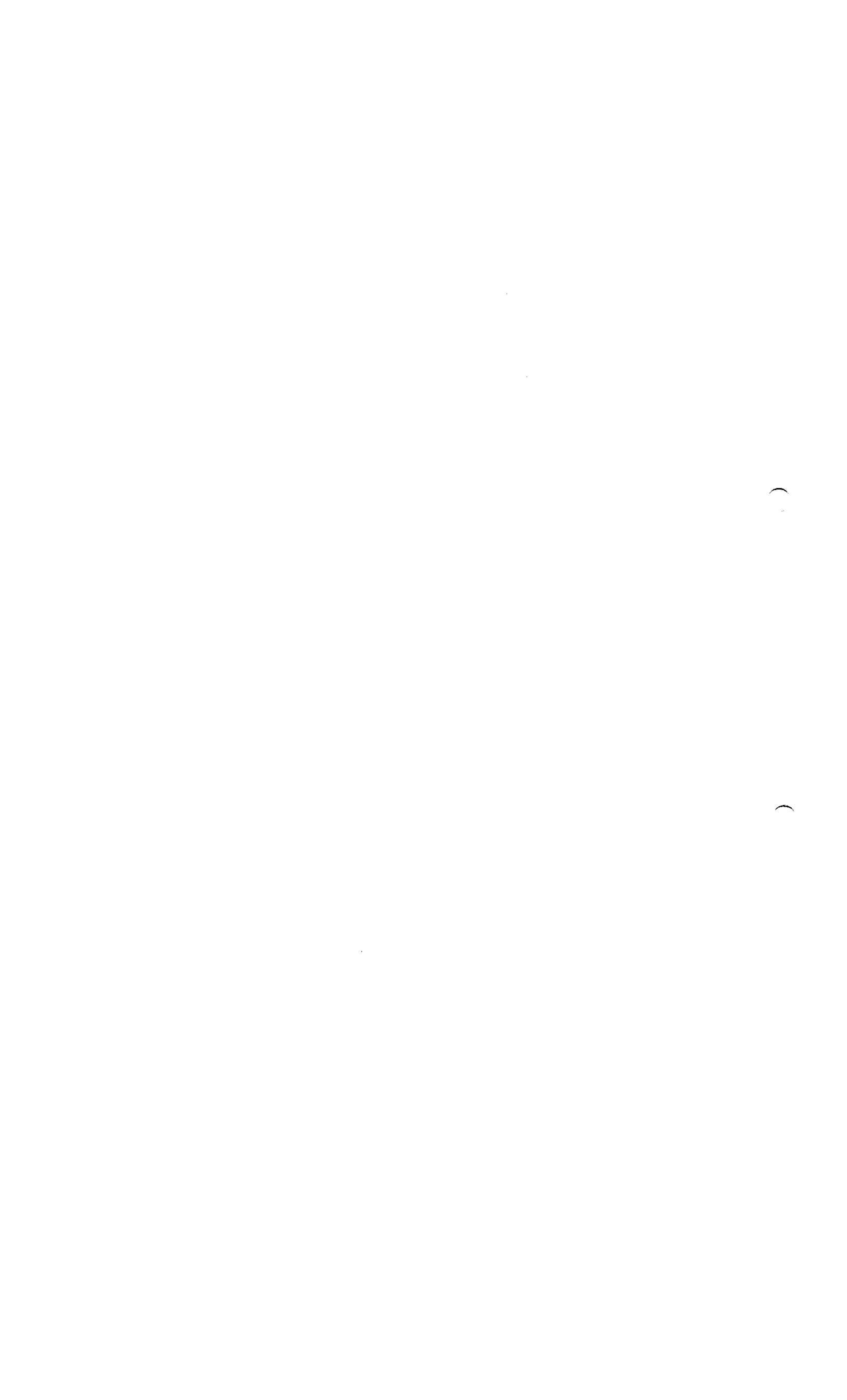
El toxoide pertúsico purificado y la hemaglutinina filamentosa purificada se obtienen a partir del mismo proceso de fermentación y se purifican de manera separada por medio de cromatografía de adsorción y cromatografía de afinidad. Luego, la toxina pertúsica purificada nativa se detoxifica con glutaraldehído. La FHA purificada, que se evalúa de manera sistemática para comprobar que no presenta actividades tóxicas, se utiliza en su forma nativa. A continuación, se adsorben ambas proteínas (el toxoide pertúsico purificado en solución y la FHA purificada en solución) por separado en hidróxido de aluminio para su estabilización.

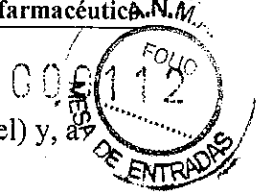
- Trivalente concentrado de virus inactivado de la poliomielitis

El granel de trivalente concentrado se obtiene al mezclar cantidades definidas de monovalentes de poliovirus de tipo 1, tipo 2 y tipo 3. Cada monovalente se elabora de manera separada. El virus se multiplica en células Vero y se cosecha en una cosecha única. La cosecha se filtra, concentra y purifica. Luego, la suspensión viral concentrada purificada obtenida se inactiva con formaldehído para obtener el monovalente. Se mezclan las cantidades especificadas de monovalentes de cada serotipo (tipo 1, tipo 2 y tipo 3) para producir el trivalente concentrado de virus inactivado de la poliomielitis.

- Antígeno de superficie de hepatitis B

El antígeno de superficie de hepatitis B se produce mediante el cultivo de una levadura recombinante de la especie *Hansenula polymorpha*. La producción de HBsAg consiste en un proceso de fermentación que permite un alto nivel de expresión intracelular de HBsAg en condiciones totalmente controladas (desrepresión por reducción de la concentración de glicerol e inducción por adición de metanol). Se liberan en el medio de cultivo celular partículas antigénicas utilizando solución detergente y alta presión. Se separan de los residuos celulares por precipitación y luego se purifican a través de cuatro pasos principales (cromatografía de





intercambio iónico, ultracentrifugación, diafiltración y cromatografía de filtración en gel) y, a continuación, se dejan madurar bajo condiciones de almacenamiento específicas.

- Polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b conjugado con proteína tetánica

El polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b consiste en fosfato de polirribosil ribitol (PRP). Luego se conjuga con la proteína tetánica purificada transportadora para crear el PRP-T. El polisacárido capsular (PRP) se prepara a partir de la fermentación de *Haemophilus influenzae* tipo b. Tras el paso de precipitación con cetrimida, el PRP se purifica y activa.

La toxina tetánica se prepara a partir de *Clostridium tetani*. Primero la toxina se purifica mediante precipitación con sulfato de amonio y luego se detoxifica para obtener la proteína tetánica que está concentrada. El PRP activado y la proteína tetánica concentrada se conjugan mediante una reacción del grupo carbodiimida para producir el granel de PRP-T.

1.1.2 Concentraciones

La combinación de antígenos producidos por sanofi pasteur está respaldada por décadas de experiencia consolidada. El PDT, PTT, PTxd y FHA, IPV, y PRP-T han sido combinados previamente con éxito por su compatibilidad farmacéutica, su estabilidad y su eficacia clínica. El nuevo parámetro en esta combinación hexavalente fue el desarrollo y el uso del HBsAg de sanofi pasteur.

En la vacuna Hexaxim, la concentración de los distintos principios activos por dosis humana es similar a la ya utilizada en otras vacunas pediátricas comerciales de sanofi pasteur. Las concentraciones utilizadas de principios activos y los fundamentos se presentan en la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico.

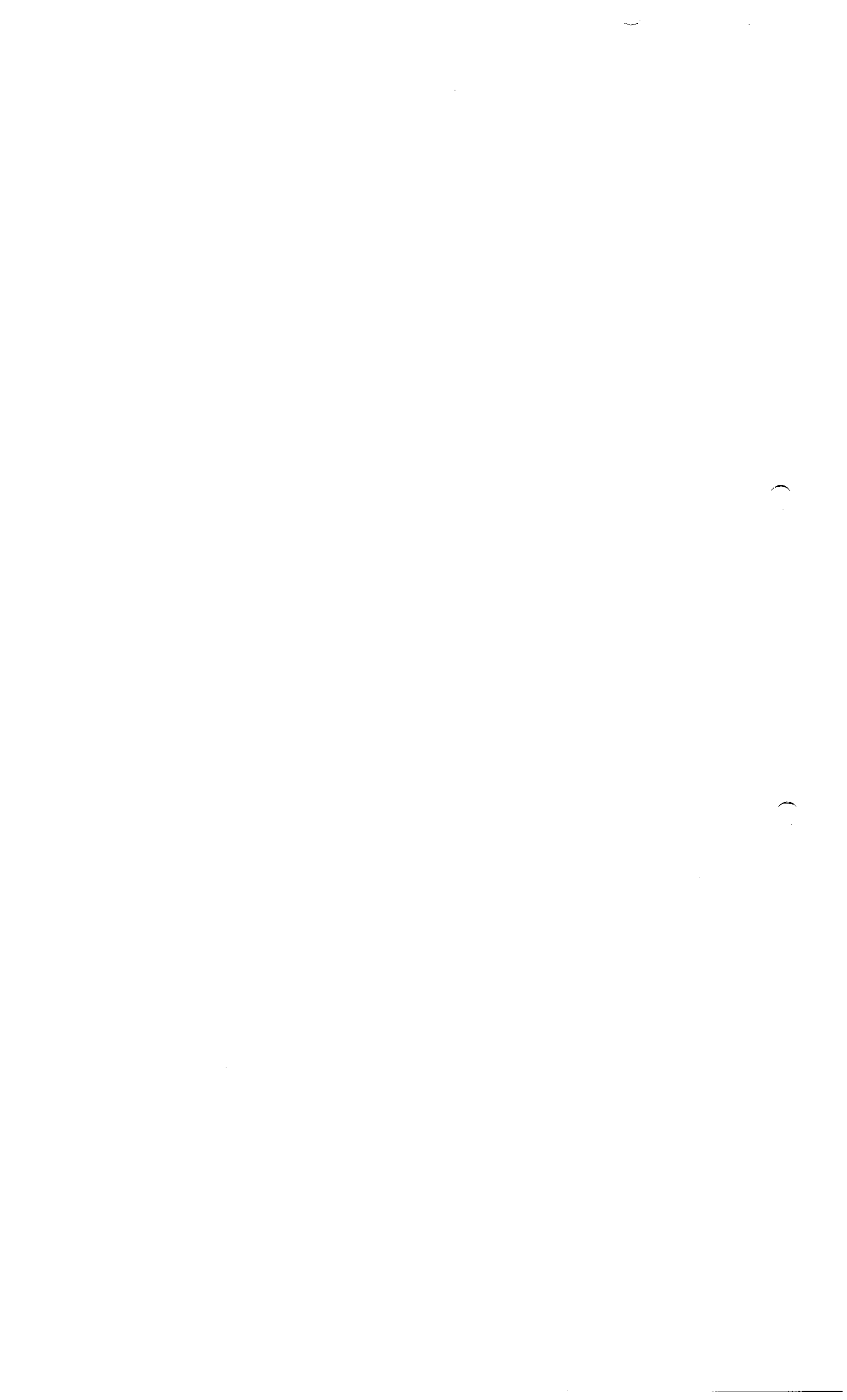
1.2 Compatibilidad de los principios activos

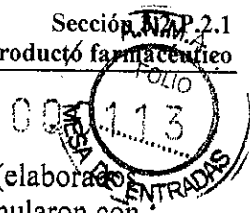
La compatibilidad de los antígenos en la vacuna combinada Hexaxim fue estudiada en la etapa de producto final a granel (PFAg) de la manera siguiente:

- Puesto que PDT, PTT, IPV, FHA y PTxd ya habían sido utilizados en vacunas combinadas de sanofi pasteur anteriores, su compatibilidad (o ausencia de interferencias negativas) se estudió comparando su potencia respectiva en lotes de Hexaxim y lotes de Tetravac seleccionados aleatoriamente. También se utilizaron lotes de Pentavac para estudiar la compatibilidad de PTT.
- Para el PRP-T, se compararon lotes de Hexaxim con lotes comerciales de Act-Hib seleccionados aleatoriamente para analizar la inmunogenicidad contra Hib;
- Además, la compatibilidad de HBsAg y PRP-T se documentó específicamente evaluando la inmunogenicidad de cada uno en modelos animales.

En la tabla 2 se presentan los distintos lotes utilizados en el estudio de compatibilidad:

- Los lotes comerciales de Tetravac seleccionados aleatoriamente fueron elaborados durante el periodo comprendido entre agosto de 1992 y noviembre de 1999. Los lotes de Tetravac se formularon con 0,3 mg de aluminio/dosis;



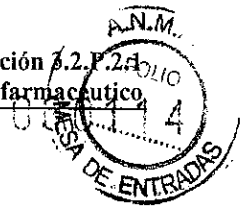


- Los lotes comerciales de Pentavac y Act-Hib seleccionados aleatoriamente (elaborados durante el periodo comprendido entre abril de 1997 y junio de 2006) se formularon con 10 µg/dosis de Hib;
- Los lotes de Hexaxim se elaboraron durante el periodo de desarrollo de seis años y se formularon con 0,6 mg de aluminio/dosis y 12 µg/dosis de PRP-T.

Tabla 2: Lotes de Tetravac, Act-Hib y Hexaxim utilizados para la evaluación de la compatibilidad de los antígenos

Número de lote de PFAG			
Tetravac*	Pentavac†	Act-Hib‡	Hexaxim
FA217253	N0358	N0283	PFAGI006
FA218375	N0540	N0457	PFAGI007
FA218477	N0541	N0707	PFAGI008
FA219623	P0056	N0919	FDNC0005
FA221758	P0094	N0977	FDNC0006
FA224498	P0096	P0198	FDNC0007
FA232649	P0171	P0199	IND09014
FA274525	P0330	P0232	IND09015
FA307700	P0526	P0032	IND09016
FA316078	P0701	P0315	FDV01398
FA358833	P0728	P0371	FDV01416
FA368919	P0729	P0404	FDV01420

- * Los lotes de Tetravac se usan para realizar el estudio de compatibilidad de PDT, PTT, PTxd y FHA, e IPV.
 † También se utilizan lotes de Pentavac para realizar el estudio de compatibilidad del PTT.
 ‡ Los lotes de Act-Hib se usan para realizar el estudio de compatibilidad del PRP-T.



1.2.1 Evaluaciones de potencia o inmunogenicidad

1.2.1.1 Potencia diftérica


La potencia diftérica se determina comparando la dosis de la vacuna necesaria para proteger a los cobayos de los efectos de una dosis dermonecrotica de toxina diftérica administrada por vía intradérmica con la dosis de una preparación de referencia necesaria para proporcionar la misma protección.


Día 0, se inyecta la vacuna por vía subcutánea a los cobayos. Día 28, se inyecta la solución con toxina de desafío por vía intradérmica a los cobayos. Se examina a los cobayos y se cuenta el número de cobayos que presentan eritema o necrosis cutánea. La potencia de la vacuna se calcula mediante un análisis de líneas paralelas.

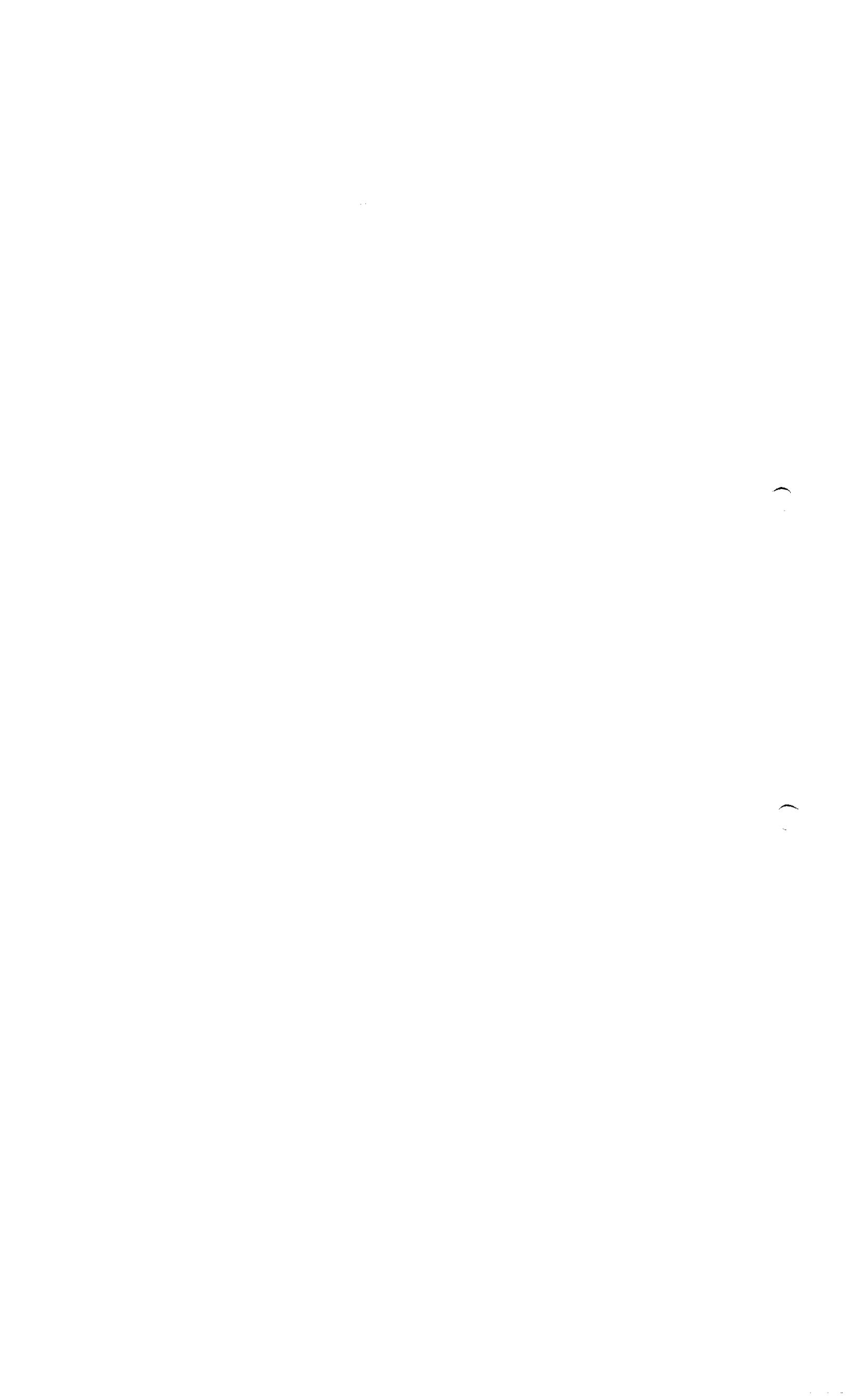
Al evaluarlas con este método, se observan potencias diftéricas equivalentes en las vacunas Tetravac y Hexaxim, lo que confirma la compatibilidad del PDT con los demás antígenos de la formulación de Hexaxim (tabla 3). No se ha observado una diferencia significativa en el análisis estadístico (valor p igual a 0,74 en la prueba t de Student al 95 %).

Tabla 3: Comparación de la potencia diftérica en lotes de Tetravac y Hexaxim

Tetravac PDT: 30 Lf/dosis, 0,3 mg de aluminio/dosis		Hexaxim PDT: 30 Lf/dosis, 0,6 mg de aluminio/dosis	
Número de lote de PFAG	Potencia diftérica UI/dosis	Número de lote de PFAG	Potencia diftérica UI/dosis
FA217253	56 (43-74)	PFAGI006	46 (36-58)
FA218375	45 (34-59)	PFAGI007	46 (29-70)
FA218477	64 (50-81)	PFAGI008	34 (27-43)
FA219623	56 (44-72)	FDNC0005	41 (27-58)
FA221758	50 (36-68)	FDNC0006	77 (47-138)
FA224498	46 (33-63)	FDNC0007	53 (39-79)
FA232649	42 (31-57)	IND09014	41 (28-58)
FA274525	48 (38-60)	IND09015	57 (38-88)
FA307700	39 (30-51)	IND09016	48 (24-74)
FA316078	52 (39-71)	FDV01398	42 (34-52)
FA358833	60 (45-78)	FDV01416	57 (43-82)
FA368919	42 (32-55)	FDV01420	76 (57-113)


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





1.2.1.2 Potencia tetánica

La potencia tetánica se determina comparando la dosis de la vacuna necesaria para proteger al 50 % de los ratones (DE50) de los efectos de una inyección subcutánea de una dosis de toxina tetánica con la dosis de referencia necesaria para proporcionar la misma protección.

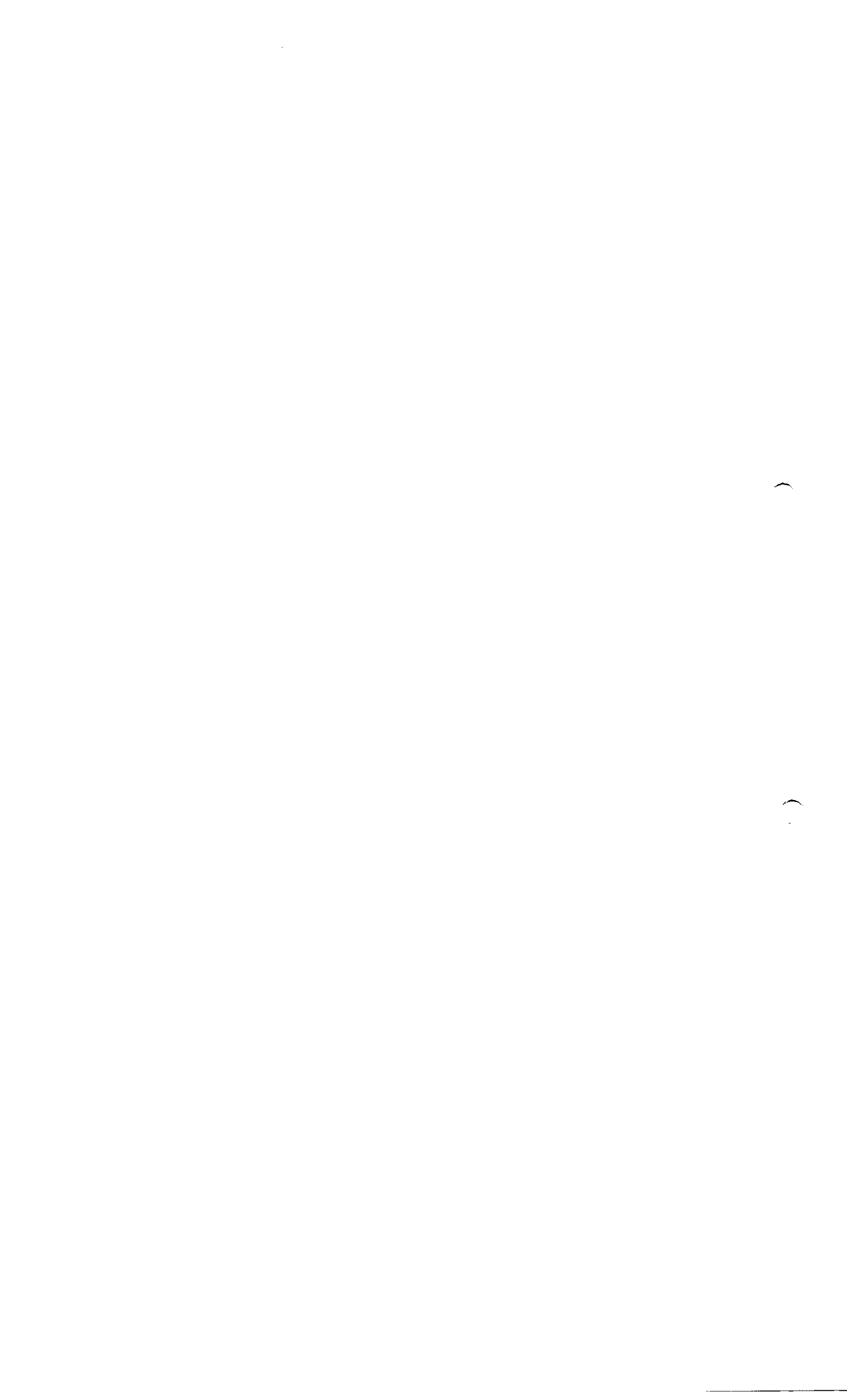
Día 0, se inyecta la vacuna por vía subcutánea a los ratones. Día 28, se inyecta la solución con toxina de desafío por vía subcutánea a los ratones. Se examina a los ratones y se registra el número de ratones paralizados, así como la gravedad de los síntomas. La potencia de la vacuna se calcula mediante un análisis de líneas paralelas.

Como se puede observar en la tabla 4, la potencia tetánica de los lotes de Hexaxim es siempre superior a la observada en los lotes de Tetravac. La elevada potencia tetánica se explica por la presencia adicional de proteína tetánica transportadora en el principio activo PRP-T de Hexaxim.

Además, los lotes de Hexaxim también se compararon con lotes de Pentavac para imitar la presencia global de proteína tetánica transportadora: como se esperaba, debido a las diferencias en las cantidades de hidróxido de aluminio y PRP-T, los lotes de Hexaxim también presentaron valores superiores a los de los lotes de Pentavac, y los lotes no son estadísticamente comparables. No obstante, los datos clínicos y no clínicos no revelaron ningún problema de seguridad.

Tabla 4: Comparación de la potencia tetánica en lotes de Tetravac y Hexaxim

Tetravac PTT: 10 Lf/dosis, 0,3 mg de aluminio/dosis		Pentavac PTT: 10 Lf/dosis, Hib: 10 µg/dosis, 0,3 mg de aluminio/dosis		Hexaxim PTT: 10 Lf/dosis Hib: 12 µg/dosis 0,6 mg de aluminio/dosis	
Número de lote de PFAG	Potencia tetánica UI/dosis	Número de lote de PFAG	Potencia tetánica UI/dosis	Número de lote de PFAG	Potencia tetánica UI/dosis
FA217253	55 (45-68)	N0358	425 (285-634)	PFAGI006	346 (364-448)
FA218375	70 (56-87)	N0540	337 (245-463)	PFAGI007	772 (566-1054)
FA218477	61 (49-77)	N0541	348 (228-529)	PFAGI008	470 (253-736)
FA219623	57 (46-71)	P0056	452 (327-625)	FDNC0005	555 (407-781)
FA221758	58 (47-71)	P0094	328 (249-433)	FDNC0006	516 (294-796)
FA224498	55 (45-66)	P0096	391 (251-610)	FDNC0007	449 (312-658)
FA232649	67 (54-83)	P0171	378 (253-566)	IND09014	893 (584-1243)
FA274525	51 (43-62)	P0330	328 (241-447)	IND09015	333 (247-486)
FA307700	67 (54-84)	P0526	330 (232-470)	IND09016	551 (347-808)
FA316078	90 (72-112)	P0701	328 (236-457)	FDV01398	556 (280-853)
FA358833	77 (57-102)	P0728	200 (153-263)	FDV01416	584 (413-795)
FA368919	103 (78-137)	P0729	311 (211-459)	FDV01420	705 (485-1017)



1.2.1.3 Inmunogenicidad contra la tos ferina

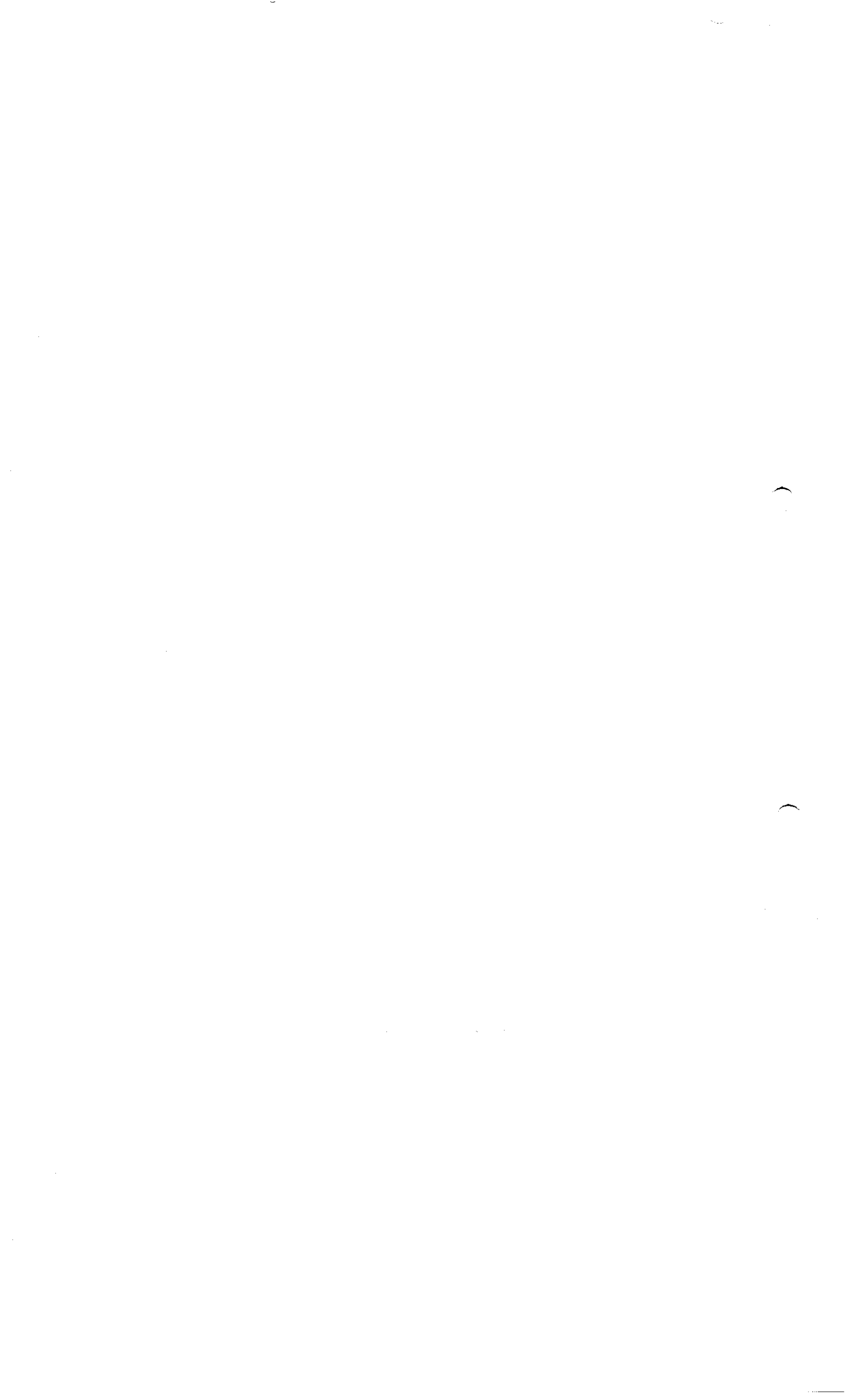
Se estudia la inmunogenicidad contra la tos ferina, tanto para FHA como para PTxd. La prueba aplicada se divide en dos etapas:

- Los ratones se inmunizan por vía intraperitoneal con 1/5 de una dosis humana única, de la vacuna o de la referencia, diluida en solución salina tamponada con fosfato. Cuatro semanas después, se les extrae sangre a los ratones y los sueros de estos se titulan mediante ELISA;
- Se realiza la titulación de los anticuerpos contra la toxina pertúsica y contra la FHA presentes en el suero de ratón según lo establecido en la Ph. Eur. 2.7.1 (Métodos inmunoquímicos) y en la Ph. Eur. 5.3.1.1 (Método estadístico). El método ELISA implica la reacción entre los anticuerpos del suero de ratón y los antígenos de la toxina pertúsica o de la FHA que recubren los pocillos de microtitulación. La cantidad de anticuerpos unidos se determina mediante una reacción posterior con IgG antirratón conjugada con fosfatasa alcalina, seguida de una reacción cromogénica con sustrato de fosfatasa alcalina. La intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de los anticuerpos.

En la tabla 5 y la tabla 6 se presentan únicamente los resultados de los lotes a los que se les aplicó un método analítico comparable (es decir, debido al cambio de la referencia estándar del método analítico, los lotes de Hexaxim FDV01398, FDV01416 y FDV01420 no se utilizan para la evaluación de la compatibilidad de los principios activos con respecto a la inmunogenicidad contra la tos ferina). Se observaron respuestas inmunológicas variables pero similares en los ratones con los lotes de Tetravac y Hexaxim, lo cual confirma la compatibilidad tanto de PTxd como de FHA con los demás componentes de la formulación de Hexaxim. No se ha demostrado una diferencia significativa en el análisis estadístico (valores p iguales a 0,06 y 0,79, respectivamente, para FHA y PTxd en la prueba t de Student al 95 %).

Tabla 5: Comparación de la inmunogenicidad contra FHA en los lotes de Tetravac y Hexaxim

Tetravac FHA: 25 µg/dosis, 0,3 mg de aluminio/dosis		Hexaxim FHA: 25 µg/dosis, 0,6 mg de aluminio/dosis	
Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra FHA UE/mL	Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra FHA UE/mL
FA217253	190	PFAGI006	455
FA218375	330	PFAGI007	183
FA221758	350	PFAGI008	304
FA232649	618	FDNC0005	346
FA274525	461	FDNC0006	367
FA307700	396	FDNC0007	355
FA316078	380	IND09014	217
FA358833	417	IND09015	247
FA368919	447	IND09016	256



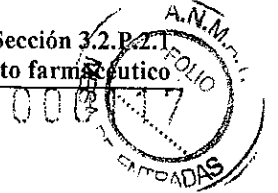


Tabla 6: Comparación de la inmunogenicidad contra el toxoide pertúsico purificado en los lotes de Tetravac y Hexaxim

Tetravac PTxd: 25 µg/dosis, 0,3 mg de aluminio/dosis		Hexaxim PTxd: 25 µg/dosis, 0,6 mg de aluminio/dosis	
Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra PTxd UE/mL	Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra PTxd UE/mL
FA217253	625	PFAGI006	1603
FA218375	726	PFAGI007	770
FA221758	939	PFAGI008	821
FA232649	880	FDNC0005	1039
FA274525	636	FDNC0006	1247
FA307700	1863	FDNC0007	1589
FA316078	1622	IND09014	673
FA358833	1032	IND09015	687
FA368919	228	IND09016	640

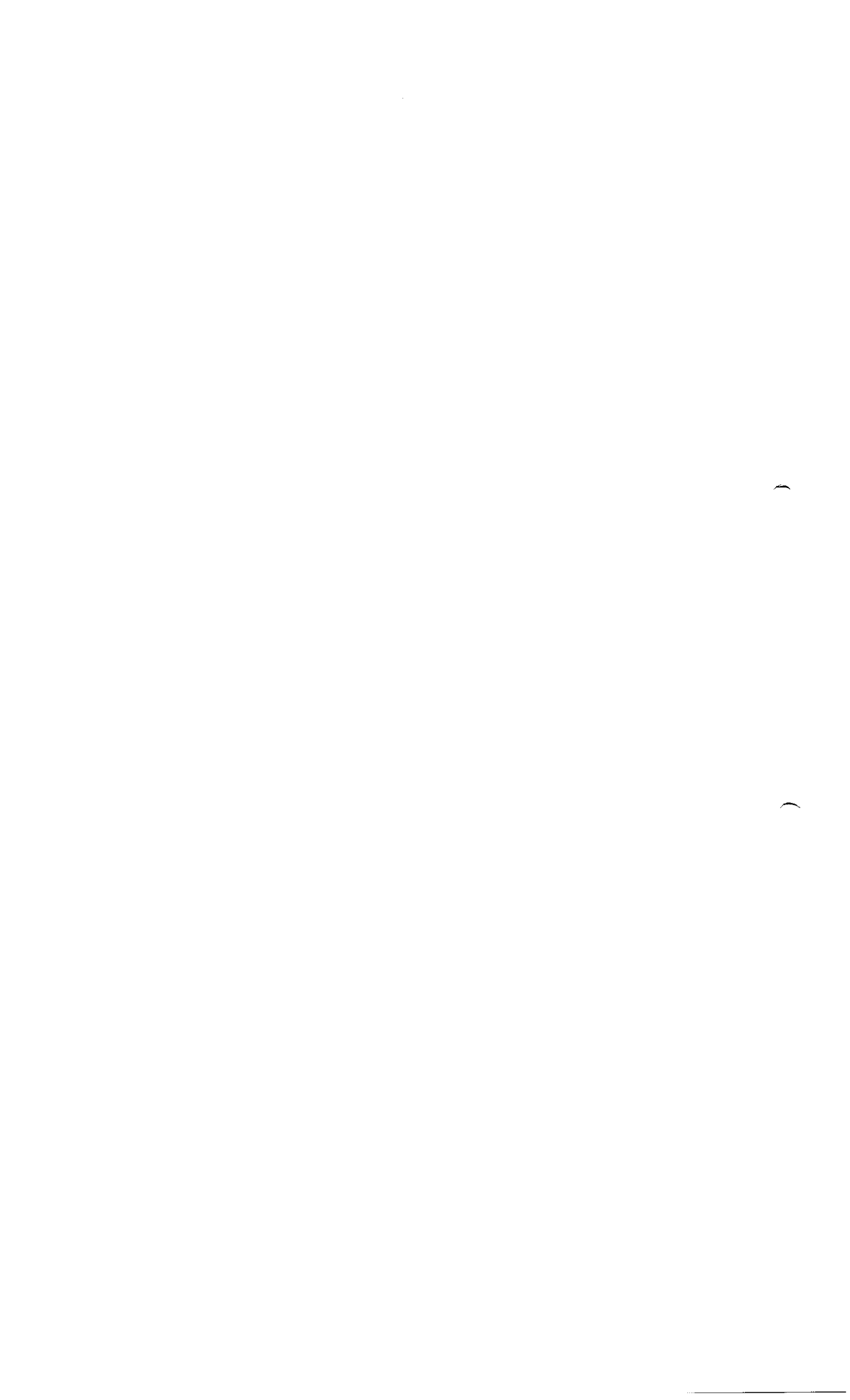
1.2.1.4 Contenido de antígeno D

Para la evaluación de la compatibilidad del principio activo IPV, se seleccionó la prueba de contenido de antígeno D (potencia de la poliomiелitis *in vitro*), que se prefirió a la prueba de potencia de la poliomiелitis *in vivo*, ya que el método analítico aplicado para la potencia de la poliomiелitis *in vivo* fue modificado (consulte la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones) durante el desarrollo de la formulación inicial (vea la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico). Además, la prueba de antígeno D mediante ELISA (método *in vitro*) es un método adecuado para medir la uniformidad y es más relevante y reproducible que la prueba *in vivo* para detectar cualquier alteración en la vacuna (los resultados detallados del estudio de comparabilidad que demuestran que la prueba de antígeno D se puede utilizar como método fiable en sustitución de la prueba de inmunogenicidad en ratas se presentan en la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones).

El título del antígeno D de las suspensiones de poliovirus se determina mediante ELISA específicamente para cada tipo de poliovirus en relación con un estándar de referencia de título conocido. Así pues, en la tabla 7 se presentan los resultados del contenido de antígeno D de los lotes de Tetravac y Hexaxim utilizando el mismo método analítico de ELISA.

La prueba consiste en lo siguiente:

- Los antígenos de la poliomiелitis de tipo 1, 2 y 3 son capturados en primer lugar por anticuerpos antipoliomiелíticos de ternera, específicos para cada tipo, que recubren los pocillos. Los antígenos unidos son reconocidos por anticuerpos antipoliomiелíticos de conejo,





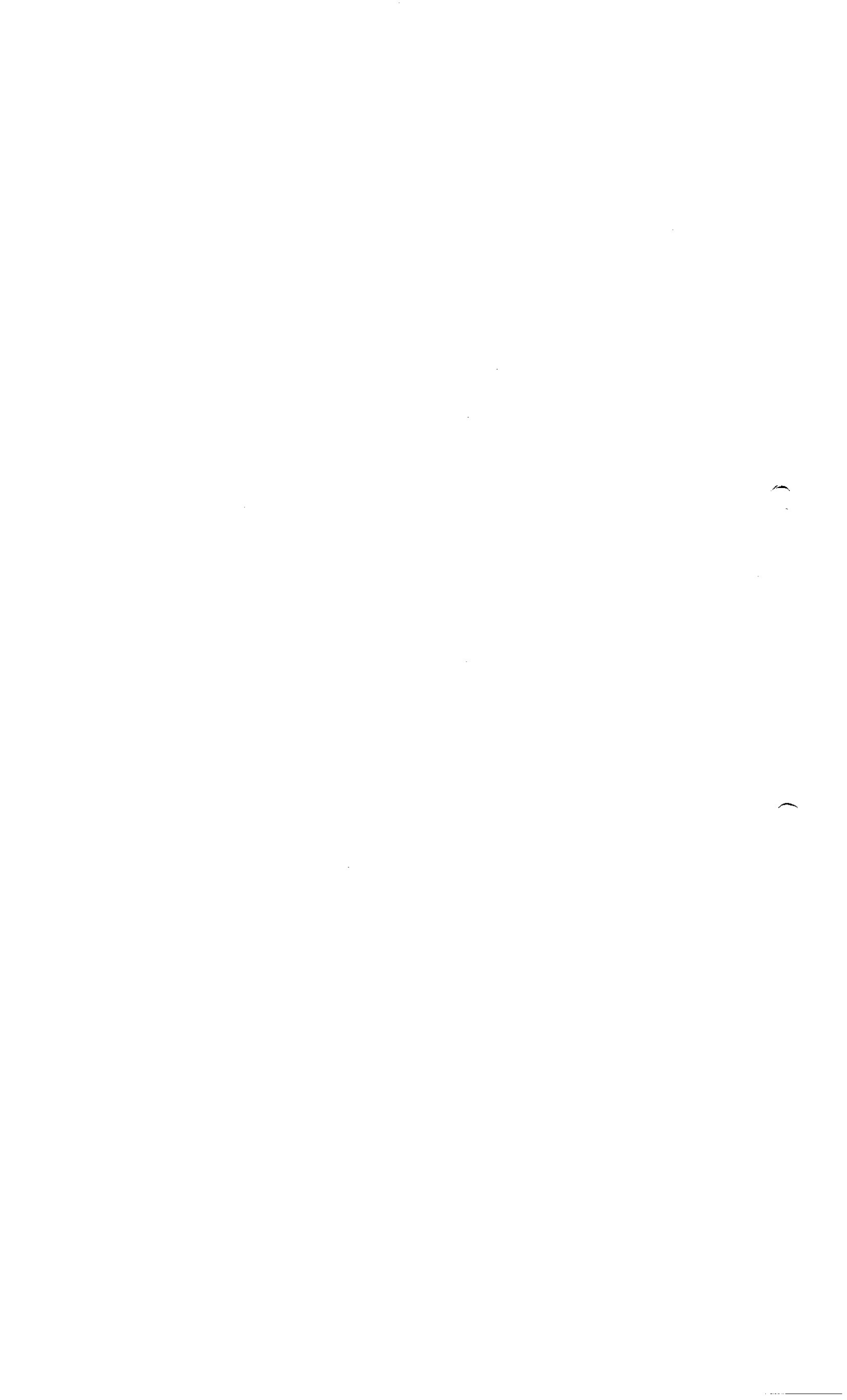
específicos para cada tipo, que a su vez son detectados por anticuerpos de cabra anti-IgG conjugados con peroxidasa;

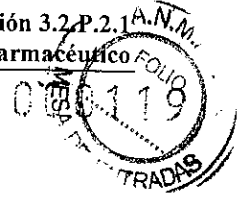
- Al agregar ABTS (2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico), sustrato de peroxidasa), aparece un color que tiene una intensidad proporcional a la cantidad de antígenos capturados en cada pocillo. El análisis de los resultados se basa en el método de líneas paralelas.

Se observa un contenido de antígeno D similar en los lotes de Tetravac y Hexaxim, lo cual confirma la compatibilidad del principio activo IPV con los demás componentes de Hexaxim. No se ha observado una diferencia significativa en el análisis estadístico (valores p iguales a 0,34, 0,09 y 0,26, respectivamente, para los tipos 1, 2 y 3 con Welch Anova al 95 %).

Tabla 7: Comparación del contenido de antígeno D en los lotes de Tetravac y Hexaxim

Tetravac		Hexaxim	
Número de lote de PFAG	Contenido de antígeno D (UD/mL)	Número de lote de PFAG	Contenido de antígeno D (UD/mL)
FA217253	Tipo 1: 60,4 Tipo 2: 17,0 Tipo 3: 35,1	PFAGI006	Tipo 1: 56,8 Tipo 2: 13,0 Tipo 3: 43,0
FA218375	Tipo 1: 45,1 Tipo 2: 12,2 Tipo 3: 36,8	PFAGI007	Tipo 1: 53,8 Tipo 2: 12,8 Tipo 3: 46,6
FA218477	Tipo 1: 57,5 Tipo 2: 16,8 Tipo 3: 66,2	PFAGI008	Tipo 1: 55,4 Tipo 2: 12,4 Tipo 3: 52,0
FA219623	Tipo 1: 52,7 Tipo 2: 10,2 Tipo 3: 36,9	FDNC0005	Tipo 1: 58,2 Tipo 2: 12,4 Tipo 3: 46,8
FA221758	Tipo 1: 58,3 Tipo 2: 10,6 Tipo 3: 45,5	FDNC0006	Tipo 1: 51,6 Tipo 2: 12,0 Tipo 3: 42,4
FA224498	Tipo 1: 58,3 Tipo 2: 14,0 Tipo 3: 51,1	FDNC0007	Tipo 1: 53,4 Tipo 2: 11,2 Tipo 3: 38,0
FA232649	Tipo 1: 57,3 Tipo 2: 18,4 Tipo 3: 67,5	IND09014	Tipo 1: 56,4 Tipo 2: 11,4 Tipo 3: 51,3
FA274525	Tipo 1: 48,0 Tipo 2: 13,3 Tipo 3: 66,3	IND09015	Tipo 1: 59,0 Tipo 2: 11,2 Tipo 3: 53,5
FA307700	Tipo 1: 49,5 Tipo 2: 13,2 Tipo 3: 60,2	IND09016	Tipo 1: 57,9 Tipo 2: 12,0 Tipo 3: 53,5
FA316078	Tipo 1: 54,5 Tipo 2: 10,6 Tipo 3: 54,4	FDV01398	Tipo 1: 53,8 Tipo 2: 11,0 Tipo 3: 52,6
FA358833	Tipo 1: 57,2 Tipo 2: 12,5 Tipo 3: 70,9	FDV01416	Tipo 1: 57,6 Tipo 2: 12,0 Tipo 3: 51,4
FA368919	Tipo 1: 53,4 Tipo 2: 11,84 Tipo 3: 51,0	FDV01420	Tipo 1: 56,2 Tipo 2: 11,6 Tipo 3: 49,2





1.2.1.5 Inmunogenicidad contra *Haemophilus*

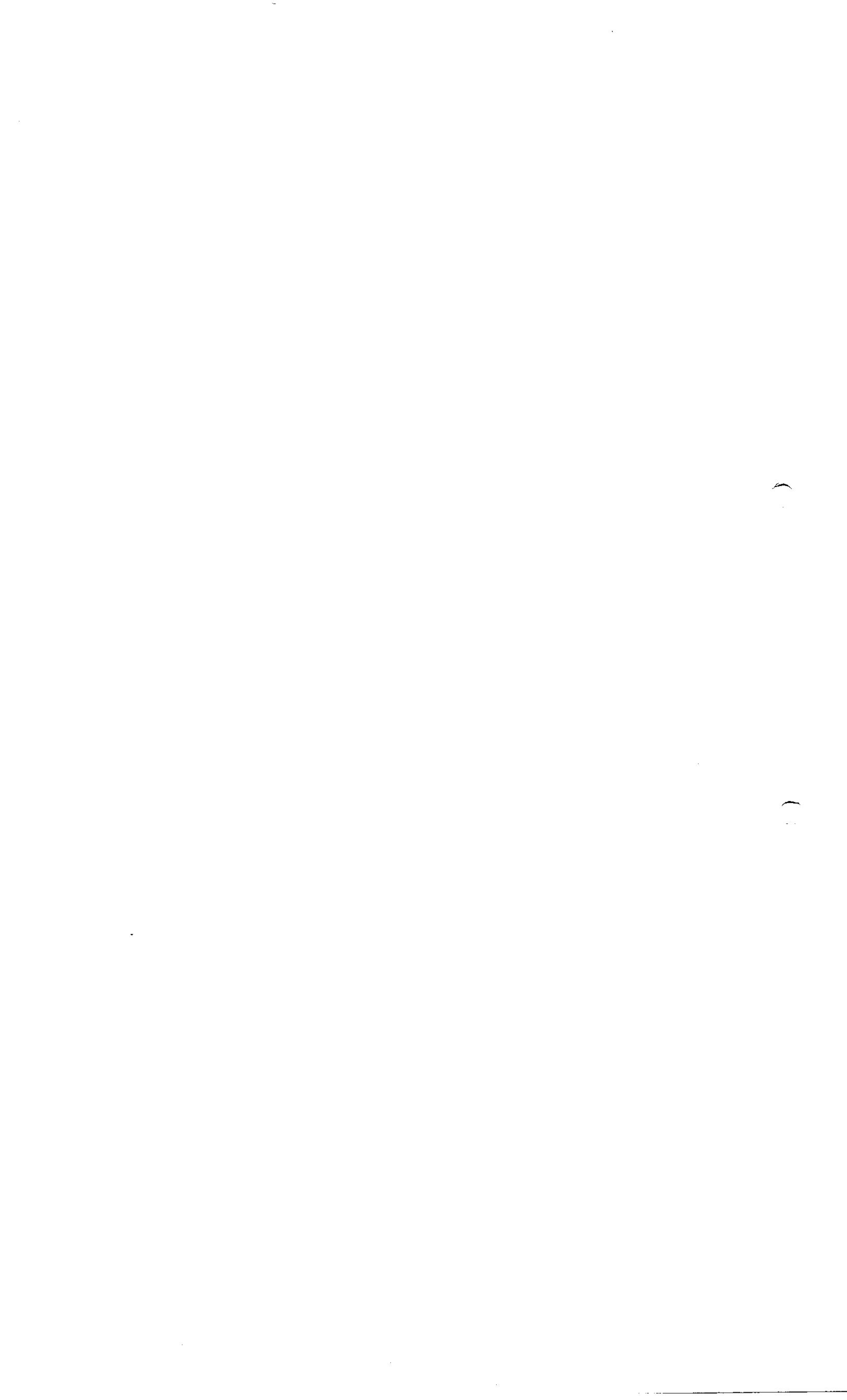
La prueba de inmunogenicidad contra *Haemophilus* (Hib) se divide en dos etapas:

- Inmunización de los ratones por vía subcutánea con 1/4 de una dosis única humana de la vacuna o de la referencia (lote de Act-Hib) en el día 0 (primovacunación) y en el día 14 (refuerzo). Tres semanas después, se extrae sangre a los ratones y los sueros de estos se titulan mediante ELISA;
- La titulación mediante ELISA de la inmunoglobulina G (IgG) contra *Haemophilus influenzae* tipo b implica la reacción entre la IgG anti-Hib de los sueros de ratón y los antígenos de Hib que recubren los pocillos de microtitulación. La cantidad de anticuerpos unidos se determina mediante una reacción posterior con IgG antirratón conjugada con peroxidasa, seguida de una reacción cromogénica con OPD (o-fenilendiamina) en presencia de peróxido de hidrógeno. La intensidad del color desarrollado es proporcional a la concentración de anticuerpos. El estándar de referencia es un agrupamiento de sueros de ratón inmunizados con una vacuna que contiene el principio activo Hib.

Los resultados de inmunogenicidad contra Hib en los distintos lotes de Hexaxim se comparan con la inmunogenicidad de lotes de Act-Hib seleccionados aleatoriamente. Estos resultados confirman que el principio activo Hib era compatible con los demás componentes de la formulación de Hexaxim (tabla 8). No se ha observado una diferencia significativa en el análisis estadístico (valor p igual a 0,81 en la prueba t de Student al 95 %).

Tabla 8: Comparación de la inmunogenicidad contra Hib en los lotes de Tetravac y Hexaxim

Act-Hib Hib = 10 µg/dosis		Hexaxim Hib = 12 µg/dosis	
Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra Hib UE/mL	Número de lote de PFAG	Inmunogenicidad contra Hib UE/mL
N0283	29,8	PFAGI006	33,4
N0457	19,0	PFAGI007	23,2
N0707	49,6	PFAGI008	38,8
N0919	34,8	FDNC0005	35,4
N0977	30,6	FDNC0006	42,3
P0198	29,8	FDNC0007	54,8
P0199	32,1	IND09014	25,3
P0232	50,0	IND09015	15,5
P0032	36,9	IND09016	49,5
P0315	48,8	FDV01398	43,6
P0371	58,3	FDV01416	51,4
P0404	25,0	FDV01420	45,8





1.2.2 Evaluación de la inmunogenicidad en modelo animal de la compatibilidad de HBsAg y PRP-T

En cuanto a la compatibilidad de las sustancias activas HBsAg y PRP-T, se estableció un modelo preclínico de ratones de tipo NMRI, para evaluar la posible interferencia antigénica entre los antígenos HBsAg y PRP-T (vea la sección 2.4. Panorama no clínico). Se seleccionaron ratones NMRI ya que se han utilizado extensamente para estudiar la inmunogenicidad de la mayoría de los antígenos de Hexaxim.

Se inmunizó a diez ratones NMRI por grupo tres veces a intervalos de tres semanas por vía IM con antígenos HBsAg o PRP-T inyectados solos, o juntos en presencia o ausencia de adyuvante de hidróxido de aluminio, y combinados o no con todos los demás antígenos presentes en Hexaxim.

No se observaron interferencias negativas significativas entre los antígenos HBsAg y PRP-T, formulados o no con los demás antígenos de Hexaxim.

2 Excipientes

Los excipientes del producto farmacéutico son el adyuvante (hidróxido de aluminio), el hidrogenofosfato sódico y el dihidrogenofosfato de potasio (como componentes del tampón de fosfatos), el agua para inyectables, los aminoácidos esenciales, la sacarosa y el trometamol (vea la sección 3.2.P.1 Descripción y composición del producto farmacéutico).

De hecho, el objetivo durante el desarrollo de la vacuna Hexaxim era lograr una vacuna inmunógena, lista para usar (es decir, totalmente líquida), combinada y adyuvada.

El desarrollo de la composición de la vacuna se centró principalmente en determinar los parámetros fisicoquímicos óptimos de la formulación y en seleccionar la composición de excipientes adecuada para conseguir la mejor solución para lograr un alto nivel de adsorción en hidróxido de aluminio para el HBsAg y un nivel limitado para el PRP-T.

Dado que se sabe que la adsorción de las proteínas en hidróxido de aluminio depende principalmente del ambiente iónico, se esperaba que la adsorción de HBsAg y PRP-T en el adyuvante se viera afectada por la composición iónica del tampón utilizado para estabilizar el pH de la vacuna y por el contenido de hidróxido de aluminio. Además, puesto que la vacuna Hexaxim era el resultado de la combinación de varios antígenos, se podían producir múltiples interacciones y podría inducir una competencia de los principios activos hacia la matriz de aluminio. Por consiguiente, durante el desarrollo se estudió exhaustivamente el efecto de la composición del tampón y el efecto del contenido de aluminio (vea la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico).

En la tabla 9 se presentan los excipientes del producto farmacéutico que se describen en la Farmacopea Europea. En la tabla 10 se presenta el excipiente del producto farmacéutico que no se describe en la Farmacopea Europea.

Como el producto farmacéutico se presenta en vial o jeringa monodosis, no se añaden conservantes.



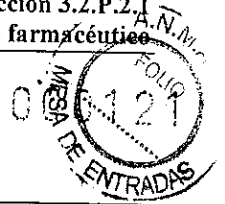


Tabla 9: Lista de excipientes incluidos en la farmacopea

Compuesto	Referencia a la norma
Fosfato de hidrógeno disódico*	Monografía 0118 de la Ph. Eur.
Dihidrogenofosfato de potasio [†]	Monografía 0920 de la Ph. Eur.
Hidróxido de aluminio, hidratado, para adsorción	Monografía 1664 de la Ph. Eur.
Sacarosa [†]	Monografía 0204 de la Ph. Eur.
Trometamol [†]	Monografía 1053 de la Ph. Eur.
Agua para inyectables	Monografía 0169 de la Ph. Eur.

* Componente de la solución tamponada

Tabla 10: Lista de excipientes no incluidos en la farmacopea

Compuesto	Referencia a la norma
Mezcla de amino ácidos esenciales en polvo* (L-Cistina, L-Tirosina, L-Arginina HCl, L-Histidina, L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina HCl, L-Metionina, L-Fenilalanina, L-Treonina, L-Triptófano y L-Valina)	Interno

* Componente de la solución tamponada

2.1 Adyuvante

Con base en su experiencia previa, sanofi pasteur considera que una vacuna pediátrica combinada de tales características precisa un adyuvante en su composición.

2.1.1 Hidróxido de aluminio

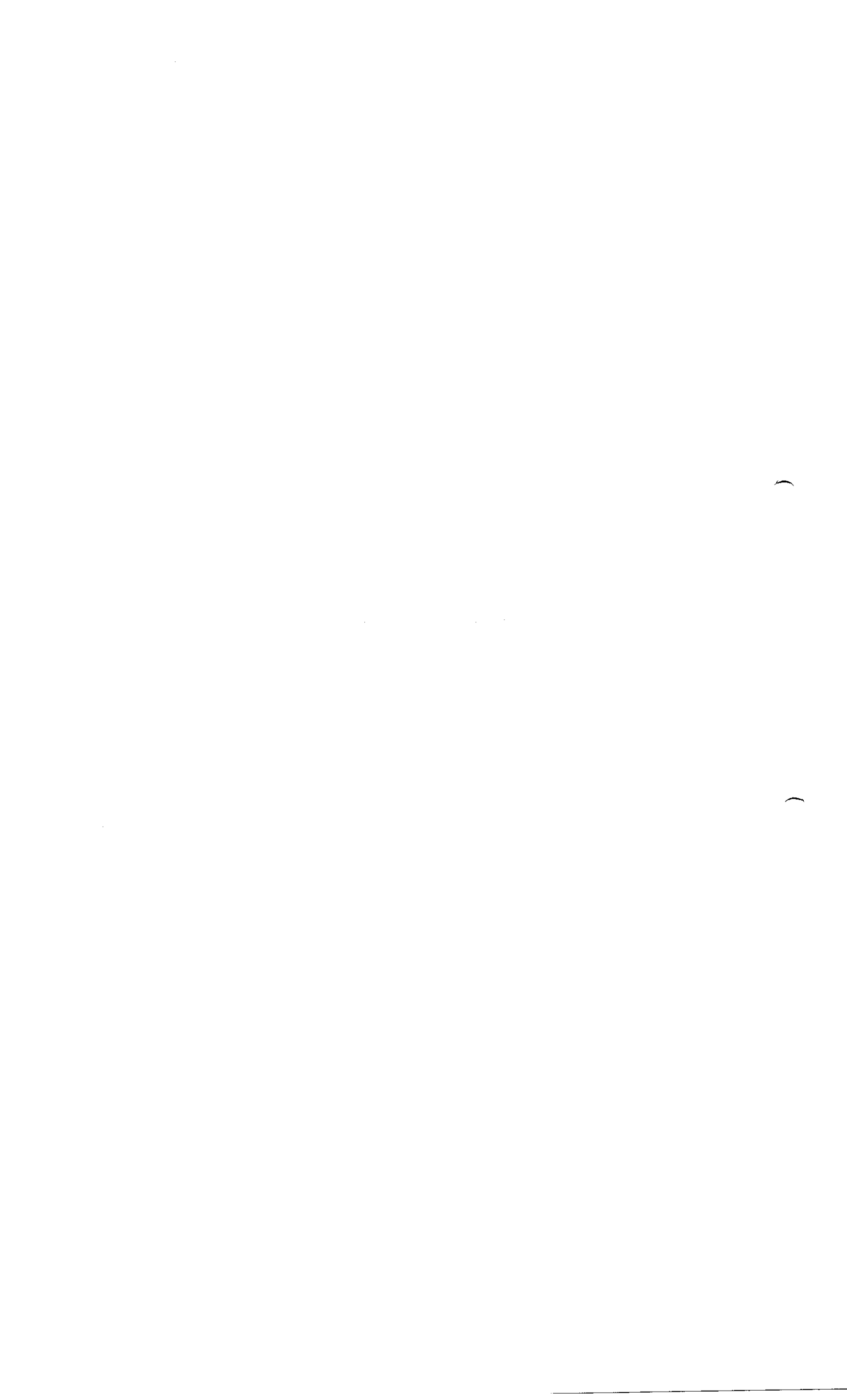
El adyuvante es hidróxido de aluminio y cumple con los requisitos de la Farmacopea Europea.

Con base en la experiencia adquirida por sanofi pasteur durante décadas con vacunas pediátricas combinadas como Tetravac y Pentavac, para esta vacuna combinada se seleccionó el hidróxido de aluminio. El hidróxido de aluminio es un adyuvante bien establecido (1) que se considera habitualmente como parámetro o referencia.

El contenido de aluminio se ha fijado en 0,6 mg de aluminio por dosis de 0,5 mL (vea la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico).

2.1.2 Interacciones entre los antígenos y el adyuvante

Se han estudiado exhaustivamente las características fisicoquímicas de los adyuvantes de aluminio y su efecto sobre la adsorción de proteínas (2). Estos estudios han demostrado que las





fuerzas de atracción electrostáticas, el intercambio de ligandos y las fuerzas hidrofóbicas contribuyen a la adsorción de los antígenos en el aluminio.

Entre ellos, se sabe que iones como el carbonato y el fosfato modulan el nivel de adsorción del antígeno modificando la carga en la superficie del gel de aluminio. Por ejemplo, la adición de iones fosfato es capaz de causar la desorción de proteínas cargadas negativamente (3) del aluminio.

La interacción del hidróxido de aluminio con los principios activos tal como se incluyen en la formulación de Hexaxim se caracterizó de la manera siguiente:

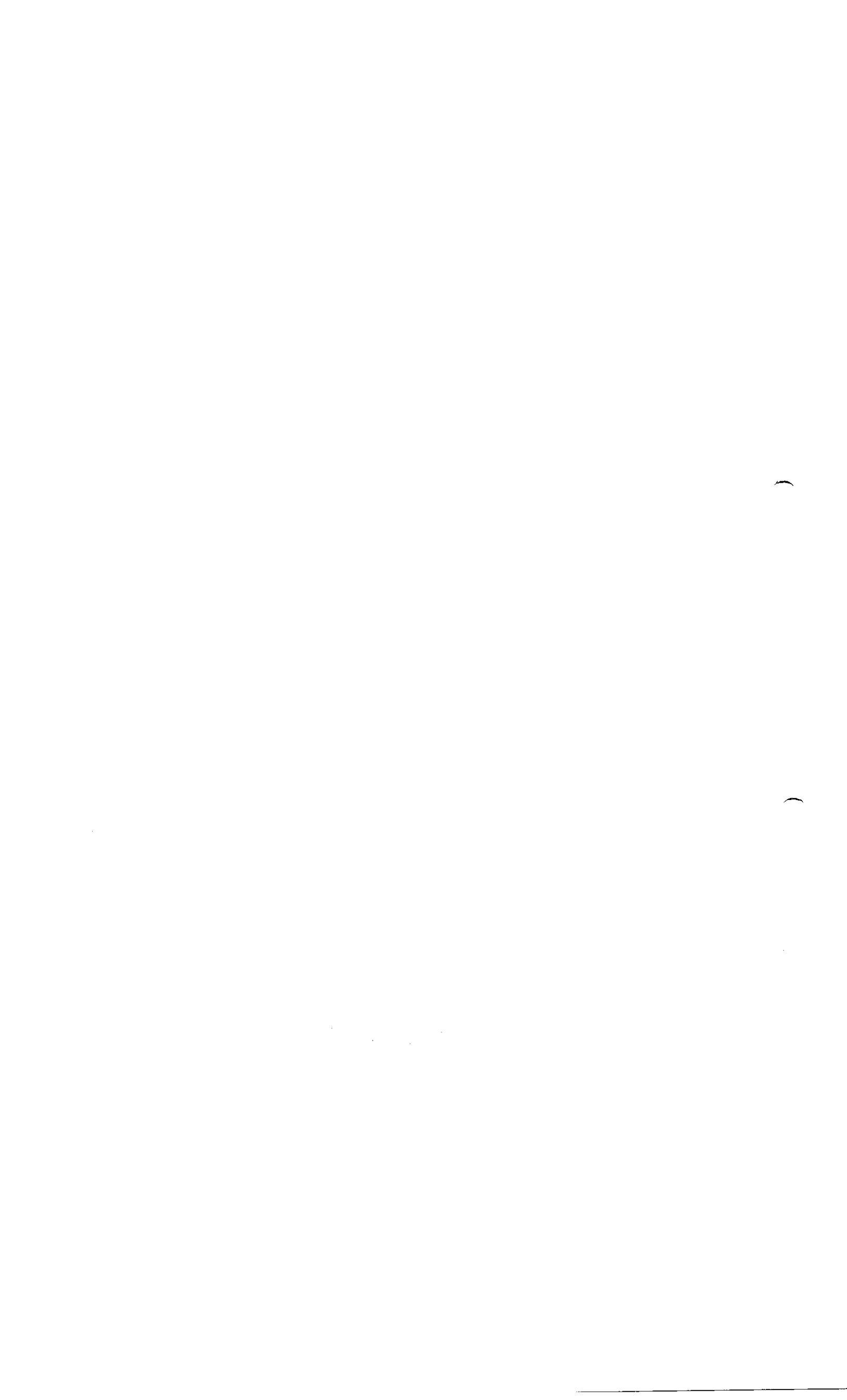
- La capacidad de adsorción de cada antígeno en el hidróxido de aluminio, expresada por la cantidad máxima de proteína unida por cantidad de adyuvante (mg de antígeno unido por mg de adyuvante);
- El mecanismo preferido de interacción de cada principio activo con el hidróxido de aluminio se documentó mediante calorimetría de titulación isotérmica (ITC) (4).

En Hexaxim se identificaron las interacciones siguientes:

- Para el PDT y el PTT, se observó una reacción exotérmica, que indica una interacción electrostática con el gel;
- Se observó una reacción exotérmica muy débil del PRP-T y el IPV con el hidróxido de aluminio, lo que indica una mala adsorción en el gel de hidróxido de aluminio;
- Para el HBsAg, se observó una reacción endotérmica en general, que expresa principalmente una interacción de intercambio de ligandos, pero también un modo electrostático.

Puesto que tanto el PTxd como la FHA son principios activos totalmente adsorbidos, su capacidad de adsorción no se ha estudiado. Luego se investigó la capacidad de adsorción de los principios activos en el gel de aluminio a escala de laboratorio (100 mL) para el PDT, el PTT y el HBsAg. En esta investigación se muestra que el principal modo de interacción entre los principios activos y el hidróxido de aluminio por calorimetría isotérmica fue un modo electrostático. Los antígenos interactúan con el gel de hidróxido de aluminio mediante un desplazamiento de competencia con los iones presentes. Aunque la capacidad de adsorción del gel de aluminio es superior a la cantidad de principios activos presente en la formulación, estos principios activos no fueron totalmente adsorbidos, lo que confirma el fenómeno de competencia entre los principios activos y los iones ambientales.

Los niveles respectivos de adsorción de antígenos pueden ser modulados por el pH y la fuerza iónica que determinan el equilibrio iónico, principalmente de los iones fosfato y carbono, y los aminoácidos, para lograr respectivamente un nivel elevado de adsorción para el HBsAg y un nivel limitado para el PRP-T. En el desarrollo del proceso de formulación, este aspecto se tuvo muy en cuenta para definir el orden de la secuencia de adición y posterior adsorción de los principios activos con el adyuvante (vea la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico).





2.2 Composición del tampón

2.2.1 Tampón de fosfato

El tampón de fosfato, cuyos ingredientes cumplen con los requisitos de la Farmacopea Europea, fue elegido basándose en la experiencia de sanofi pasteur, y se seleccionó por su capacidad para actuar en la adsorción de los antígenos en el hidróxido de aluminio.

El tampón de fosfato permite mantener un pH fisiológico y un entorno isotónico. Además, el tampón de fosfatos es una solución salina inocua que puede inyectarse sin ningún tipo de efecto secundario adverso previsible.

2.2.2 Aminoácidos esenciales

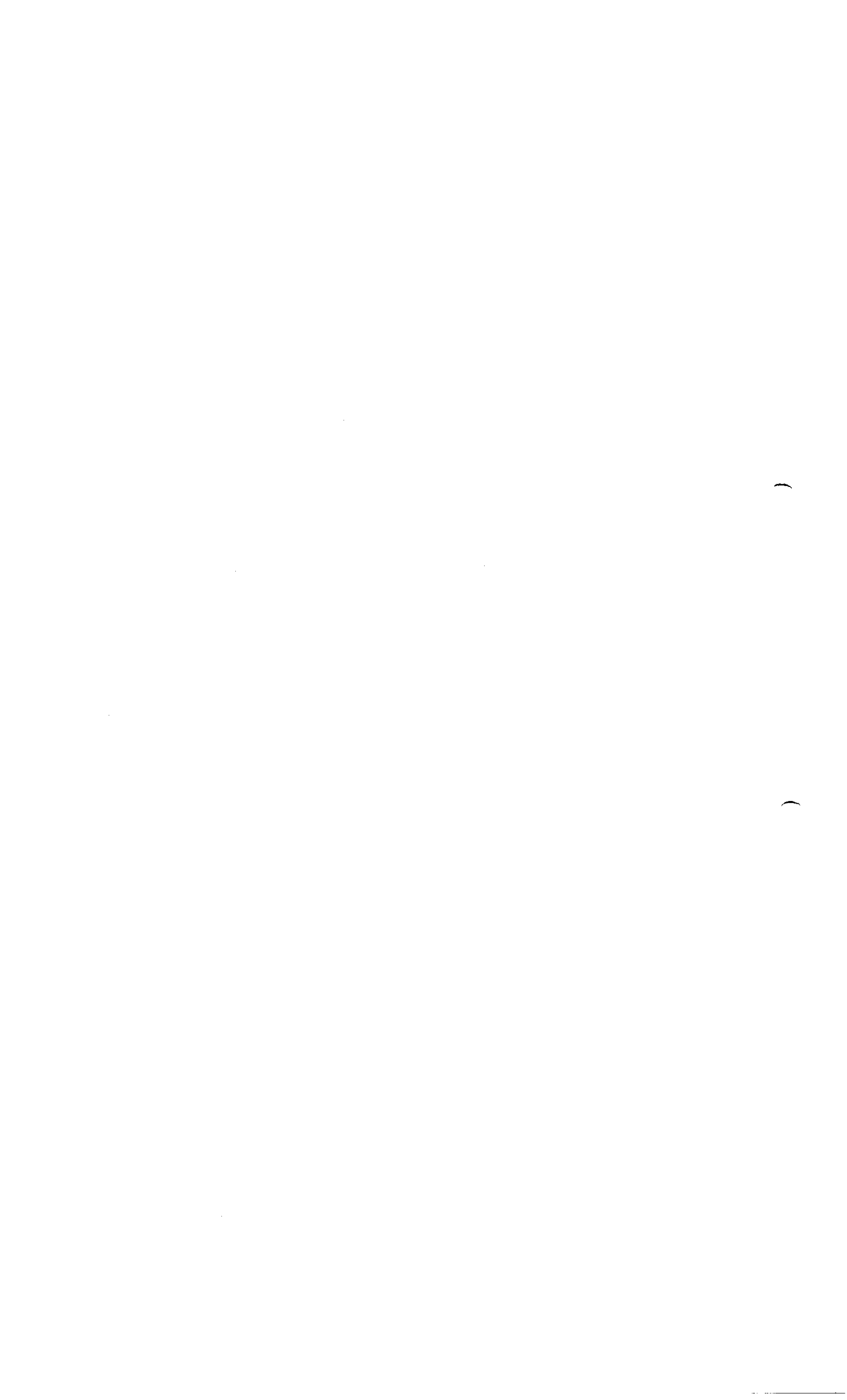
Se seleccionó una solución de 12 aminoácidos esenciales (tabla 10), combinada con tampón de fosfato para mantener un nivel bajo de adsorción del PRP-T, sin afectar al nivel de adsorción de los demás principios activos (es decir, PDT, PTT, PTxd y FHA, IPV y HBsAg).

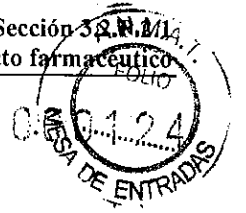
Los aminoácidos esenciales generalmente forman parte del proceso de formulación para lograr la estabilización y se seleccionaron con base en la experiencia de sanofi pasteur y en investigaciones específicas (vea la sección 3.2.P.2.2 Producto farmacéutico).

2.2.3 Trometamol y sacarosa

Ambos cumplen con los requisitos de la Farmacopea Europea.

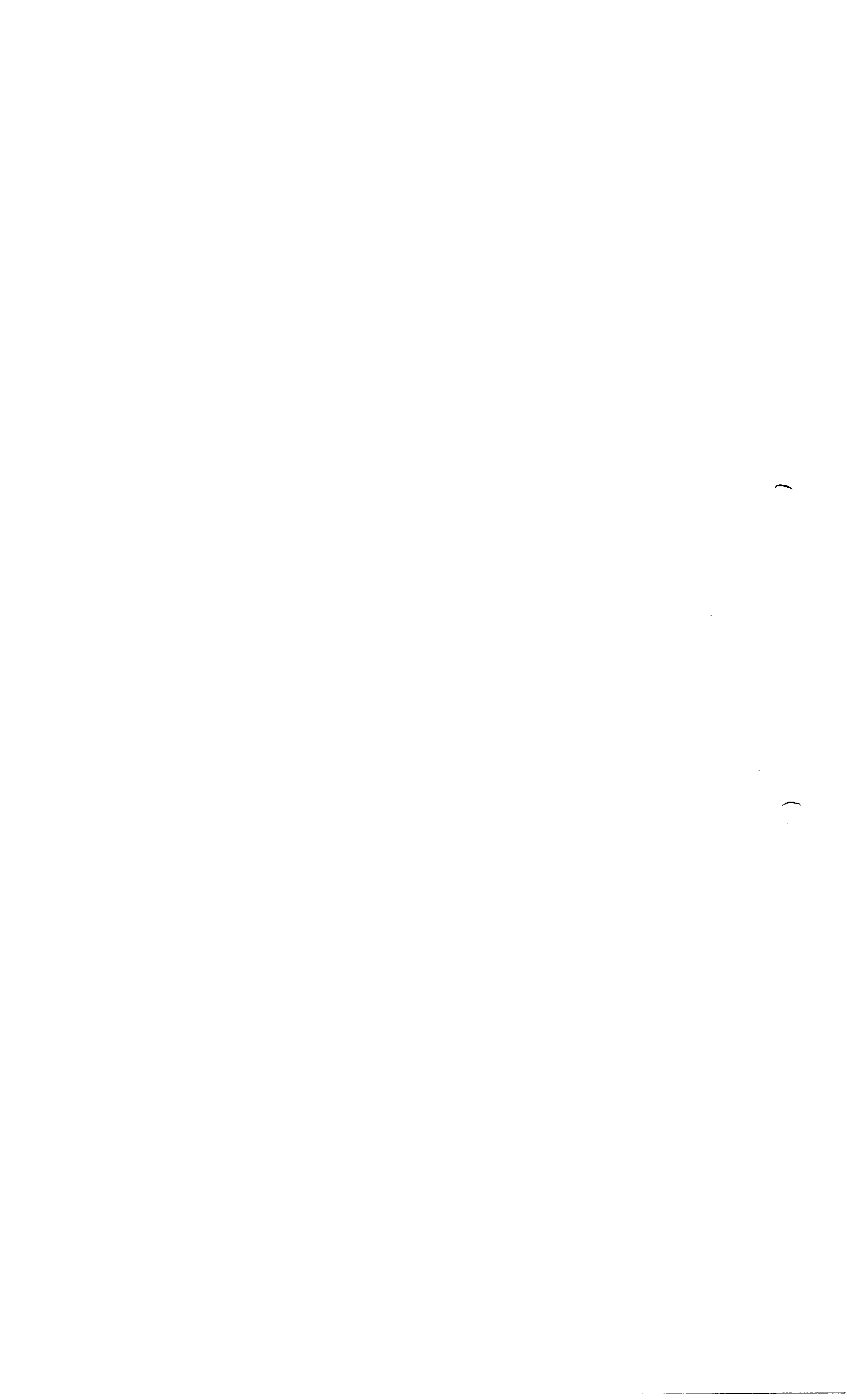
La sacarosa y el trometamol, que forman parte del principio activo PRP-T, se añaden durante el proceso de elaboración del producto final a granel Hexaxim.





Lista de referencias

- 1 Gupta RK, Rost BE. Aluminum Compounds as Vaccine Adjuvants. Methods Mol Med: New Antibiotic Targets 2000;42:65-89.
- 2 Iyer S, HogenEsch H, Hem SL. Effect of the Degree of Phosphate Substitution in Aluminum Hydroxide Adjuvant on the Adsorption of Phosphorylated Proteins. Pharm Dev Technol 2003;8(1):81-86.
- 3 Hem SL, White JL. Characterization of Aluminum Hydroxide for Use as an Adjuvant in Parenteral Vaccines. J Parenter Sci Technol 1984;38(1):2-10.
- 4 O'Brien R, Ladbury JE, Chowdry BZ. Protein-ligand interactions 2001. Chapter 10, Isothermal titration calorimetry of biomolecules:263-286.

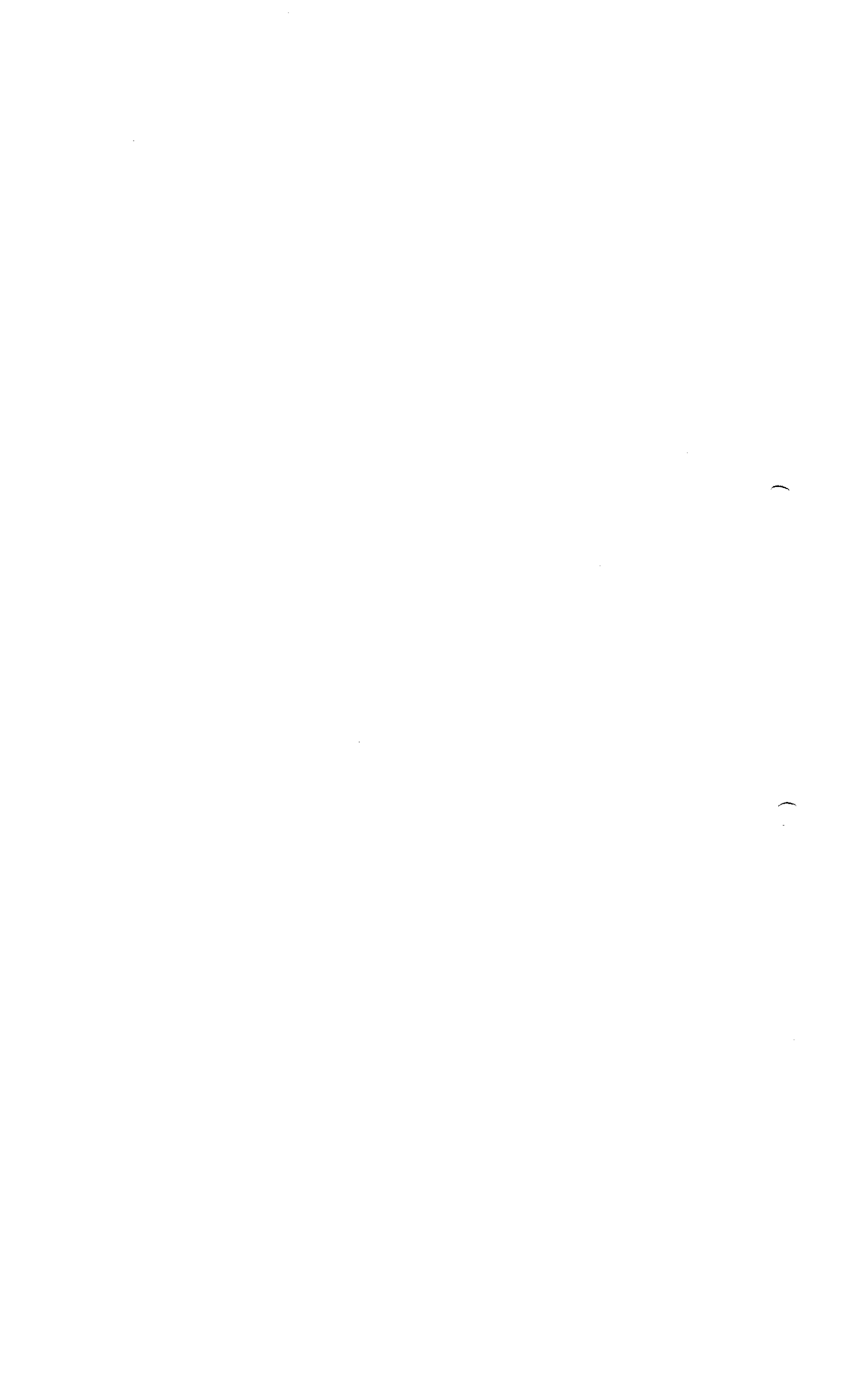


3.2.S.1.1

Nomenclatura - Diftérico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.1.1 Nomenclatura

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

- Nombre internacional:

Vaccinum diphtheriae adsorbatum

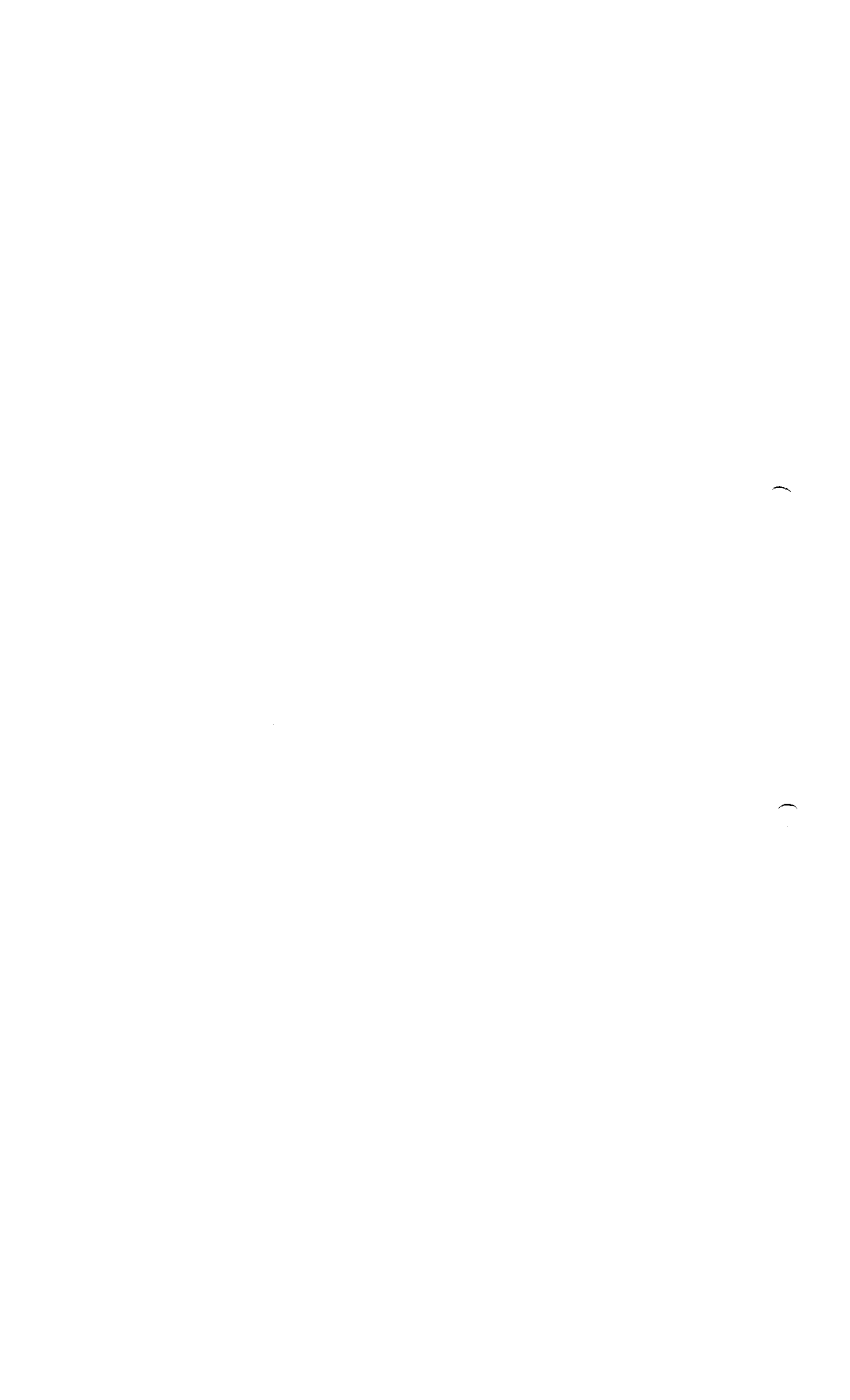
Nombre en la Farmacopea Europea: Toxoide diftérico purificado a granel [Monografía No. 0443, *Diphtheria vaccine (adsorbed)*].

- Nombre de la Organización Mundial de la Salud:

Toxoide diftérico purificado a granel [proporcionado en el TRS No. 800, anexo 2, 1990 (*Requirements for Diphtheria, Tetanus, Pertussis and Combined Vaccines*) enmendado en 2003 por el TRS No. 927, anexo 5 (*Recommendations for Diphtheria, tetanus, pertussis and combined vaccines*)].


- Nombre interno de la compañía (que se utilizará en el CTD):


Toxoide diftérico purificado



3.2.S.1.2

Estructura - Diftérico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

