

- Agua purificada

El tampón de elución cumple con los siguientes criterios:

- Conductividad: 21,0 -23,0 mS/cm
- pH: 8,39 - 8,55.

Antes de usarse, esta solución se filtra con filtración profunda.

5.4 Solución de bromuro de potasio

- Bromuro de potasio
- Tampón de elución (vea el apartado 5.3)

Esta solución se filtra antes de usarse (tamaño de poro de 0,2 μ m).

5.5 Tampón desalinizante para la etapa 2.4, diafiltración

1. Fosfato disódico, 12 H₂O
 2. Fosfato diácido de sodio, 2 H₂O
- Cloruro de sodio
 - Agua purificada

El tampón desalinizante para la diafiltración cumple con los siguientes criterios:

- Conductividad: 15,5 -17,5 mS/cm
- pH: 6,8 – 7,1.

Antes de usarse, esta solución se filtra mediante filtración profunda.





5.6 Tampón desalinizante para la etapa 2.6, GFC

- Fosfato disódico, 12 H₂O
- Fosfato diácido de sodio, 2 H₂O
- Cloruro de sodio
- Agua para inyectables

El tampón desalinizante para la GFC cumple con los siguientes criterios:

- Conductividad: 15,5-17,5 mS/cm
- pH: 6,8 – 7,1.

Antes de usarse, esta solución se filtra mediante filtración profunda.

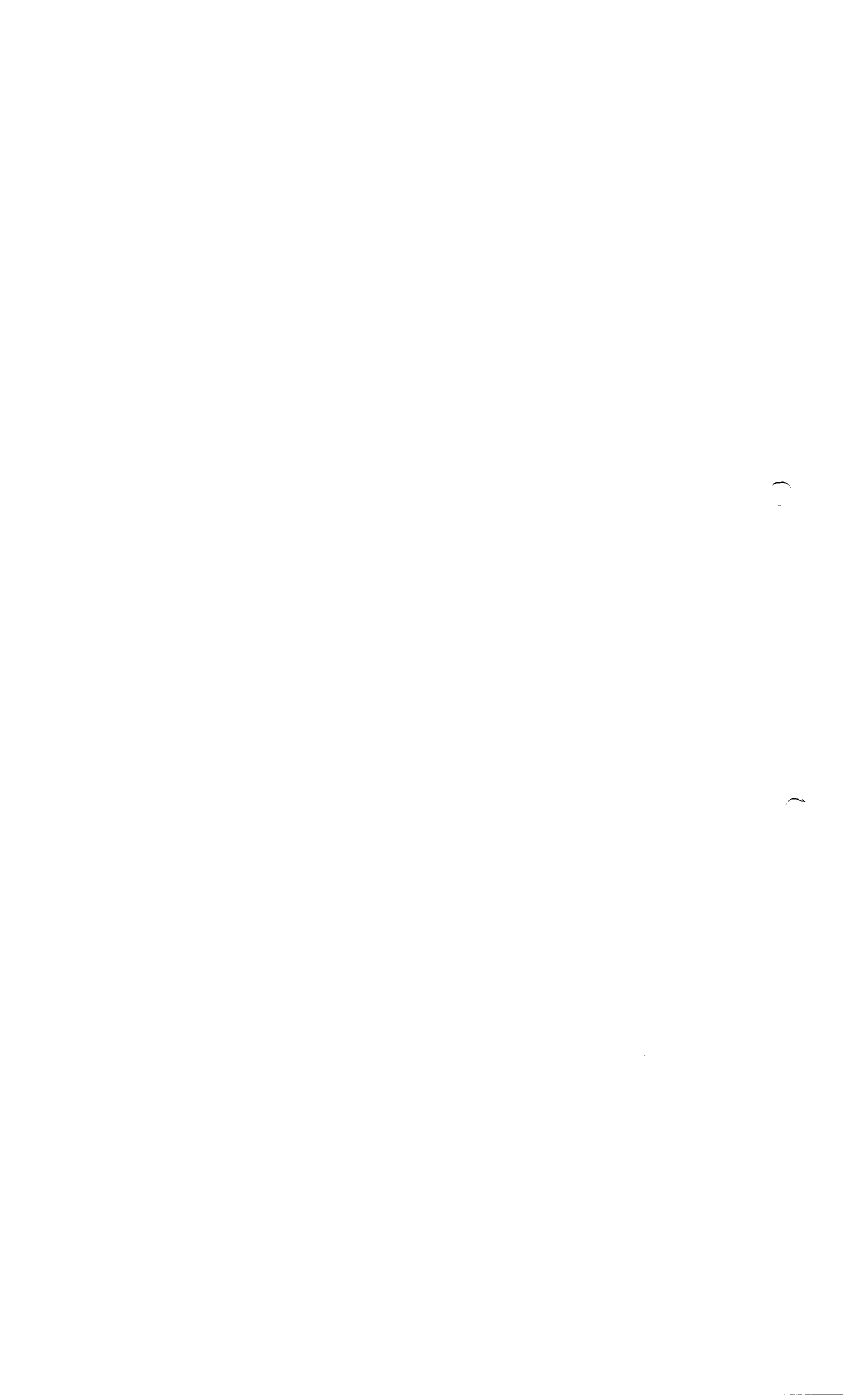
5.7 Tampón de regeneración

- Cloruro de sodio
- Polisorbato 20
- Solución de tris (hidroximetil) aminometano (vea el apartado 5.1.2)
- Agua purificada

Antes de usarse, esta solución se filtra mediante filtración profunda.

5.8 Otros


- Ácido clorhídrico concentrado (37% v/v)

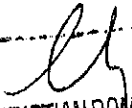




3.2.S.2.4

Control de los Pasos Críticos e Intermedios - HBsAg


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





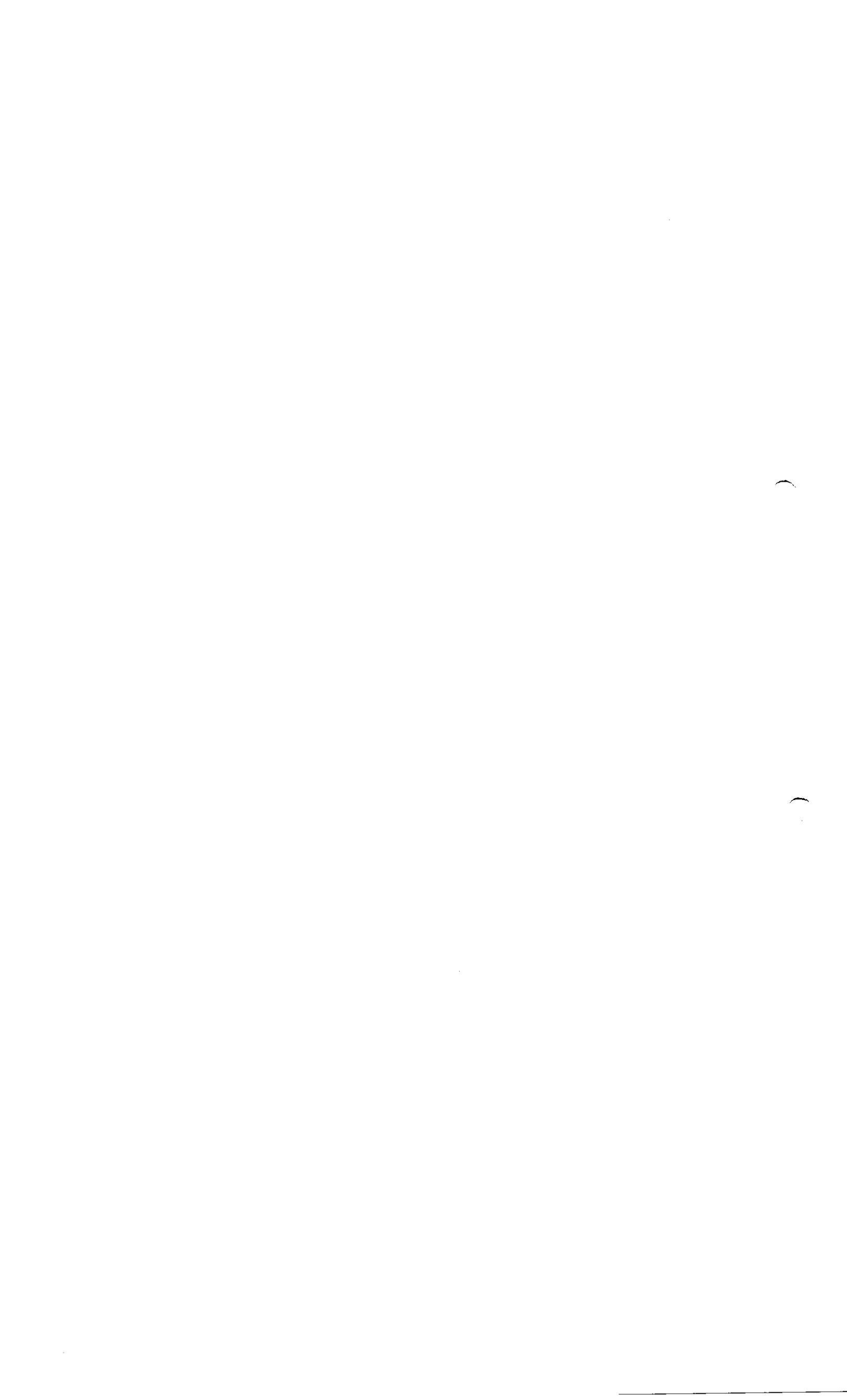
Sección 3.2.S.2.4 - Control de pasos críticos e intermedios

Índice

Lista de tablas	2
1 Pasos críticos en el proceso de producción del antígeno de superficie de la hepatitis B.....	3
2 Intermedios	4


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.



CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.






Lista de tablas

Tabla 1: Etapas críticas del proceso de elaboración del HBsAg4


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



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



1 Pasos críticos en el proceso de producción del antígeno de superficie de la hepatitis B

El principio activo antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) se obtiene mediante la fermentación de la cepa recombinante K8/3-1 de la cepa RB11 de *Hansenula polymorpha*, y luego su cosecha, purificación y maduración.

Considerando los estudios de caracterización y estabilidad que se detallan en este dossier, los controles durante el proceso realizados en las etapas de fermentación y la identificación de HBsAg realizada en la liberación, se puede asegurar que la cepa recombinante K8/3-1 de *Hansenula polymorpha* se utiliza en este proceso de elaboración.

Las etapas de elaboración se determinan mediante parámetros de producción (detallados en la sección 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación y en 3.2.S.2.5 Validación y/o evaluación del proceso) y mediante controles durante el proceso (vea la sección 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación).

La estabilidad del principio activo HBsAg durante el almacenamiento se controla mediante una monitorización del tiempo y la temperatura a fin de asegurar la calidad del producto. El estudio de estabilidad se presenta en la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad.

Según los resultados de los estudios de validación que demuestran que el proceso de elaboración es reproducible y está bajo control, las siguientes etapas (vea la Tabla 1) se consideran críticas para el proceso de elaboración del HBsAg.





Tabla 1: Etapas críticas del proceso de elaboración del HBsAg

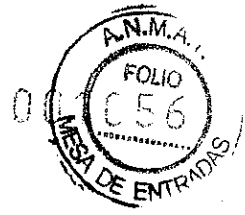
Etapas críticas	Objetivo de la etapa	Control de criticidad
Fermentación industrial (etapa 1.3) <i>Fase de inducción</i>	Expresión intracelular del HBsAg	Estas etapas críticas se controlan mediante: - Parámetros de producción - Controles durante el proceso - Datos de validación
Fragmentación celular (etapa 1.5)	Ruptura celular y liberación de las partículas de HepB	
Precipitación con PEG (etapa 1.6)	Eliminación de los residuos celulares y contaminantes mediante precipitación	
Adsorción y lavado (etapa 1.7)	Cosecha de las partículas de interés de HepB mediante adsorción/desorción con dióxido de silicio coloidal	
Desorción (etapa 1.8)		
Cromatografía de intercambio iónico (IEC) (etapa 2.1) <i>Fase de elución</i>	Purificación de la proteína de interés. Eliminación de las impurezas de ADN y proteínas de las células huésped (HCP).	
Ultracentrifugación (etapa 2.3)	Purificación del HBsAg de interés mediante la eliminación de lípidos, principalmente, y las proteínas HCP restantes.	
Cromatografía de filtración en gel (GFC) (etapa 2.6)	Etapa de refinación	
Filtración final (etapa 2.7)	Asegurar la máxima reducción de la carga biológica	
Maduración (etapa 3)	Asegurar una conformación uniforme de las partículas creando todos los enlaces disulfuro intra- e inter partículas.	

Durante las distintas etapas del proceso de elaboración, el control de los parámetros de producción, los controles durante el proceso y los controles de liberación realizados sobre el principio activo final permiten asegurar que estas etapas críticas están bajo control.

2 Intermedios

No se genera ningún intermedio en la producción del HBsAg. Todas las pruebas de liberación y estabilidad se realizan sólo con el principio activo HBsAg; vea la sección 3.2.S.4.1 Especificación y 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad.





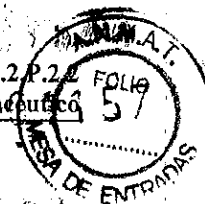
3.2.P.2.2

Producto Farmacéutico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.P.2.2 - Producto farmacéutico

Índice

Lista de tablas	2
1 Desarrollo de la formulación	3
1.1 Panorama de los objetivos y de la estrategia	3
1.2 Panorama del desarrollo.....	4
1.3 Desarrollo del proceso de formulación	6
1.3.1 Contenido de hidróxido de aluminio	6
1.3.2 Concentraciones de los principios activos.....	7
1.3.2.1 Nivel de adsorción de los principios activos sobre aluminio	8
1.3.3 El ambiente iónico: composición de excipientes y del tampón.....	9
1.3.3.1 Formulación inicial	10
1.3.3.2 Formulación optimizada.....	14
1.3.4 Proceso de formulación de la mezcla	17
1.3.4.1 Orden secuencial de los principios activos, adición de excipientes y preadsorción del HBsAg	17
1.3.4.2 Resultados de la formulación optimizada a 555 mL	17
1.3.5 Resumen del proceso de la formulación optimizada.....	32
2 Excedentes.....	32
3 Propiedades fisicoquímicas y biológicas.....	32
3.1 Los principios activos	32
3.2 Los excipientes.....	33
Lista de referencias	34





Lista de tablas

Tabla 1: Cambios de formulación desde la formulación inicial hasta la formulación optimizada ...	5
Tabla 2: Lotes de producto final a granel y lotes relacionados del producto llenado con la formulación inicial utilizados para los estudios clínicos y no clínicos	11
Tabla 3: Lotes de producto final a granel y lotes relacionados de producto llenado con la formulación optimizada utilizados para los estudios clínicos y no clínicos.....	15
Tabla 4: Análisis de lotes experimentales del producto final a granel producidos a escala de 555 mL	19
Tabla 5: Análisis de lotes experimentales del producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL (envasados en viales)	20
Tabla 6: Resultados de estabilidad de la adsorción del HBsAg para lotes experimentales de producto final a granel producidos a escala de 555 mL	21
Tabla 7: Resultados de estabilidad del PRP no adsorbido para lotes experimentales de producto final a granel producidos a escala de 555 mL	21
Tabla 8: Resultados de estabilidad del PRP despolimerizado para lotes experimentales de producto final a granel producidos a escala de 555 mL	22
Tabla 9: Resultados de estabilidad de la adsorción del HBsAg para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL	23
Tabla 10: Resultados de estabilidad del PRP no adsorbido para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL.....	24
Tabla 11: Resultados de estabilidad de la despolimerización del PRP para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL	25
Tabla 12: Resultados de estabilidad de la adsorción del PDT para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL (envasados en viales)	26
Tabla 13: Resultados de estabilidad de la adsorción del PTT para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL (envasados en viales)	27
Tabla 14: Resultados de estabilidad de la adsorción del PTxd para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL (envasados en viales)	28
Tabla 15: Resultados de estabilidad de la adsorción de la FHA para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL	29
Tabla 16: Resultados de estabilidad del IPV no adsorbido (contenido de antígeno D) para lotes experimentales de producto farmacéutico producidos a escala de 555 mL (envasados en viales)	30





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

1 Desarrollo de la formulación

La vacuna Hexaxim es una vacuna combinada adyuvada hexavalente libre de conservantes y lista para usar (es decir, líquida) que permite la inmunización activa simultánea de niños (a partir de las 6 semanas de edad) contra las seis enfermedades siguientes: difteria, tétanos, tos ferina, poliomielitis, hepatitis B y enfermedad invasiva por *Haemophilus influenzae* tipo b.

La forma farmacéutica de esta vacuna es una suspensión inyectable que se administra por vía intramuscular (IM). Se presenta en un vial de vidrio o en una jeringa monodosis que contienen 1 dosis humana de 0,5 mL.

El producto final a granel (PFAG) se prepara por adición secuencial de principios activos y excipientes en un orden específico para lograr una formulación homogénea y uniforme antes del llenado (en viales o jeringas).

1.1 Panorama de los objetivos y de la estrategia

El objetivo principal era desarrollar una vacuna combinada hexavalente inmunógena y estable en una presentación lista para usar con el fin de garantizar la protección de los niños.

La vacuna Hexaxim se desarrolló a partir de la experiencia obtenida durante décadas por sanofi pasteur con vacunas pediátricas:

- Especialmente vacunas combinadas líquidas como la vacuna Tetravac (DTaP-IPV) y la vacuna Pediacel (DTaP-IPV-PRP-T).
- Vacunas combinadas reconstituidas como la vacuna Pentavac (DTaP-IPV//PRP-T).
- La vacuna liofilizada Act-Hib (Hib), indicada para la inmunización activa para prevenir la enfermedad invasiva por *Haemophilus influenzae* tipo b.

El objetivo del desarrollo de la formulación fue, por ende, definir la composición y el proceso de elaboración más adecuados para garantizar la compatibilidad y la estabilidad de los seis principios activos implicados, y el cumplimiento de la monografía 2067 de la Farmacopea Europea para vacunas hexavalentes.

La investigación para el desarrollo se centró principalmente en los siguientes atributos de calidad:

- La composición, en términos de concentración de los principios activos y del adyuvante, se definió para proporcionar la protección deseada (vea 3.2.P.1 Descripción y composición del producto farmacéutico), es decir, aquella con la que todos los principios activos inducirán la potencia o inmunogenicidad deseada (vea 3.2.P.5.1 Especificaciones).
- La composición de los excipientes (vea 3.2.P.1 Descripción y composición del producto farmacéutico) se estudió específicamente para encontrar el mejor equilibrio para satisfacer dos atributos de calidad opuestos: garantizar un nivel mínimo de adsorción del PRP-T sin dejar de





mantener un nivel máximo de adsorción del HBsAg (sin afectar al nivel de PRP despolimerizado [$>20\%$]).

- El orden de la secuencia de adición de los principios activos y excipientes se estudió también específicamente para establecer condiciones favorables para garantizar el nivel deseado de adsorción de los principios activos al adyuvante a lo largo de la vida útil de la combinación.

1.2 Panorama del desarrollo

Durante el período de desarrollo de 6 años, se prepararon diferentes lotes desde la escala de laboratorio (100 mL y 555 mL) hasta la escala industrial (50 L a 250 L) para determinar la composición y el proceso de producción adecuados, para evaluar la vacuna candidata mediante estudios preclínicos y clínicos, y también para documentar la robustez del proceso y demostrar la uniformidad de la producción.

Primero se desarrolló una formulación inicial. Después, para facilitar el paso de ajuste del pH, se eliminó uno de los componentes del excipiente (iones carbonato) ocasionando una modificación de la composición de los excipientes y del proceso de formulación, mientras se mantenían los mismos atributos de calidad de la vacuna Hexaxim.

Las mejoras del proceso de formulación desde la formulación inicial hasta la formulación optimizada se describen y justifican en la tabla 1. Los detalles de los cambios se muestran en el párrafo 1.3.

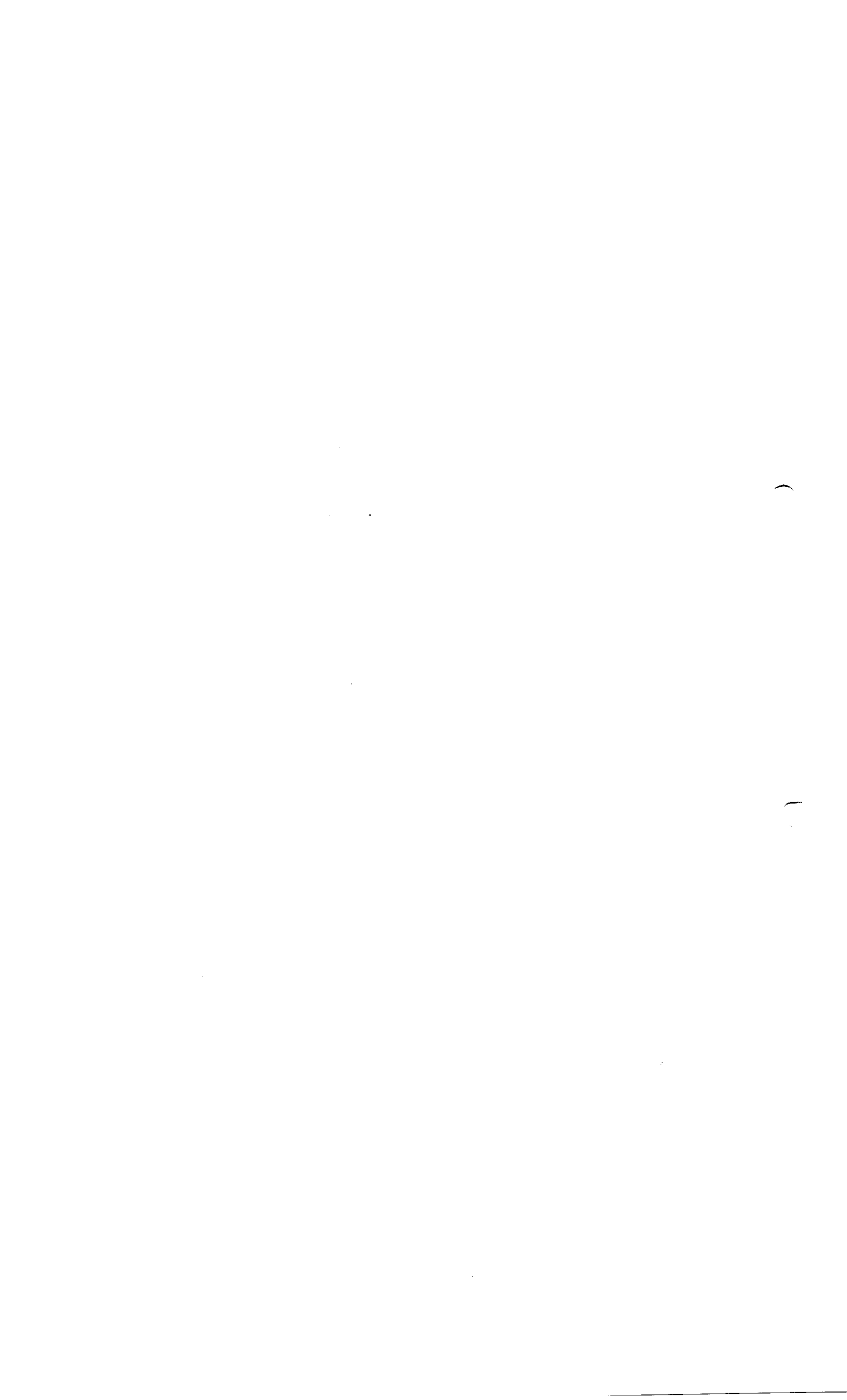


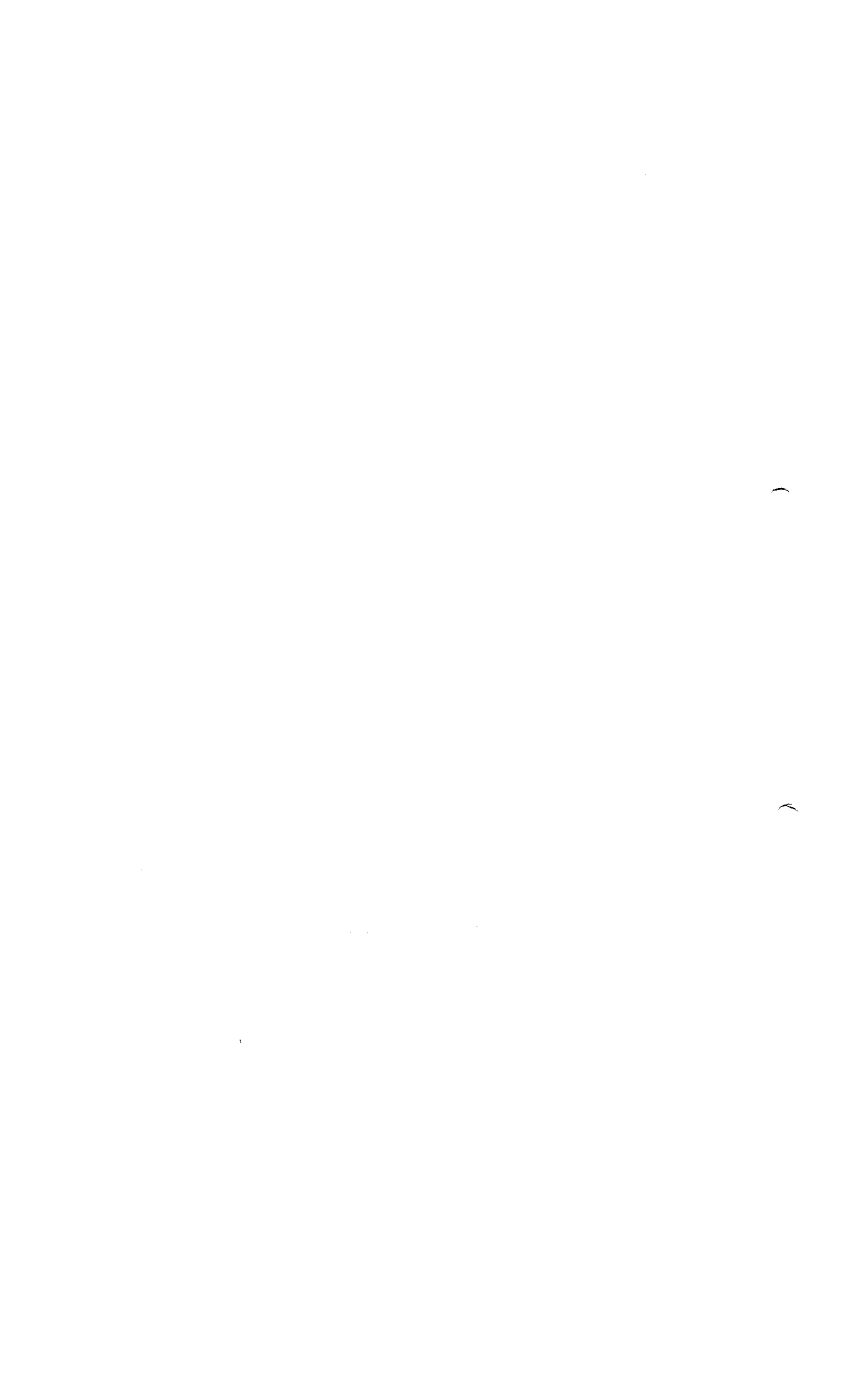


Tabla 1: Cambios de formulación desde la formulación inicial hasta la formulación optimizada

Cambios	Formulación inicial	Formulación optimizada	
		Formulación	Fundamentos
Tampón de carbonato y fosfato	La formulación inicial contenía carbonato y fosfato.	La formulación optimizada no contiene carbonato y sigue conteniendo fosfato.	Facilitar el ajuste del pH durante el proceso de mezcla, no se realiza adición alguna de carbonato.
Aminoácidos	Solo aportaba aminoácidos el M199 (estabilizante del principio activo IPV).	Durante el proceso de formulación se incorpora una solución de aminoácidos esenciales, antes de la adición de IPV y PRP-T.	Mantener el mismo atributo de calidad de la vacuna candidata Hexaxim tras eliminar los iones carbonato, se añaden aminoácidos esenciales para evitar la adsorción del PRP-T mientras se limita la desorción de otros principios activos.
Paso de preadsorción del HBsAg en una fracción de hidróxido de aluminio	No se realizaba ningún paso de preadsorción <i>per se</i> . No obstante, se añadía HBsAg al hidróxido de aluminio antes de la introducción sucesiva de los demás principios activos (es decir, PDT, PTT, PTxd y FHA, IPV y PRP-T).	Se lleva a cabo un paso de preadsorción del HBsAg solo en el gel de aluminio, introduciendo primero el principio activo HBsAg en el tanque que contiene hidróxido de aluminio. En paralelo, se introducen sucesivamente PDT, PTT, PTxd y FHA en otro tanque que contiene hidróxido de aluminio. Se mezclan a continuación las dos fracciones, antes de la adición del IPV y del PRP-T.	Este paso de preadsorción se incluye en el proceso de formulación para garantizar una adsorción suficiente del HBsAg en el hidróxido de aluminio al final del periodo de validez, sin incrementar la duración del proceso global de mezcla.
Ajuste del pH final	El pH final se ajustaba en el rango de 6,8-7,2.	El pH final se ajusta en el rango de 7,0-7,2.	Este ajuste del pH se lleva a cabo para asegurar un contenido de PRP-T no adsorbido $\geq 8 \mu\text{g/dosis}$ y garantizar un nivel aceptable de PRP despolimerizado (<20 %).

Las concentraciones de los antígenos y de los demás componentes (sacarosa y trometamol) siguieron siendo las mismas entre la formulación inicial y la formulación optimizada, y no se modificaron durante el desarrollo general de Hexaxim.

Los cambios de elaboración (p. ej., planta, escala) y la selección del sistema de cierre del envase se describen en las secciones 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración y 3.2.P.2.4 Sistema de cierre del envase, respectivamente.





1.3 Desarrollo del proceso de formulación

Para garantizar la compatibilidad y la estabilidad de cada principio activo con la combinación hexavalente, se investigaron los siguientes parámetros:

- El contenido de hidróxido de aluminio.
- La concentración de los principios activos.
- El nivel de adsorción de los principios activos sobre el gel de hidróxido de aluminio.
- El ambiente iónico (p. ej., la composición de los excipientes y la composición del tampón).
- El proceso de mezcla, incluyendo la secuencia de introducción de los principios activos durante la mezcla y la preadsorción del HBsAg durante la preparación del producto final a granel.

1.3.1 Contenido de hidróxido de aluminio

Uno de los parámetros importantes para definir la formulación de la vacuna Hexaxim era seleccionar el contenido óptimo de aluminio.

Sin dejar de cumplir con la monografía 2067 de la Farmacopea Europea, los objetivos eran, en primer lugar, obtener una concentración suficiente para garantizar un efecto adyuvante eficiente y, en segundo lugar, asegurar el nivel de adsorción adecuado de dos antígenos específicos: el PRP-T y el HBsAg.

Considerando las siguientes vacunas comercializadas por sanofi pasteur, la concentración de adyuvante se fija comúnmente en un mínimo de 0,3 mg de Al/dosis y por debajo de 1,25 mg de Al/dosis (como exige la monografía 2067 de la Farmacopea Europea):

- Las vacunas combinadas Tetravac y Pentavac, para las que se ha demostrado la seguridad y la eficacia, contienen los principios activos y 0,3 mg/dosis de hidróxido de aluminio en su formulación.
- La vacuna combinada Tetracoq (DTwP-IPV), para la que se ha demostrado también la seguridad y la eficacia, contiene 0,6 mg/dosis de hidróxido de aluminio.
- Antes de desarrollar la formulación de Hexaxim, se desarrolló una nueva vacuna candidata de Hep B monovalente (denominada spHB) basada en el HBsAg de sanofi pasteur producido a partir de *Hansenula polymorpha*. Esta vacuna contenía también 0,6 mg/dosis de hidróxido de aluminio. La inmunogenicidad de esta vacuna experimental spHB se comparó con una vacuna de control con licencia, Engerix B® (1), en dos estudios aleatorizados, controlados, con observador ciego, de fase III (realizados en Argentina y Uruguay). Ambas vacunas se les administraron a los participantes con un calendario de 0-1-6 meses y se midieron los títulos de anticuerpos antes de la dosis 1 y 1 mes después de la dosis 3. Se llevaron a cabo análisis estadísticos de no inferioridad sobre los índices de seroprotección después de la vacunación. En ambos estudios, la seroprotección para la vacuna spHB fue del 100 % y la vacuna spHB no fue inferior a la vacuna de control con licencia. La reactogenicidad fue baja para cada vacuna.

