

## 2.2 Antecedentes del desarrollo del proceso de elaboración

El desarrollo del proceso de elaboración tenía por objetivo establecer un proceso robusto y uniforme a escala industrial (50 L a 250 L). Los diversos cambios que se realizaron por tanto durante el período de desarrollo de Hexaxim se resumen a continuación.

### 2.2.1 Planta y escala de elaboración

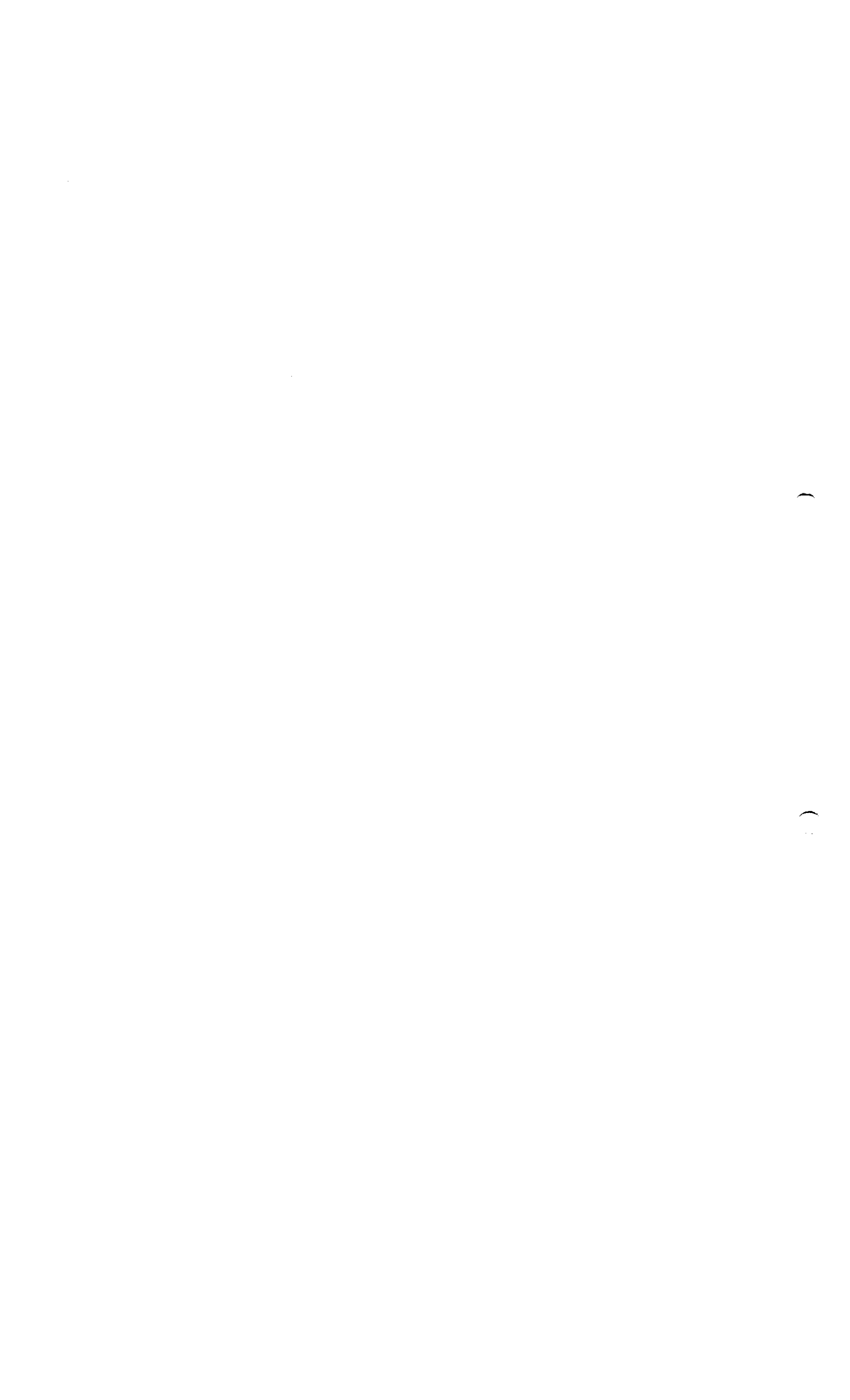
Tanto la planta de elaboración para el PFAG y el PL como la escala de elaboración del PFAG se modificaron a lo largo del desarrollo de la vacuna:

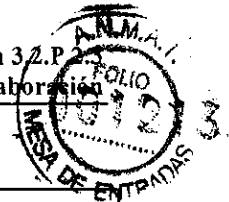
- Las primeras producciones de lotes de PFAG y de PL donde se aplicó la formulación inicial se llevaron a cabo en Argentina (subcontratista: MR Pharma). La escala de producción del PFAG de 4 L era suficiente para cubrir las necesidades de los estudios clínicos y no clínicos de fase I.
- Después se aumentó a 50 L la escala de producción del PFAG utilizando el proceso de la formulación inicial para atender a las necesidades del desarrollo clínico de fase II y parte del de fase III, y como primer paso del programa de desarrollo industrial. Los lotes se elaboraron en Argentina. Después, de conformidad con el plan de desarrollo industrial, los procesos de elaboración del PFAG y del PL se transfirieron a Francia para declarar a Marcy l'Étoile como la planta de producción del PFAG.
- En Marcy l'Étoile, se llevó a cabo un nuevo aumento de escala de la producción del PFAG hasta 250 L, principalmente para abastecer a los estudios clínicos adicionales de fase III y para documentar la uniformidad de la producción farmacéutica a la futura escala máxima de producción comercial de rutina.
- En paralelo, y siempre de acuerdo con el programa de desarrollo industrial, se implantó la preparación del PL en viales en la planta de Anagni mientras que la preparación en jeringas se disponía en Marcy l'Étoile.
- Para evaluar el desarrollo de la formulación optimizada y llevar a cabo estudios de validación y robustez del proceso, se produjeron 3 lotes de PFAG a la escala mínima de producción de 50 L (en Marcy l'Étoile).
- Después, para garantizar un aumento de la capacidad de producción, se implantó un aumento de escala adicional hasta 250 L de producción de PFAG en Marcy l'Étoile, y se preparó PL en jeringas en Marcy l'Étoile y en viales en Val de Reuil, para documentar la uniformidad de la producción farmacéutica a la futura escala máxima de producción comercial de rutina.

En la Tabla 3 se resumieron las plantas de elaboración industrial destinadas a la producción de lotes comerciales de Hexaxim [vea la sección 3.2.P.3.1 Fabricante(s)].

**Tabla 3: Plantas de elaboración industrial para la producción de Hexaxim**

Planta de elaboración	Marcy l'Étoile	Val de Reuil	Anagni
Elaboración del producto final a granel (desde 50 L	X		





Planta de elaboración	Marcy l'Étoile	Val de Reuil	Anagni
hasta 250 L)			
Elaboración del producto llenado en jeringas	X		
Elaboración del producto llenado en viales		X	X

**2.2.2 Sistemas de cierre del envase**

Los sistemas de cierre del envase utilizados para el preparado vacunal han evolucionado durante el período de desarrollo de Hexaxim:

- Jeringas (vidrio de tipo I): para el PL preparado con el proceso de la formulación inicial se utilizaron jeringas con aguja acoplada y sin aguja; para los tapones-émbolo se ensayaron materiales de clorobutilo y de clorobromobutilo (tratados con silicona), y los capuchones eran de material de clorobromobutilo (tratado con silicona). Después, de acuerdo con el desarrollo del proceso de formulación, el PL preparado con el proceso de la formulación optimizada implantó tapones-émbolo de bromobutilo (fluorado; porque eran más inertes, vea la sección 3.2.P.2.4 Sistema de cierre del envase) mientras que los capuchones siguieron siendo de material de clorobromobutilo (tratado con silicona).
- Viales (vidrio de tipo I): para el PL preparado con el proceso de la formulación inicial, se utilizaron tapones de clorobutilo (tratado con silicona) y tapas con partes de aluminio y polipropileno. Después, siempre de acuerdo con el desarrollo del proceso de formulación, el PL preparado con el proceso de la formulación optimizada implantó tapones de bromobutilo (fluorado) mientras que las tapas siguieron teniendo partes con materiales de aluminio y polipropileno.

Las opciones de los sistemas de cierre del envase destinados a los lotes comerciales se presentan en la sección 3.2.P.2.4 Sistema de cierre del envase.

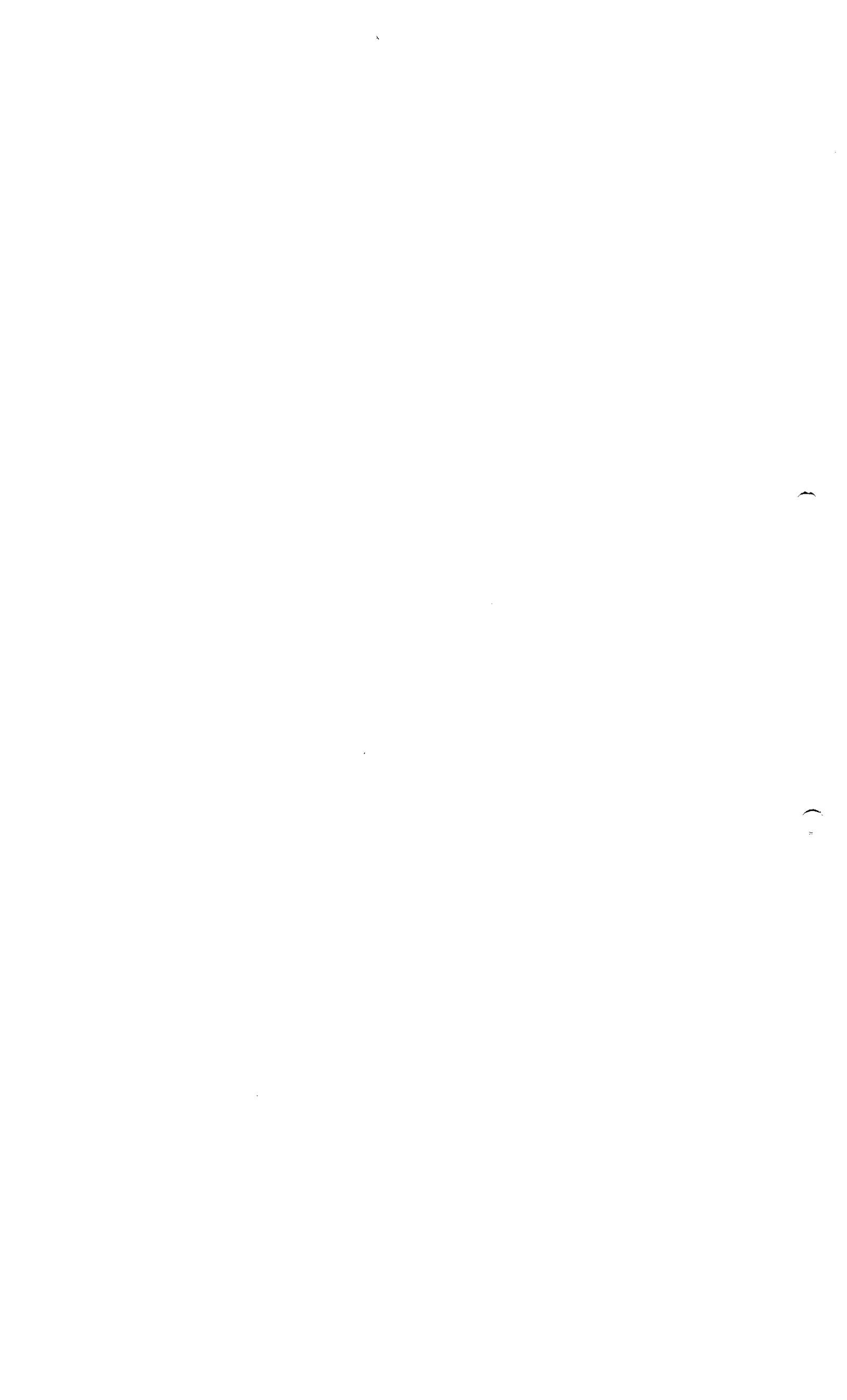
**2.2.3 Duración de la homogeneización durante la mezcla y la filtración**

A consecuencia de la mejora del proceso, los pasos de mezcla y filtración se modificaron desde la formulación inicial hasta la formulación optimizada. Los cambios están relacionados con la duración de las secuencias de homogeneización y filtración esterilizante:

- Cuando se aplicaba la formulación inicial, todos los principios activos se añadían sucesivamente en un orden específico a un tanque que contenía hidróxido de aluminio, es decir: HBsAg, PDT, PTT, PTxd, FHA, IPV y PRP-T. Cada principio activo y los excipientes se filtraban antes de su adición (excepto los 2 componentes preadsorbidos: PTxd y FHA) para garantizar la esterilidad del PFAG. Después de cada adición, la mezcla consecutiva se homogeneizaba.
- La formulación optimizada ocasionó principalmente el cambio del orden secuencial de adición de los principios activos: para garantizar la adsorción del HBsAg, se implantó en el proceso una preadsorción del HBsAg sobre hidróxido de aluminio. En paralelo, se añadían sucesivamente los principios activos PDT, PTT, PTxd y FHA sobre hidróxido de aluminio en otro tanque. Las 2 fracciones se mezclaban a continuación, antes de la adición de los aminoácidos esenciales, seguido de la adición del IPV y del PRP-T. Cada principio activo y

ROXANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





los excipientes se filtraban antes de su adición (excepto los 2 componentes preadsorbidos: PTxd y FHA) para garantizar la esterilidad del PFAG. Después de cada adición, la mezcla consecutiva se homogeneizaba (vea 3.2.P.3.3 Descripción del proceso de elaboración y controles del proceso).

### 2.3 Estudios del desarrollo del proceso de elaboración

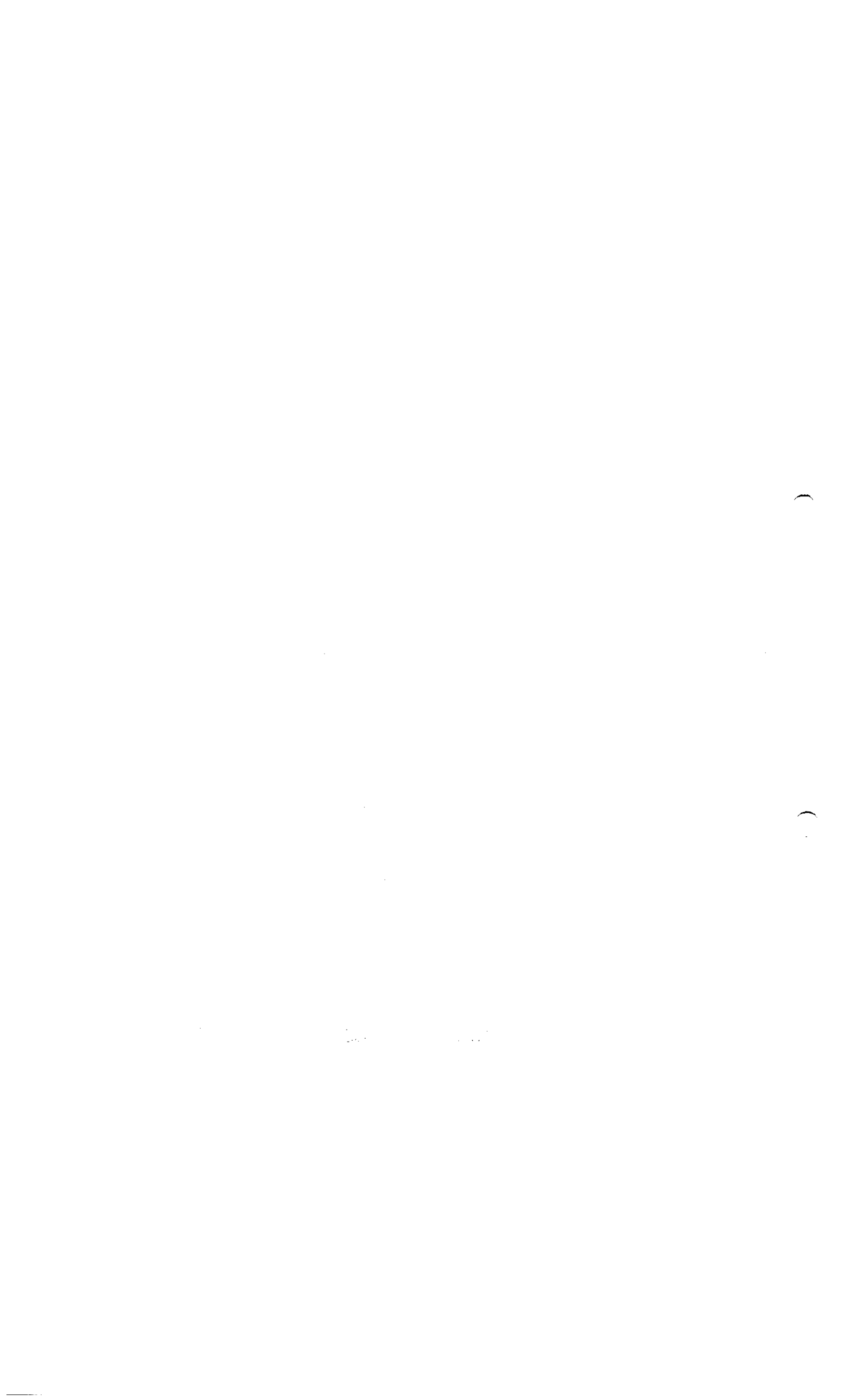
Como se presenta en la sección 3.2.P.3.3 Descripción del proceso de elaboración y controles del proceso, el proceso de elaboración del producto medicinal Hexaxim consta de tres pasos principales:

- Elaboración del producto final a granel.
- Llenado del producto final a granel.
- Acondicionamiento secundario del producto llenado.

Entre estos pasos de elaboración, algunos son críticos para los atributos de calidad del producto medicinal (vea la sección 3.2.P.3.4 Control de los pasos críticos e intermedios), y de modo especial:

- Elaboración del producto final a granel, que incluye:
  - Esterilización de los componentes del producto final a granel.
  - Proceso de mezcla.
- Llenado del producto final a granel.

Los diagramas de flujo del proceso de estos pasos críticos se recuerdan a continuación.



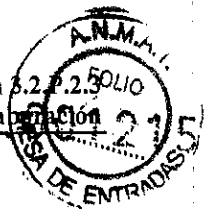
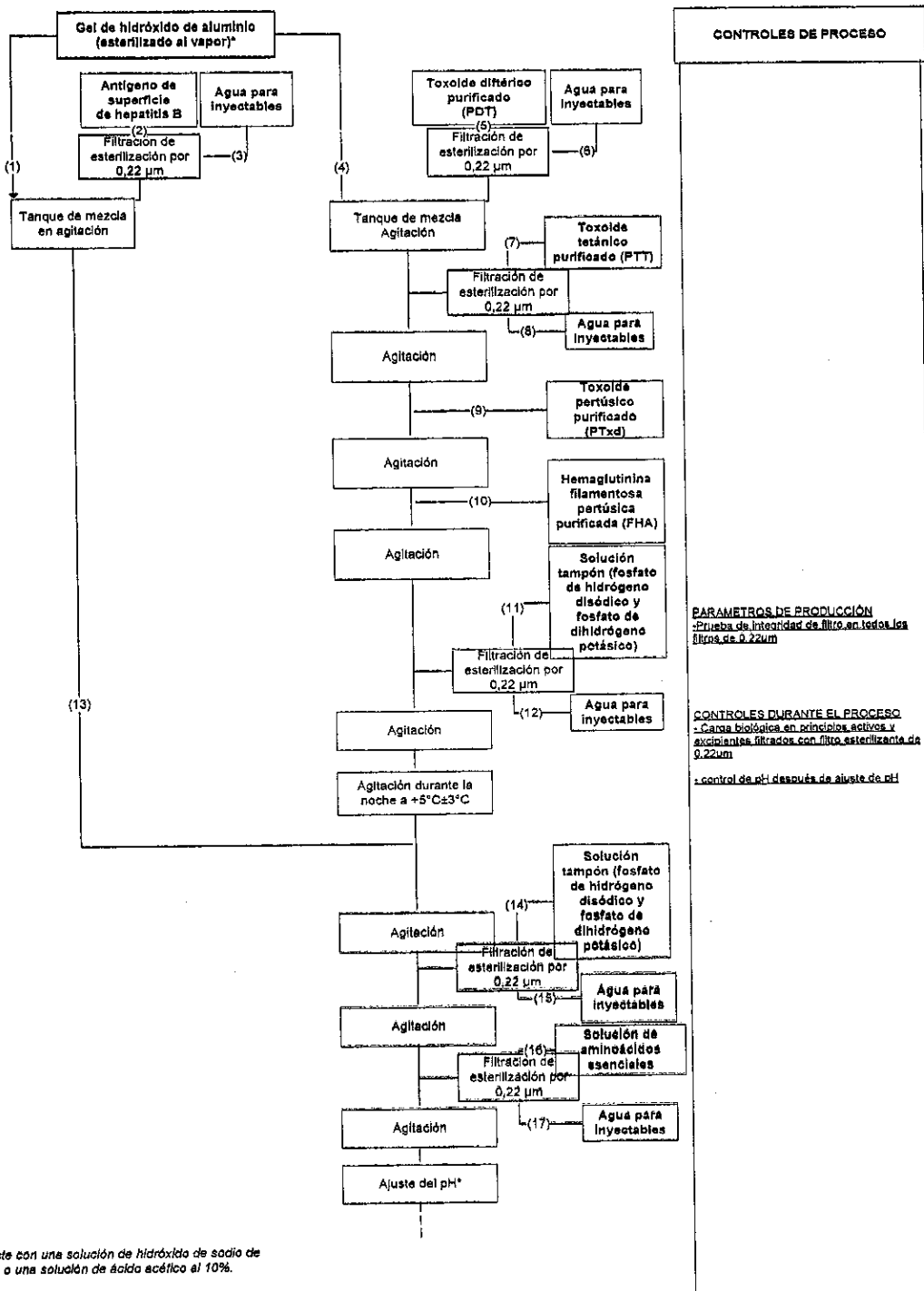
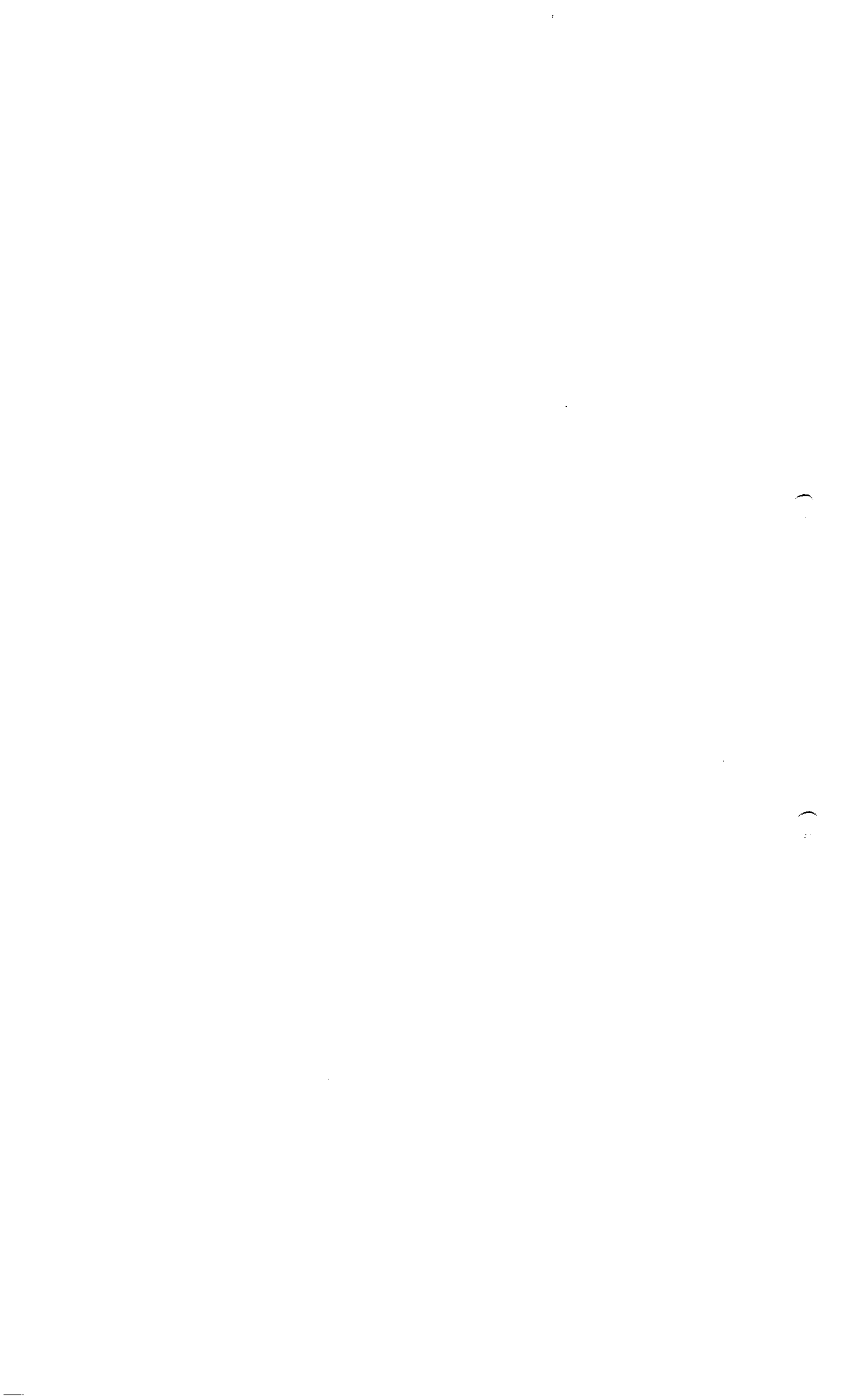


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso del producto final a granel (parte 1)





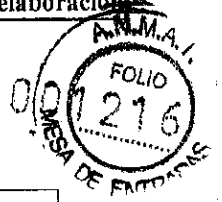
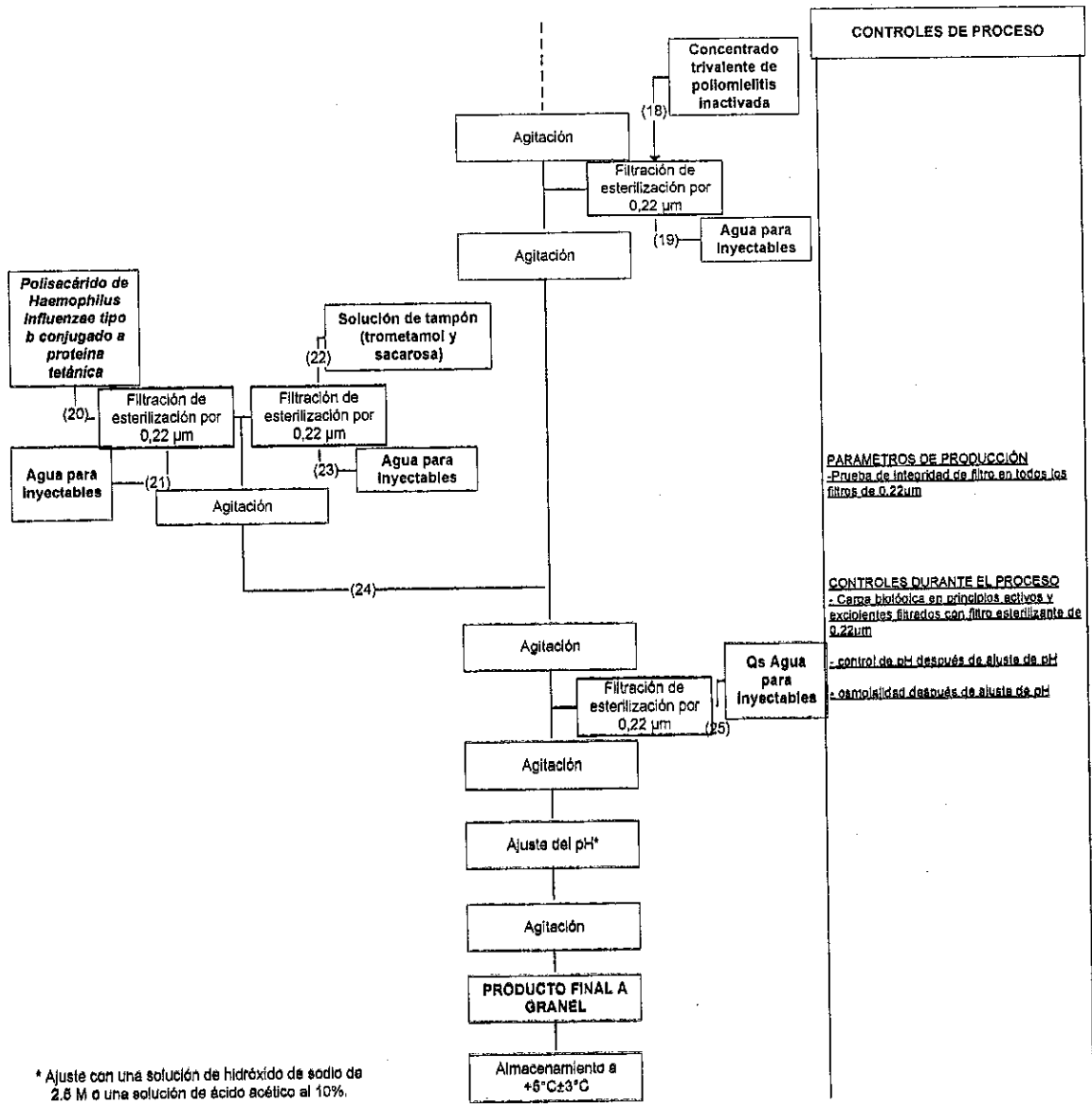
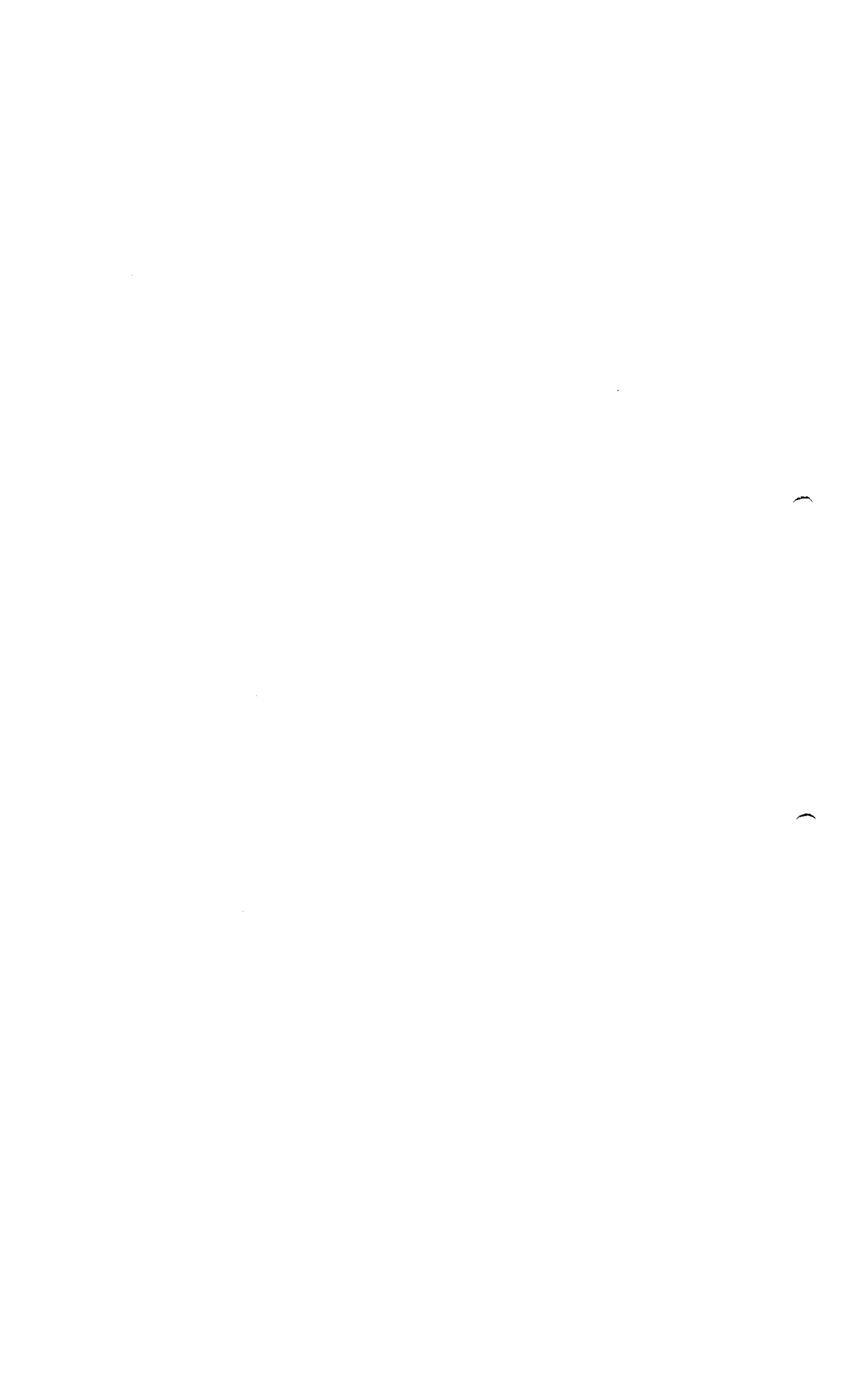


Figura 2: Diagrama de flujo del proceso del producto final a granel (parte 2)



\* Ajuste con una solución de hidróxido de sodio de 2.5 M o una solución de ácido acético al 10%.



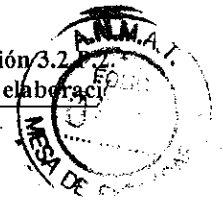
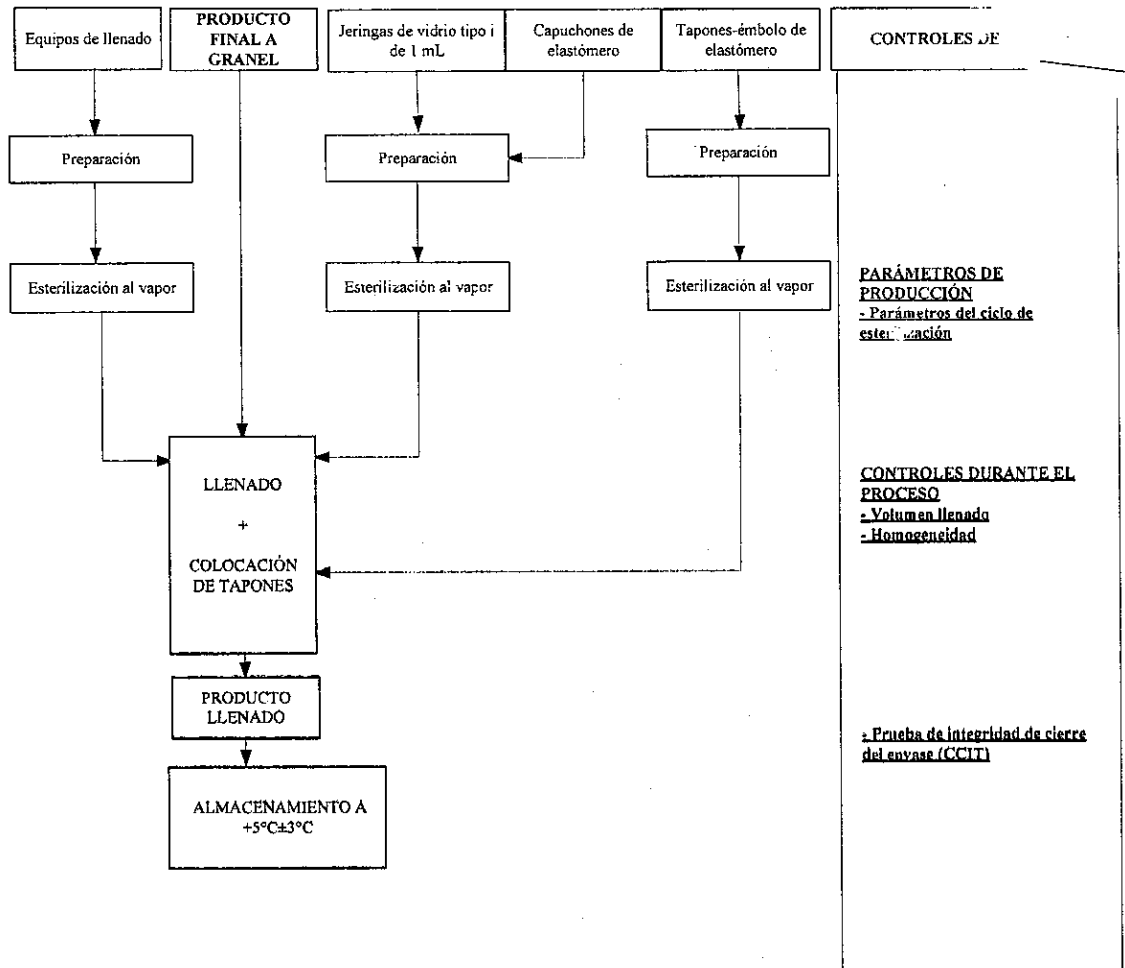


Figura 3: Diagrama de flujo del llenado en jeringas sin aguja acoplada



ROXANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.

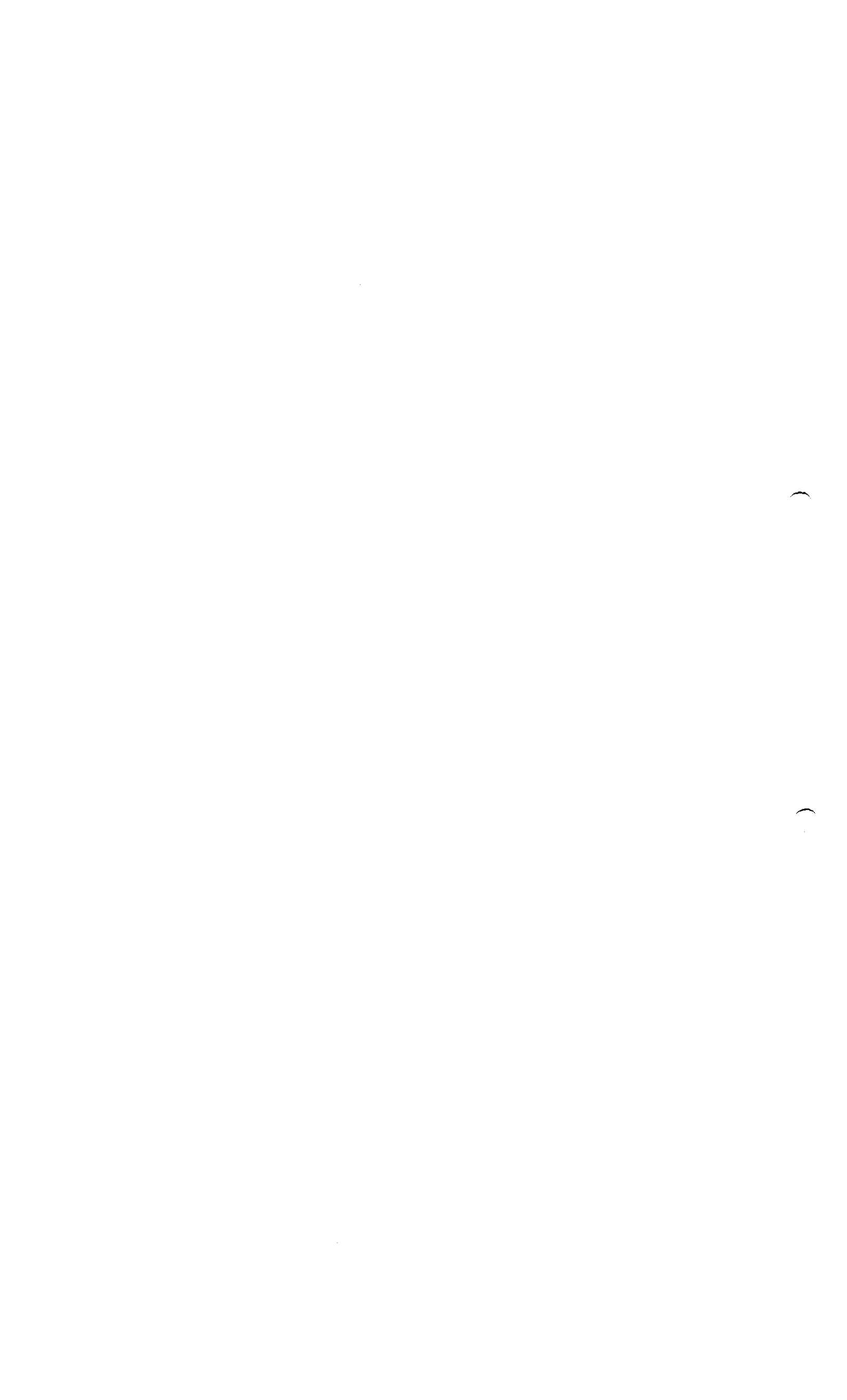
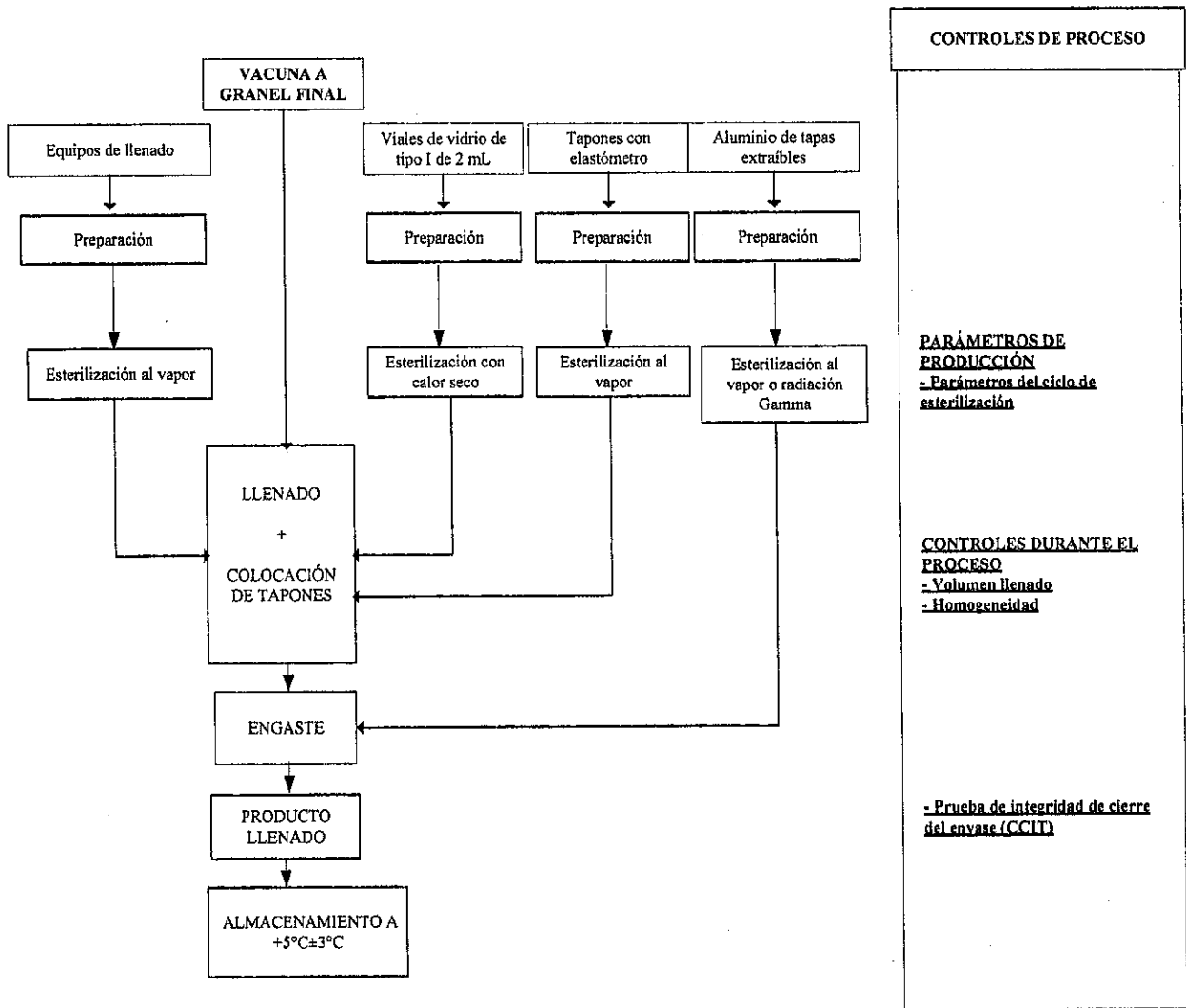




Figura 4: Diagrama de flujo del llenado en viales







Estos pasos críticos (la elaboración del producto final a granel y el llenado del producto final a granel) se controlan mediante parámetros del proceso aplicados para garantizar que todos los atributos de calidad de la vacuna elaborada cumplan los criterios de aceptación. Se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4: Parámetros del proceso de los pasos críticos**

Pasos críticos		Parámetros de control del proceso	Atributos de calidad	
Elaboración del producto final a granel	Esterilización con vapor de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio	Tiempo y temperatura	Calidad microbiana	
	Filtraciones esterilizantes de los excipientes y de los principios activos	Caudal de filtración		
	Introducción aséptica del PTxd y de la FHA	Elaboración bajo los requisitos de las BPM		
	Mezcla		Elaboración bajo los requisitos de las BPM	Calidad microbiana
			Ajuste del pH	Adsorción de antígenos en suspensión de gel de hidróxido de aluminio
			Velocidad y duración de la agitación	
			Caudal para la introducción de los componentes	
Llenado del PFAG		Elaboración bajo los requisitos de las BPM	Calidad microbiana	
		Velocidad y duración de la agitación durante la resuspensión	Homogeneidad de la vacuna Hexaxim en cada envase final	
		Volumen llenado	Uniformidad del volumen extraíble	

Cuando procedía, estos parámetros del proceso fueron desarrollados y estudiados durante el desarrollo del proceso de elaboración, como se resume a continuación.

Estos estudios han llevado a definir los intervalos de rutina aceptables para estos parámetros.

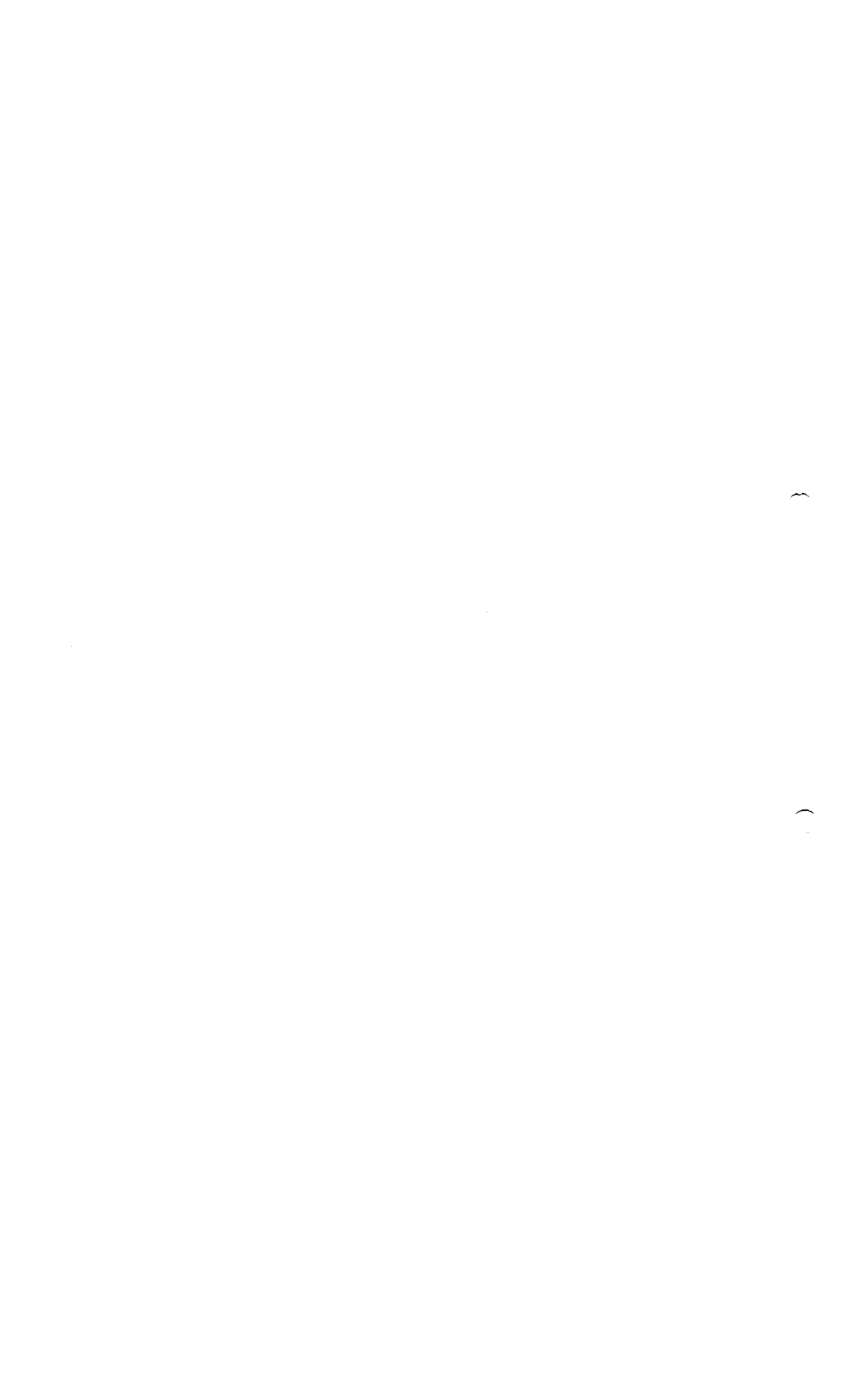
La demostración de todos estos atributos de calidad se llevó a cabo durante los estudios de validación presentados en la sección 3.2.P.3.5 Validación y/o evaluación del proceso.

### 2.3.1 Elaboración del producto final a granel

#### 2.3.1.1 Esterilización de los componentes del producto final a granel

- Esterilización con vapor de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio

Los parámetros del proceso de esterilización con vapor son una combinación de tiempo y temperatura: el ciclo de esterilización está establecido para garantizar  $F_0 > 15$  y para lograr un nivel de garantía de esterilidad de  $10^{-6}$  (Ph. Eur. 5.1.1, edición actual). Estos parámetros son importantes para obtener las condiciones de exterminación. Han sido estudiados durante la validación (vea la sección 3.2.P.3.5 Validación y/o evaluación del proceso).





- Filtración esterilizante de los excipientes y de los principios activos

El parámetro principal del proceso de filtración esterilizante es el caudal de filtración. Ha sido desarrollado a través del caudal de introducción de los componentes (vea el apartado 2.3.1.3.3). Luego se estudió la filtración con caudales máximo y mínimo durante la validación de la filtración esterilizante (datos presentados en la sección 3.2.P.3.5 Validación y/o evaluación del proceso):

- A escala industrial: la filtración a caudal mínimo es la condición más desfavorable para el estudio de la adsorción de principios activos en los filtros esterilizantes.
- A escala reducida: la filtración a caudal máximo es la condición más desfavorable para el estudio de la retención bacteriana.

### 2.3.1.2 Introducción aséptica del PTxd y de la FHA

Los parámetros del proceso para la introducción aséptica de los componentes preadsorbidos, PTxd y FHA, cumplen con los requisitos de las BPM actuales.

### 2.3.1.3 Proceso de mezcla

El proceso de mezcla se lleva a cabo en condiciones asépticas cuyos parámetros son el control ambiental y las prácticas operativas asépticas. Todos cumplen con los requisitos de las BPM actuales.

Los demás parámetros del proceso de mezcla son los siguientes:

- Ajustes del pH.
- Velocidad y duración de la agitación.
- Caudal para la introducción de componentes (principios activos y excipientes).

Estos parámetros son importantes para obtener un producto final a granel con la calidad necesaria.

Así, se llevaron a cabo estudios para demostrar que estos parámetros están controlados durante el paso de mezcla y para definir los intervalos de rutina aceptables.

#### 2.3.1.3.1 Ajustes del pH

Durante el proceso de mezcla, se llevan a cabo ajustes del pH para garantizar el nivel deseado de adsorción de antígenos, principalmente para PRP-T y HBsAg.

Este parámetro se ajusta para obtener un pH final de 7,0-7,2.

#### 2.3.1.3.2 Velocidad y duración de la agitación

Se evaluó el impacto de la velocidad y duración de la agitación sobre la calidad del producto medicinal durante el paso de mezcla, con el fin de definir los intervalos operativos de rutina.

Así, estos parámetros se investigaron en la formulación optimizada mediante dos estudios:

- En diferentes condiciones, entre ellas las condiciones más desfavorables a la escala de 50 L, para evaluar la calidad del producto medicinal (estudio de tensión cortante).





- En las condiciones más desfavorables a la escala de 250 L con solución simulada para evaluar la homogeneidad de la mezcla.

Los datos de estos estudios se resumen a continuación:

**2.3.1.3.2.1 Estudio de la tensión cortante a escala de 50 L**

Este estudio se llevó a cabo a la escala de lotes de 50 L con diferentes condiciones operativas para demostrar que las condiciones más desfavorables para la velocidad y la duración de la agitación no tienen efecto sobre la calidad del producto medicinal. Este estudio a escala de lotes de 50 L es representativo de la escala de 250 L en cuanto a los parámetros del equipo y del proceso.

La ausencia de efecto sobre la calidad del producto medicinal queda confirmada si los controles de calidad del PFAG cumplen los criterios de aceptación.

- **Lotes utilizados para el estudio de la tensión cortante del producto**

Se elaboraron tres lotes de la vacuna Hexaxim para este estudio (cf. Tabla 5).

**Tabla 5: Características de los lotes de PFAG utilizados en el estudio de la tensión cortante del producto**

Número de lote	Escala del lote	Fecha de elaboración
IND09014	50 L	10 jun 2009
IND09015	50 L	08 jul 2009
IND09016	50 L	29 jul 2009

- **Datos de validación para el estudio de la tensión cortante del producto**

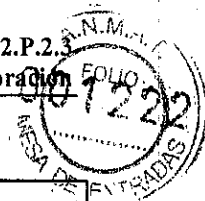
Los resultados analíticos correspondientes a los 3 lotes de PFAG se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6: Análisis de los tres lotes de PFAG de Hexaxim**

Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote		
		IND09014	IND09015	IND09016
Aspecto	Suspensión turbia y blancuzca*	Cumple	Cumple	Cumple
Medición del pH	6,5-7,5*	7,14	7,12	7,20
Contenido de aluminio	0,80-1,60 mg/mL*	1,09	1,15	1,14
Contenido de formaldehído libre	≤30 µg/mL†	2,01	2,25	2,31
Medición de osmolalidad	300-400 mosmol/kg	328	335	339
PRP despolimerizado	≤20 %‡	8,8	7,3	6,4 %‡
Fosfato de polirribosil ribitol (PRP) no adsorbido	≥16 µg/mL†	25,0	23,2	24,1


  
 ROXANA MONTEMLONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.  
 CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.





Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote		
		IND09014	IND09015	IND09016
Potencia diftérica (prueba de desafío en cobayos)	Actividad $\geq 60$ unidades internacionales (UI)/mL† Límite inferior de confianza ( $P = 0,95$ ) de la potencia estimada $\geq 40$ UI/mL	82 [56-116]	114 [76-176]	96 [48-148]
Potencia tetánica (prueba de desafío en ratones)	Límite inferior de confianza ( $P = 0,95$ ) de la potencia estimada $\geq 80$ UI/mL†	1786 [1168-2486]	666 [494-972]	1102 [694-1616]
Actividad de sensibilización a la histamina (HSA)	$\geq 95\%$ de supervivencia	98,3	100	100
Inmunogenicidad contra la tos ferina (pruebas de inmunogenicidad en ratones)	Los títulos de anticuerpos antitoxoide pertúsico (PTxd) y antihemaglutinina filamentosa (FHA) obtenidos para la vacuna no son significativamente inferiores ( $P = 0,95$ ) a los de la vacuna de referencia.	Cumple	Cumple	Cumple
Inmunogenicidad contra <i>Haemophilus</i> en ratones	No menos del 50 % de los ratones vacunados presentan un título no inferior a cuatro veces el del suero de control agrupado.†	Cumple	Cumple	Cumple
Porcentaje de adsorción: toxoide diftérico	Para información§ (en %)	51	45	50
Porcentaje de adsorción: toxoide tetánico	Para información† (en %)	33	50	23
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple
Toxicidad específica	Ausencia de síntomas diftéricos o tetánicos y un mínimo del 80 % de supervivencia†	Cumple	Cumple	Cumple
Toxicidad anormal	Cumple†	Cumple	Cumple	Cumple
Actividad antipoliomielítica en ratas	Para información (potencia relativa)**	Tipo 1: 1,3 Tipo 2: 0,9 Tipo 3: 1,2	Tipo 1: 1,4 Tipo 2: 1,5 Tipo 3: 1,6	Tipo 1: 1,5 Tipo 2: 1,1 Tipo 3: 1,4
Contenido de antígeno D	Tipo 1: 40-86 unidades de antígeno D (UD)/mL Tipo 2: 10-18 UD/mL Tipo 3: 34-72 UD/mL†	Tipo 1: 56,4 Tipo 2: 11,4 Tipo 3: 51,3	Tipo 1: 59,0 Tipo 2: 11,2 Tipo 3: 53,5	Tipo 1: 57,9 Tipo 2: 12,0 Tipo 3: 53,5
Porcentaje de adsorción: hepatitis B	Para información (en %)§	90	95	96
Potencia relativa de la hepatitis B <i>in vitro</i> (IVRP)	Para información (potencia relativa)§	1,16	0,95	0,90
Inmunogenicidad contra hepatitis B ( <i>in vivo</i> )	Límite inferior de confianza ( $P = 0,95$ ) $\geq 1,0$ †	1,461 [0,723-3,390]	1,013 [0,571-1,815]	1,538 [0,784-3,702]









Todos los resultados analíticos de los 3 lotes del PFAG cumplen los criterios de aceptación; estos resultados no presentan diferencias significativas entre los 3 lotes de PFAG.

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de los resultados de las pruebas *in vitro* teniendo en cuenta la variabilidad de los métodos analíticos para demostrar que el proceso es robusto.

Para cada resultado de las pruebas *in vitro* (contenido de aluminio, formaldehído libre, osmolalidad, PRP despolimerizado, PRP no adsorbido, adsorción de difteria, adsorción de tétanos, contenido de antígeno D, adsorción del HBsAg y potencia del HBsAg), se calcularon los intervalos de confianza con la variabilidad del método. Después, se compararon para cada prueba, entre los 3 lotes, los intervalos de confianza calculados, para comprobar su recuperación.

Los intervalos de confianza calculados se solapan para los 3 lotes, excepto para la osmolalidad, el PRP despolimerizado, el contenido de antígeno D del tipo 2 y la adsorción del antígeno de superficie de la hepatitis B.

Se resume a continuación el análisis específico de estos resultados:

- Osmolalidad: la osmolalidad del primer lote (IND09014) es mayor en comparación con la del tercer lote (IND09016). Este aumento está relacionado con el mayor volumen de NaOH introducido durante el ajuste del pH. No obstante, los resultados cumplen los criterios de aceptación.
- PRP despolimerizado: el resultado del tercer lote de 50 L está por debajo del límite de cuantificación del método ( $\leq 7,1\%$ ). No se puede llegar a una conclusión para este valor. No obstante, los intervalos de confianza calculados se solapan para los otros dos lotes. Los resultados obtenidos no demuestran ningún efecto de los parámetros del proceso analizados sobre esta prueba.
- Porcentaje de adsorción, toxoide tetánico: el resultado del segundo lote es del 50 %. Se repitió la prueba, ya que este primer resultado era atípico. El resultado obtenido para esta repetición de la prueba es del 26 %. Entonces, los intervalos de confianza calculados se solapan para los 3 lotes.
- Contenido de antígeno D del tipo 2: la diferencia entre los resultados de los tres lotes es de un 9,1 % como máximo. Esta diferencia no se considera significativa, teniendo en cuenta la variabilidad del método (8,1 %), y los resultados cumplen los criterios de aceptación.
- Adsorción del antígeno de superficie de la hepatitis B: la diferencia entre los resultados de los tres lotes no se observa en T0 de un estudio iniciado en paralelo con estos lotes para determinar la comparabilidad de la estabilidad (vea el apartado 3). Por tanto, se considera que no existe ninguna diferencia significativa entre los 3 lotes.
- **Conclusión**

De acuerdo con los resultados de los controles de calidad y con los análisis arriba citados, queda demostrada la calidad del producto, incluso en las condiciones operativas más desfavorables para la tensión cortante del producto.





### 2.3.1.3.2.2 Estudio de homogeneidad a escala de 250 L

- Este estudio se llevó a cabo a la escala de 250 L con soluciones/suspensiones simuladas para evaluar el efecto sobre la mezcla, en las condiciones más desfavorables para la homogeneidad.

Las soluciones/suspensiones simuladas están compuestas por una suspensión de gel de hidróxido de aluminio (a diferentes concentraciones) o por una solución de sacarosa (a diferentes concentraciones) que tienen las características fisicoquímicas (viscosidad y concentración de hidróxido de aluminio) más desfavorables en comparación con los principios activos y excipientes de la vacuna Hexaxim.

Los volúmenes de soluciones/suspensiones simuladas introducidos corresponden a los de los principios activos y excipientes introducidos durante el proceso de elaboración.

La homogeneidad del producto durante el paso de mezcla se estudió midiendo la densidad óptica a 650 nm de un elemento marcador (suspensión de gel de hidróxido de aluminio) en varias muestras tomadas, durante el paso de mezcla, en varios lugares del tanque. Se llevó a cabo una comparación de los resultados de densidad óptica con un intervalo de variabilidad común calculado teniendo en cuenta la variabilidad del método.

Si los resultados de la densidad óptica no se hallan dentro del intervalo de variabilidad común calculado antes de la agitación (minuto 0), se confirma la heterogeneidad de la solución. Si los resultados de la densidad óptica se hallan dentro del intervalo de variabilidad común calculado después de la agitación, se demuestra que las soluciones elaboradas son homogéneas.

- Lotes empleados para el estudio

Los lotes elaborados a la escala de 250 L con soluciones/suspensiones simuladas para este estudio de validación se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7: Lotes de solución/suspensión simulada

Número de lote	Fecha de elaboración	Etapas de elaboración simuladas
IND09030	01 sep 2009	- Preadsorción del antígeno de superficie de la hepatitis B en la suspensión de gel de hidróxido de aluminio. - Preparación del PFAG de Hexaxim.*
IND09031	02 sep 2009	Preadsorción del antígeno de superficie de la hepatitis B en la suspensión de gel de hidróxido de aluminio.
IND09032	02 sep 2009	Preadsorción del antígeno de superficie de la hepatitis B en la suspensión de gel de hidróxido de aluminio.

\* Siguiendo el diseño experimental, se determinaron los parámetros del proceso para la homogeneidad de la vacuna mediante simulación por ordenador (estudio realizado con un programa informático para determinar la velocidad y duración de la agitación a fin de garantizar una homogeneización completa). Se preparó después un lote para confirmar la homogeneidad de la vacuna con estos parámetros.

