

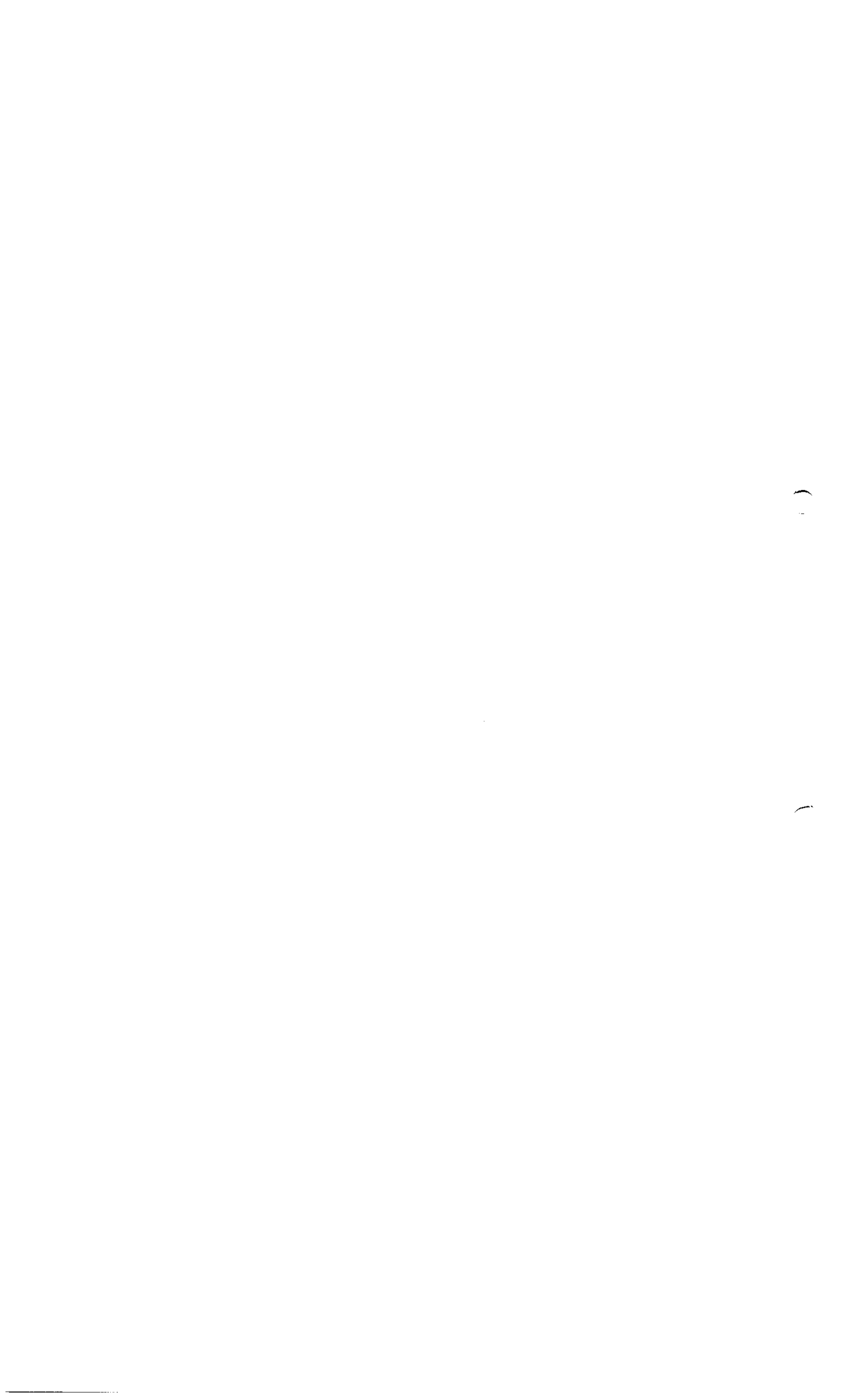


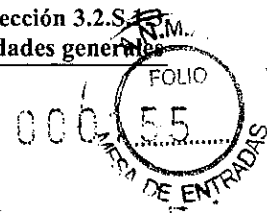
3.2.S.1.3

Información General - FHA PTxd


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.1.3 Propiedades generales

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

1 Descripción general

La tos ferina, también conocida como tos convulsa, es una infección respiratoria causada por las bacterias *Bordetella pertussis* o *Bordetella parapertussis* (pequeños cocobacilos aerobios gram negativos). La enfermedad es muy contagiosa y provoca tos incontrolable y violenta.

El principio activo de la vacuna contra la tos ferina, acelular, de dos componentes, está constituido por dos proteínas antigénicas:


- Toxoide pertúsico purificado adsorbido (PTxd);
- Hemaglutinina filamentosa purificada adsorbida (FHA).


El toxoide pertúsico purificado adsorbido (PTxd) se obtiene mediante la detoxificación y purificación de la toxina pertúsica (PTx), una exotoxina a base de proteínas tipo AB₅ liberada por la *Bordetella pertussis* en una forma inactiva. Cuando la subunidad B se une a un receptor de la membrana celular, la subunidad A se activa y cataliza la ribosilación del ADP de las subunidades α de las proteínas G heterotriméricas reguladoras del nucleótido guanina. Esto evita que las proteínas G interactúen con los receptores de la membrana celular, interfiriendo así en la comunicación intracelular. Los anticuerpos contra los componentes de la PTx evitan que las bacterias colonicen las células ciliadas y brindan una protección eficaz contra la infección.

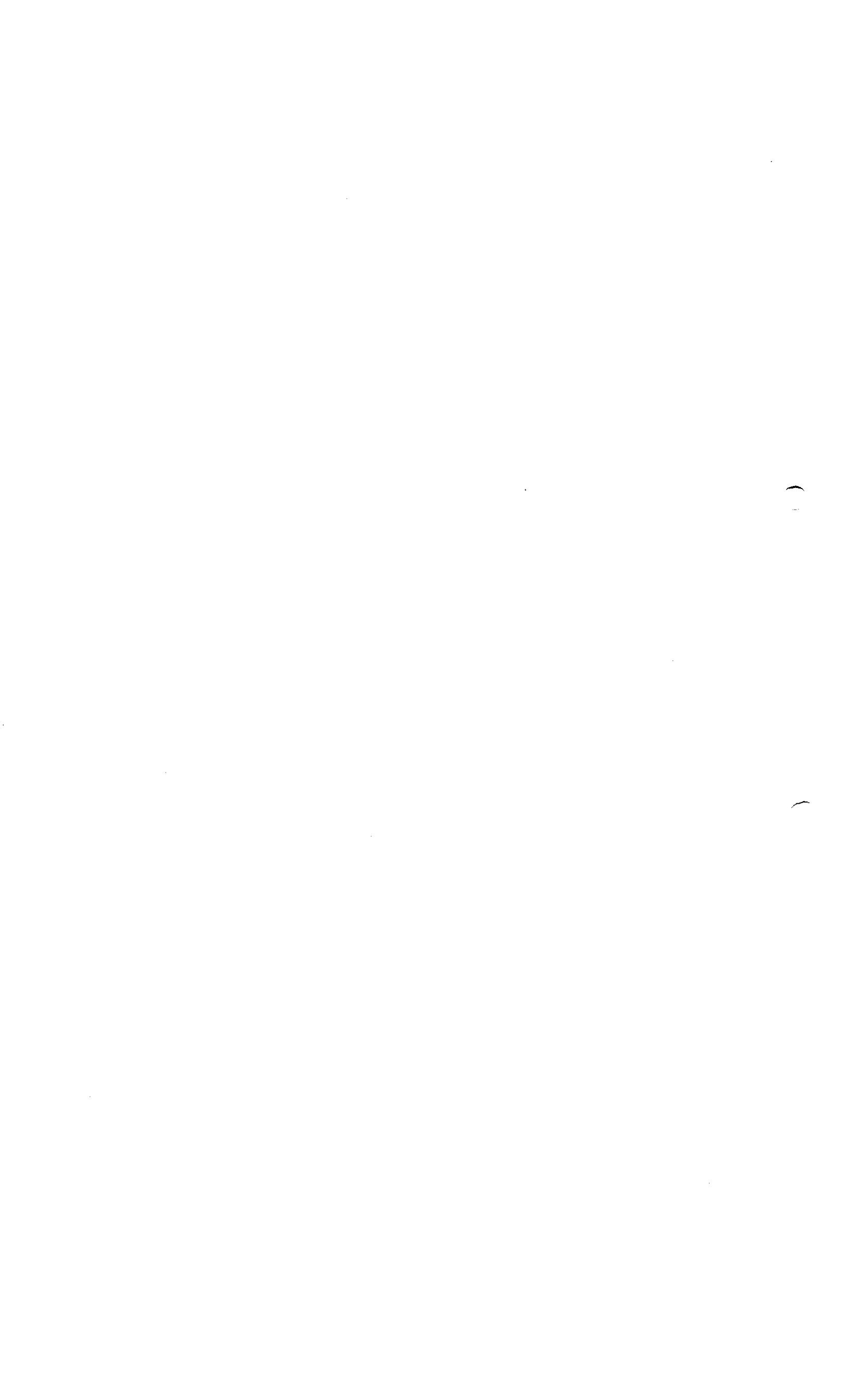
La hemaglutinina filamentosa o FHA es uno de los factores de virulencia de la *Bordetella* mejor caracterizados. Es una proteína muy inmunogénica, larga y con forma de bastoncillo, asociada a la superficie y secretada por la misma. La FHA media la adhesión de las células epiteliales y se ha demostrado que se une directamente con los glucoesfingolípidos de la membrana ciliar. La FHA puede modular la inmunidad del huésped al influir sobre la expresión de las citocinas proinflamatorias en las células epiteliales y en los macrófagos. Los experimentos *in vivo* han demostrado que la FHA es absolutamente necesaria para la colonización traqueal. Los anticuerpos contra la FHA brindan protección contra la infección.

1.1 Propiedades fisicoquímicas

- La identidad de la toxina pertúsica y de la hemaglutinina filamentosa se evalúa mediante el análisis del perfil de electroforesis de la proteína purificada después de la migración en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). Los resultados obtenidos deberían estar dentro del intervalo de valores para los lotes de vacunas que demostraron su eficacia en estudios clínicos.
- Se pueden utilizar otras técnicas para caracterizar las propiedades fisicoquímicas de los antígenos. Estos métodos se basan en el análisis del peso molecular (por ej., mediante


ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





espectrometría de masas) o en el análisis de la conformación proteica (por ej., mediante calorimetría de barrido diferencial).

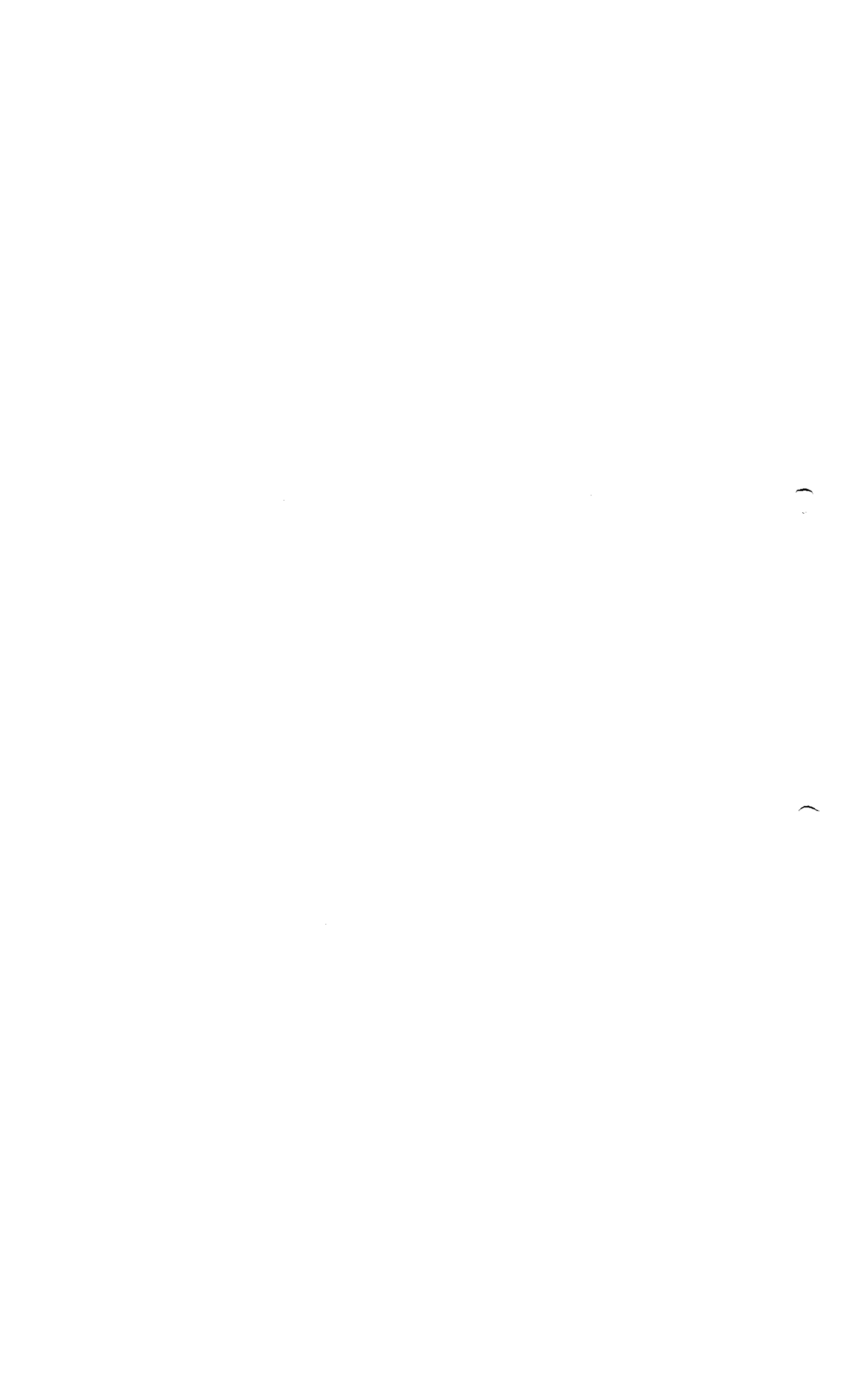
- La eficacia de la detoxificación de la toxina pertúsica se evalúa mediante el análisis de la toxina pertúsica residual (mediante la prueba de células de ovario de hámster chino [CHO], por ejemplo) y la irreversibilidad del toxoide pertúsico (mediante una prueba de sensibilización a la histamina, por ejemplo). Estas pruebas se llevan a cabo como pruebas de control de calidad durante el proceso de elaboración.

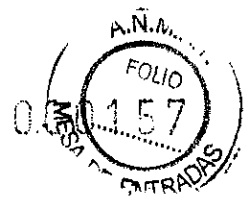
1.2 Propiedades biológicas

- Las propiedades biológicas de la toxina pertúsica purificada nativa y de la hemaglutinina filamentosa purificada nativa se caracterizan mediante los siguientes métodos *in vitro*:
 - Detección de la actividad citopática de la proteína purificada mediante el análisis de la actividad de agrupamiento en las células CHO:
 - Para la toxina pertúsica purificada nativa, la actividad citopática de la proteína evaluada se compara con la de una toxina de referencia.
 - Para la hemaglutinina filamentosa purificada nativa, no se debe observar actividad citopática.
 - Actividad de hemaglutinación. La FHA es conocida por su capacidad para aglutinar los eritrocitos de diferentes especies. Además, la FHA es de cinco a siete veces más activa en los ensayos de hemaglutinación que la toxina pertúsica. Además, la actividad hemaglutinante de la FHA, pero no la de la toxina pertúsica, se suprime en presencia de niveles bajos de colesterol. Luego, la identidad de la toxina pertúsica y de la FHA se puede confirmar mediante el ensayo de hemaglutinación en ausencia de colesterol.
 - La antigenicidad se evalúa mediante el método ELISA y permite la caracterización cuantitativa del toxoide pertúsico purificado en solución o de la FHA purificada en solución mediante el reconocimiento antígeno-anticuerpo. La actividad específica expresada en UE/mg de proteína se compara con la actividad de un lote de referencia.

1.3 Propiedades inmunológicas


- La identidad de la toxina pertúsica y de la hemaglutinina filamentosa también se puede evaluar mediante un método inmunológico basado en el reconocimiento antígeno-anticuerpo.
- Las propiedades inmunológicas del toxoide pertúsico purificado adsorbido y de la FHA purificada adsorbida se evalúan mediante el análisis de las siguientes características:
 - La identidad de los antígenos se verifica mediante un método inmunológico basado en el reconocimiento antígeno-anticuerpo;
 - La prueba de actividad biológica (potencia) de los antígenos se lleva a cabo en el producto final a granel (es decir, después de mezclar los componentes pertúsicos acelulares con los demás componentes de la vacuna). Esto se evalúa mediante una prueba de inmunogenicidad *in vivo* y los resultados se comparan con los de una vacuna de referencia.




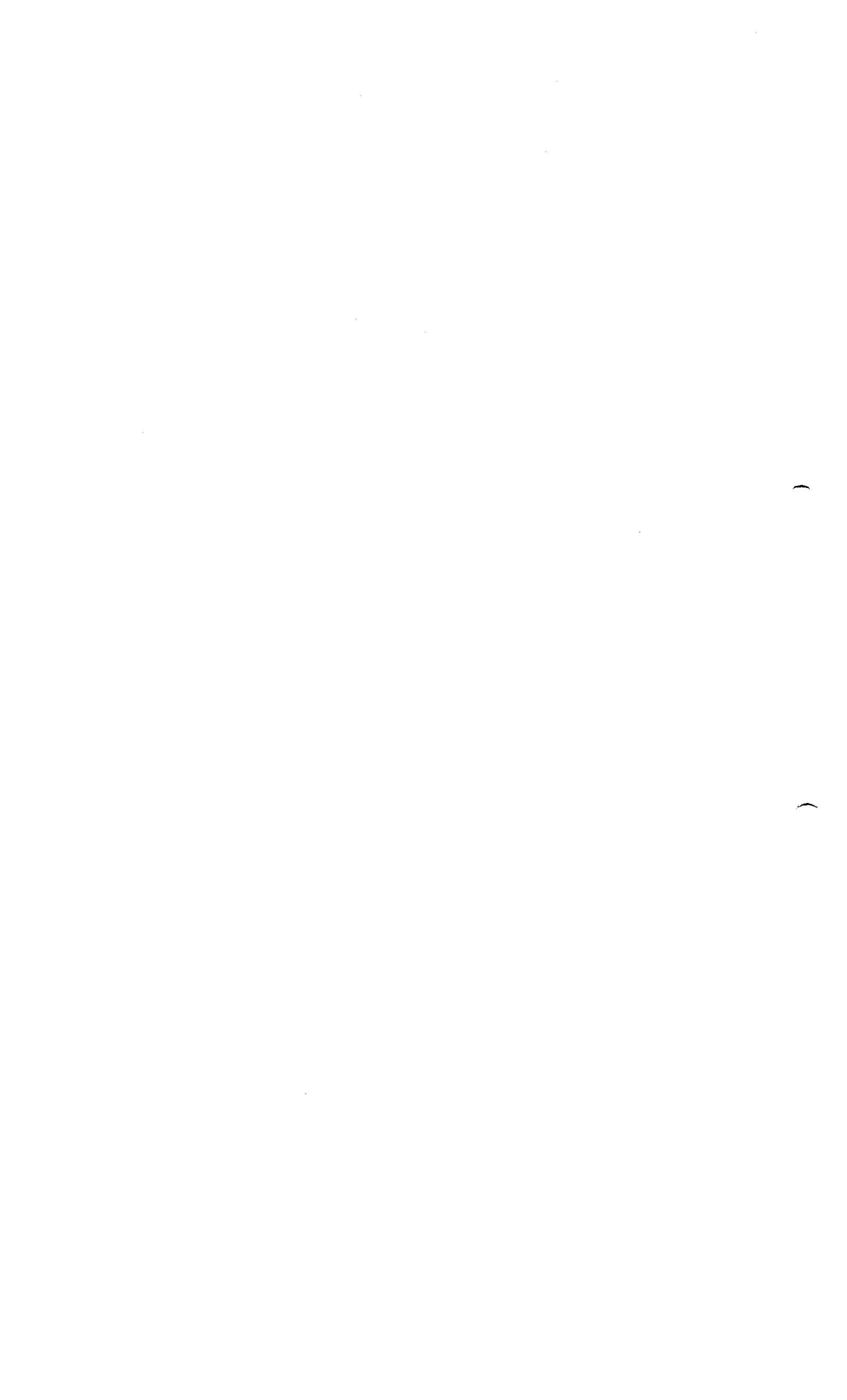


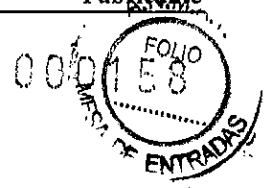
3.2.S.2.1

Fabricante(s) - FHA PTxd


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





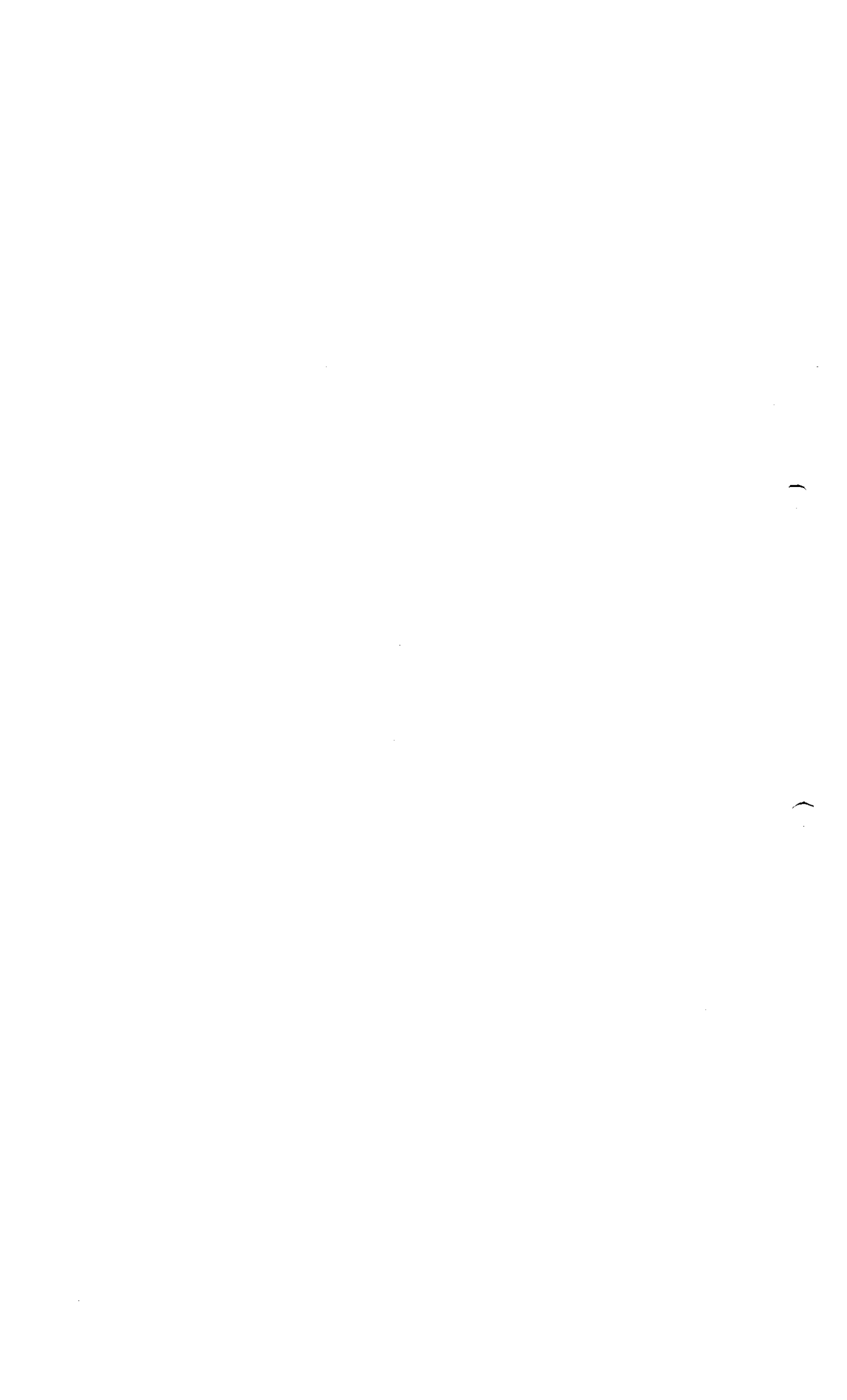
Sección 3.2.S.2.1 Fabricante(s)

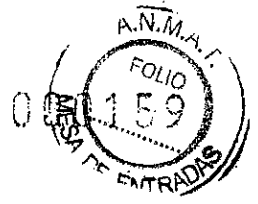
Lista de abreviaturas: vea 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

1 Nombre y dirección del fabricante

Dirección de la planta de elaboración y pruebas:

Sanofi pasteur
1541 avenue Marcel Mérieux
69280 – Marcy l'Etoile – Francia



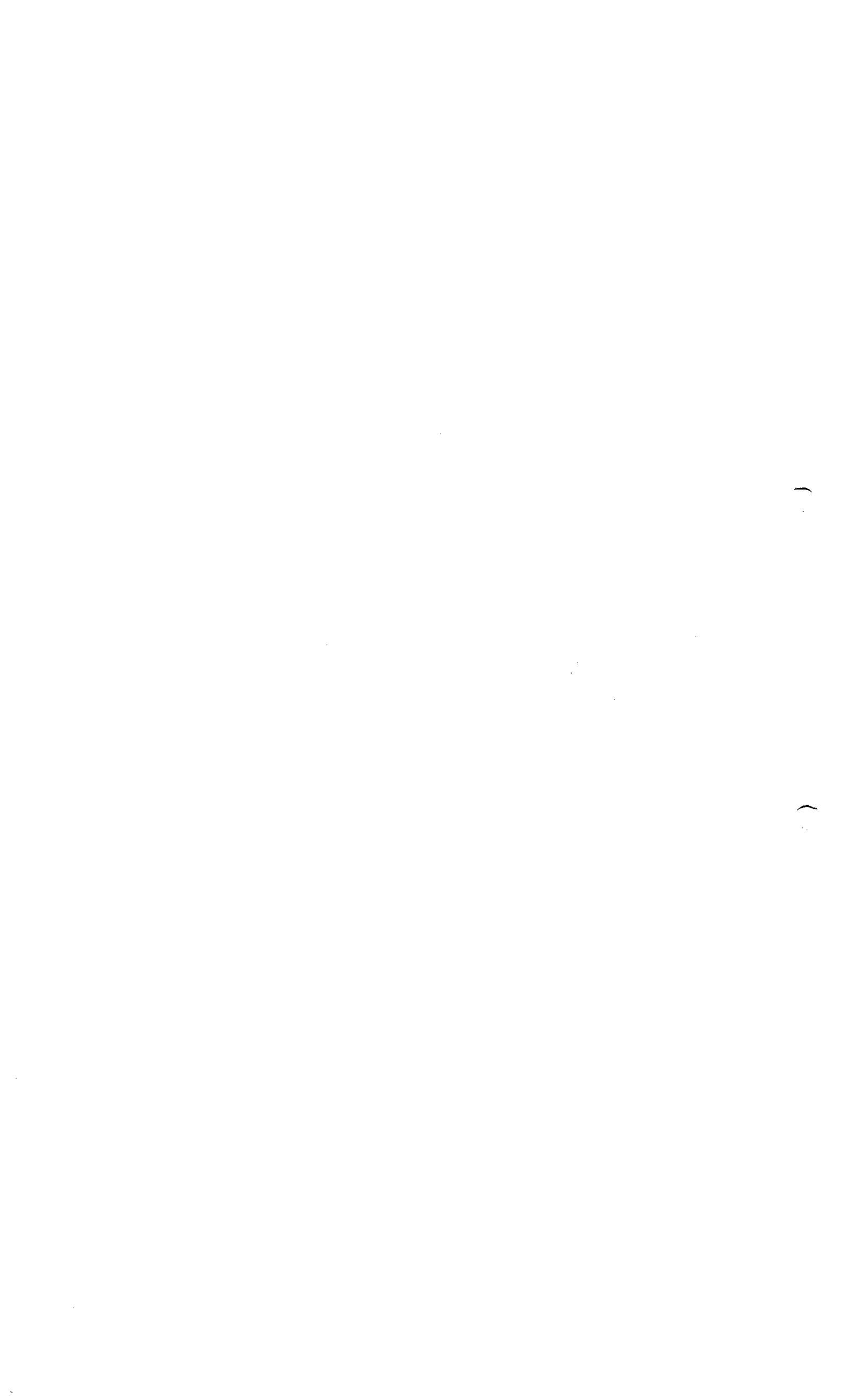


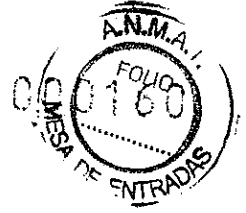
3.2.S.1.1

Nomenclatura - IPV


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

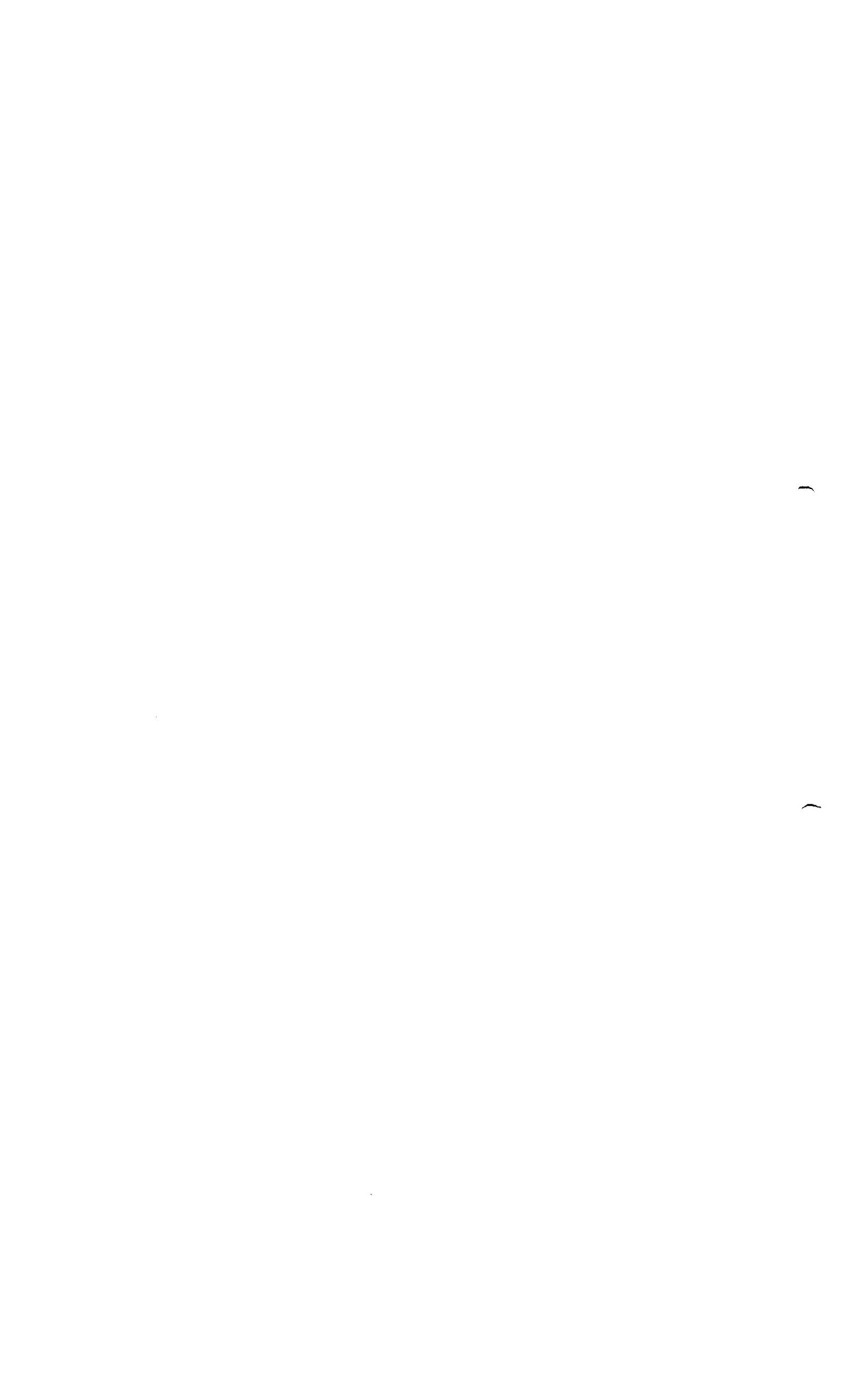


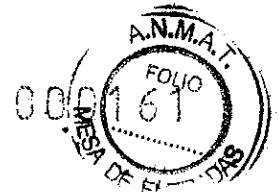


Sección 3.2.S.1.1 Nomenclatura

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

- Nombre internacional: *Vaccinum poliomyelitidis inactivatum*.
- Nombre en la Farmacopea Europea:
Agrupación trivalente de cosechas monovalentes inactivada, monografía n.º 0214, Vacuna antipoliomielítica (inactivada).
- Nombre de la Organización Mundial de la Salud (OMS):
 - Vacuna antipoliomielítica trivalente inactivada / granel trivalente, Recomendaciones para la producción y el control de la vacuna antipoliomielítica (inactivada) (TRS n.º 910, Anexo 2, 2002).
 - “Directrices para la producción segura y el control de calidad de la vacuna antipoliomielítica inactivada a partir de poliovirus de tipo salvaje” adenda, 2003, de las Recomendaciones para la producción y el control de calidad de la vacuna antipoliomielítica (inactivada) (TRS n.º 926, 2004).
- Nombres internos de la compañía (que se utilizarán en el CTD):
 - Concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado.
 - Vacuna antipoliomielítica trivalente inactivada en células Vero a granel.
 - Trivalente concentrado



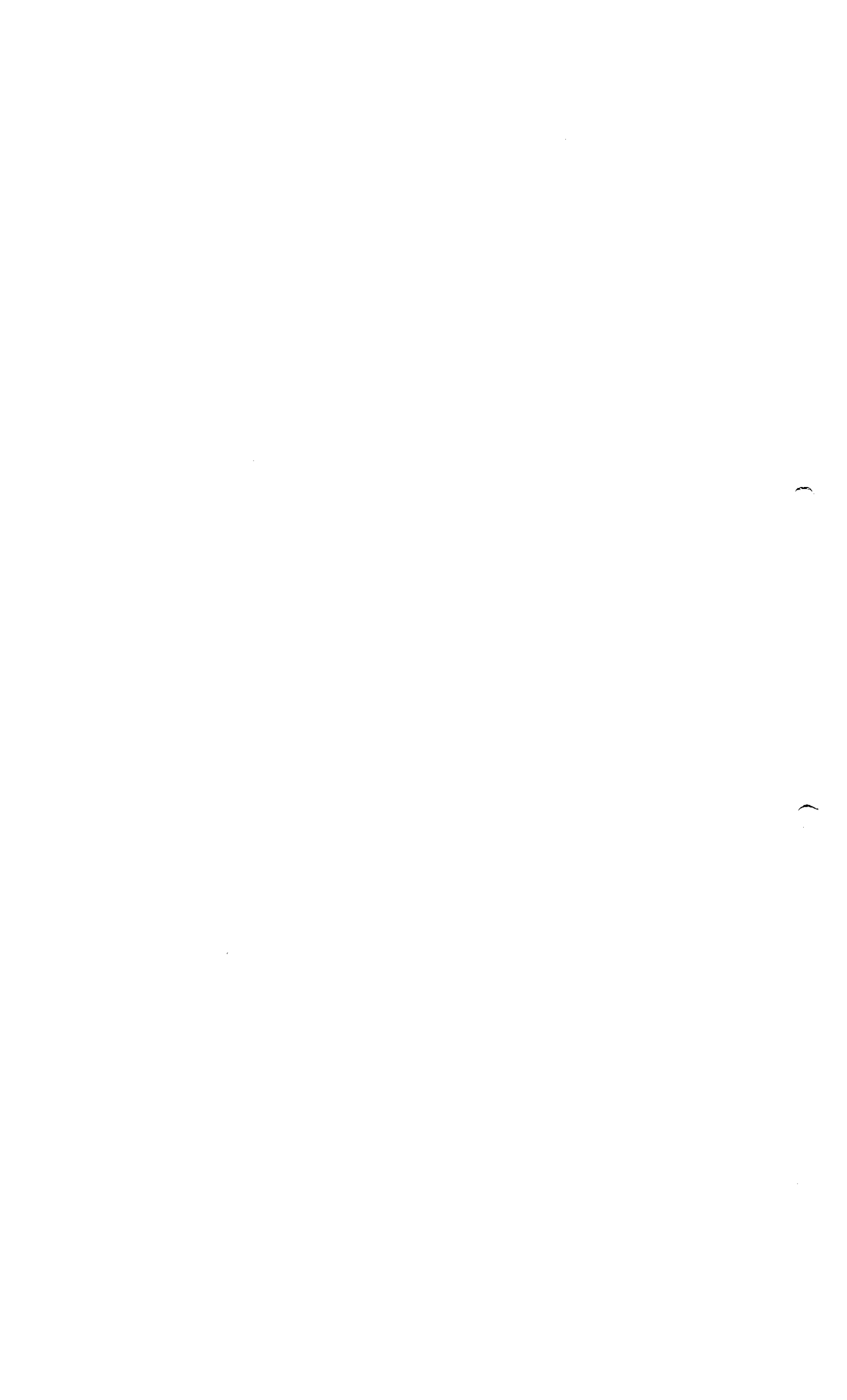


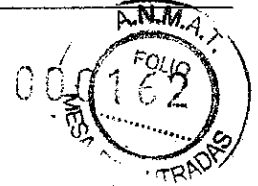
3.2.S.1.2

Estructura - IPV


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.1.2 Estructura

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

El poliovirus es miembro de una gran familia de virus pequeños sin envoltura llamados Picornavirus, pertenecientes al subgrupo C de enterovirus humanos. El hombre es su único anfitrión natural pero puede infectar células con origen en primates.

El virus de la poliomiелitis comprende tres serotipos (1, 2 y 3) que son antigénicamente diferentes.

El poliovirus se replica principalmente en el tracto gastrointestinal, extendiéndose ocasionalmente desde allí a otros tejidos del organismo humano. El poliovirus puede invadir después el sistema nervioso central y provocar parálisis y la muerte.

El virus se puede cultivar para obtener una vacuna en células primarias de riñón de mono, células diploides humanas o en una línea celular continua de mono.

La replicación se produce enteramente en el citoplasma celular. Tras su fijación a la membrana celular y la pérdida de la cobertura, el ARN viral se traduce para general proteínas virales replicadas. El ensamblaje de los viriones tiene lugar en el citoplasma y los nuevos viriones se liberan por lisis celular.

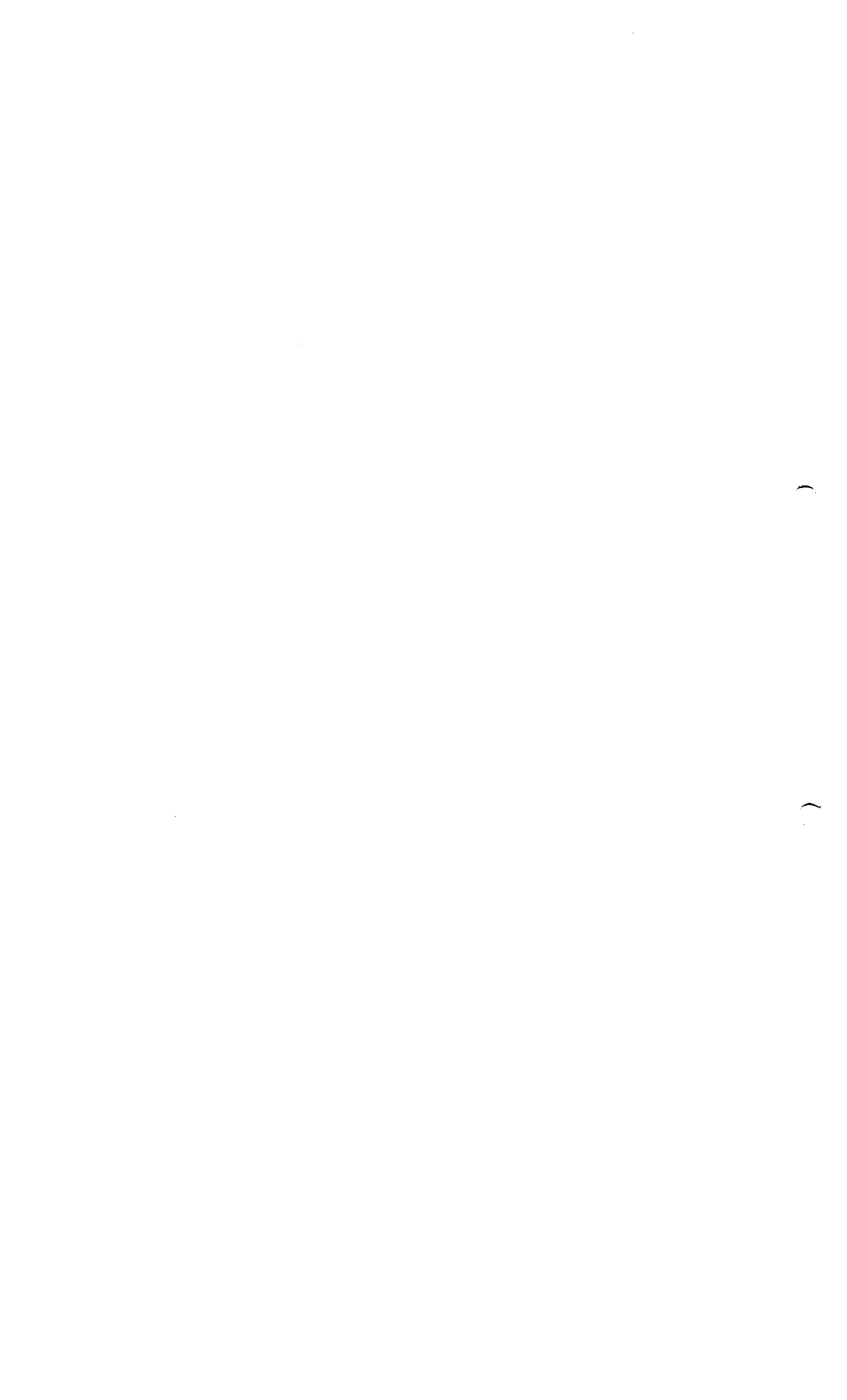
Los tres serotipos del poliovirus se clasifican en función de la capacidad de los sueros inmunes o de los anticuerpos monoclonales para neutralizar la infectividad viral.

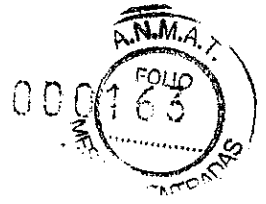
El poliovirus es notablemente estable frente a disolventes, detergentes y condiciones ácidas.

El virión está formado por:

- Una cadena única de ARN positivo de unas 7,5 kb, poliadenilada en el extremo 3' y unida de forma covalente a una proteína pequeña en el extremo 5', que contiene la información genética. El genoma del poliovirus corresponde al 20 % - 25 % de los componentes virales.
- La cápside del poliovirus tiene simetría icosaédrica y consta de 60 protómeros asimétricos idénticos. Cada protómero consta de una sola copia de cada una de las tres proteínas no idénticas de la cápside, VP1, VP2 y VP3. La proteína más pequeña de la cápside, VP4, está situada en la superficie interior del virión.
- Múltiples copias de las proteínas no estructurales VP1 y VP4, y una o dos copias de VP0, el precursor no escindido de VP4 y VP2.



El virus de la poliomiелitis es uno de los virus de ARN más pequeños, pues mide unos 28 nm de diámetro.

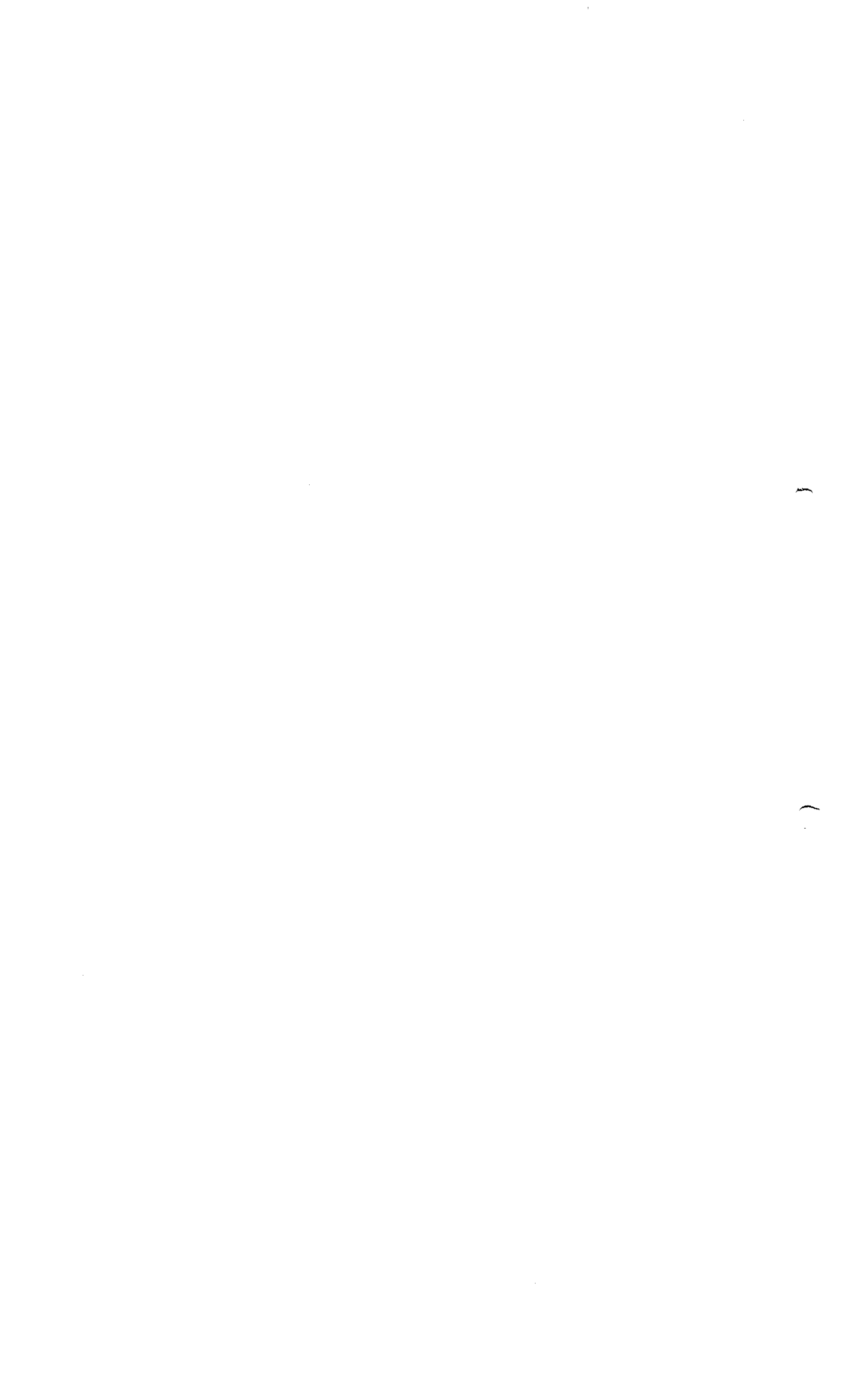




3.2.S.1.3

Información General - IPV

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

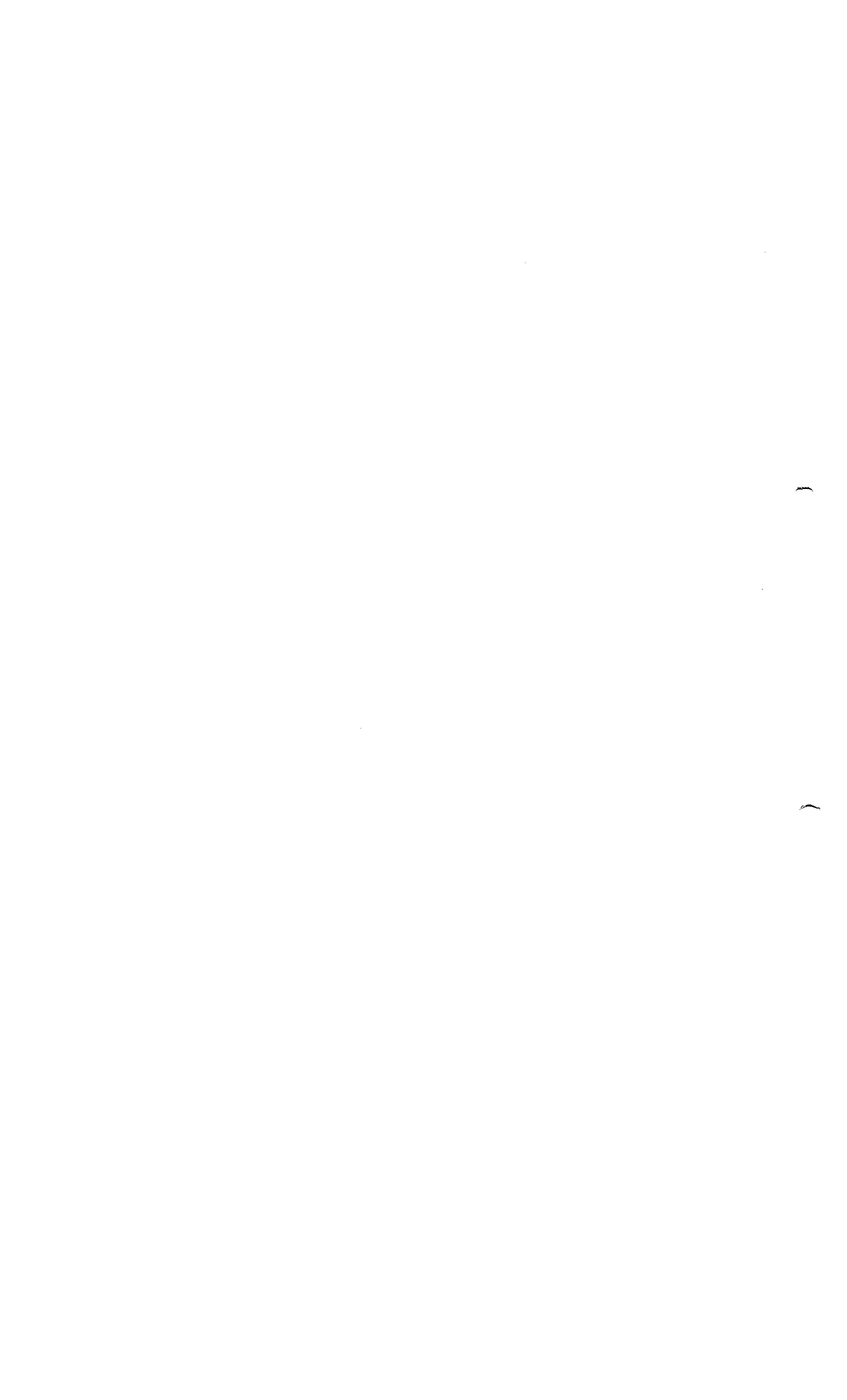




Sección 3.2.S.1.3 Propiedades generales

Índice

1	Introducción.....	2
2	Propiedades fisicoquímicas.....	2
3	Propiedades biológicas.....	2





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

1 Introducción

La poliomielitis es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa causada por tres tipos de poliovirus llamados tipos 1, 2 y 3. Poco después de la infección se pueden recuperar partículas virales de la garganta y de las heces. Posteriormente, el poliovirus invade el tejido linfático y penetra en el torrente circulatorio para infectar finalmente las células del sistema nervioso central. La multiplicación del virus dentro de las neuronas motoras en entornos como el cerebro destruye las células huésped y provoca parálisis.

2 Propiedades fisicoquímicas

El vaccinum poliomyelitidis inactivatum consta de una suspensión acuosa de poliovirus inactivados de los tipos 1, 2 y 3.

3 Propiedades biológicas

La adquisición de inmunidad a un serotipo no garantiza la protección contra la infección por los otros dos serotipos. Por este motivo, la vacuna contra el poliovirus está compuesta por una mezcla de poliovirus inactivados de los tipos 1, 2 y 3.

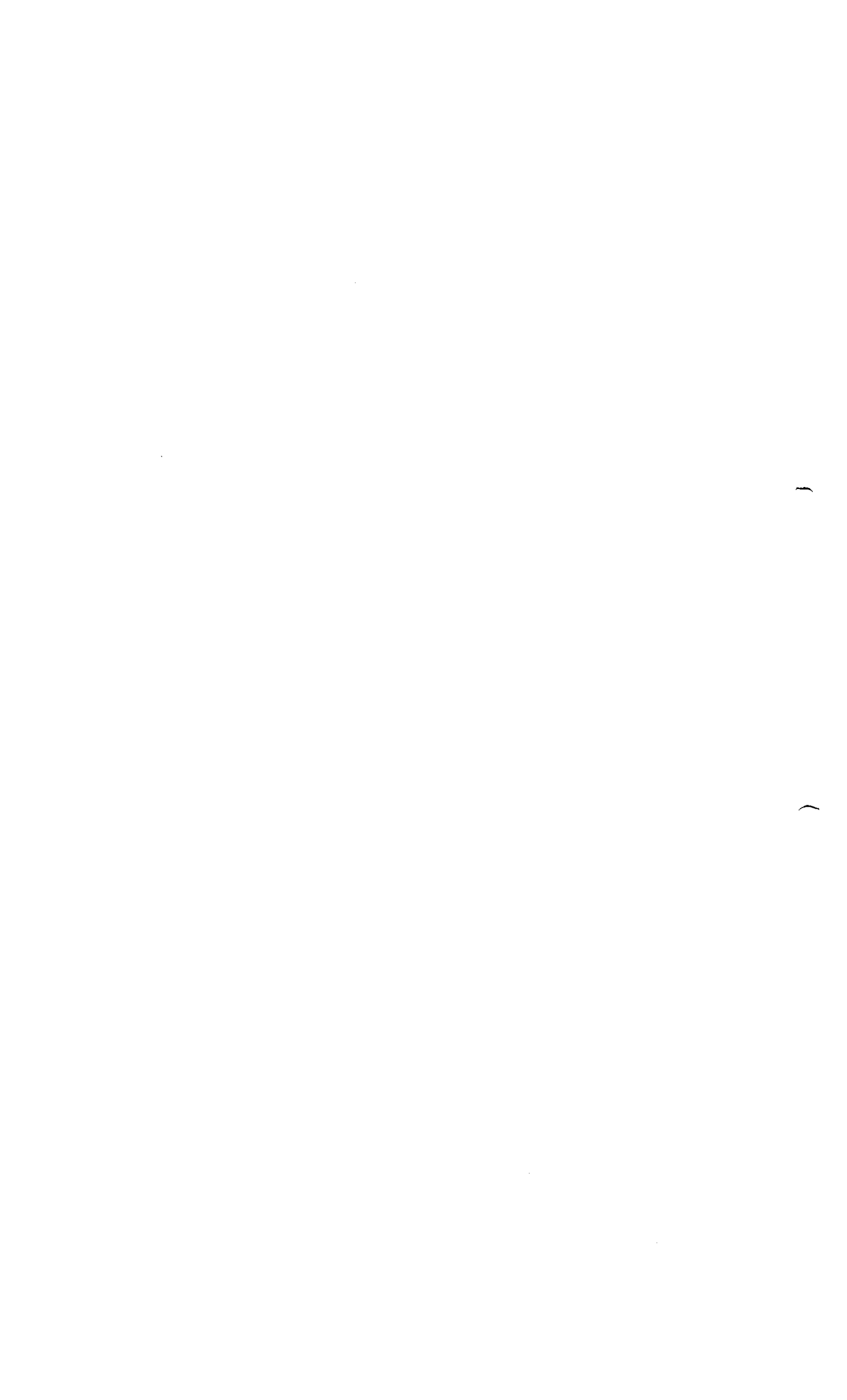
Es necesaria una combinación óptima de los tres serotipos de poliovirus para lograr una respuesta inmunitaria clínicamente protectora. La creación de una combinación óptima fue realizada por Salk *et al.* (Salk *J et al.*: Theoretical and practical considerations in the application of killed poliovirus vaccine for the control of paralytic poliomyelitis, Dev. Biol. Standard, 1981,47,181-98) mediante el análisis de estudios clínicos de todo el mundo. Los autores concluyeron que la vacuna contra el poliovirus debería contener 40, 8 y 32 unidades del antígeno D para los serotipos 1, 2 y 3, respectivamente, como se menciona también en las Recomendaciones para la producción y el control de la *vacuna antipoliomielítica inactivada* (TRS n.º 910, anexo 2, de la OMS, 2002).

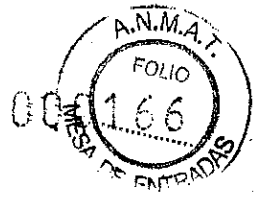
Los 3 tipos de virus se identifican por neutralización viral en cultivos celulares empleando anticuerpos específicos.

La potencia de inmunización de la vacuna antipoliomielítica puede analizarse mediante un ensayo *in vitro* del contenido antigénico y mediante un ensayo *in vivo* de la respuesta inmunitaria en animales.

El ensayo *in vitro* que ha resultado ser más adecuado para medir el contenido antigénico es el enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) del antígeno D.



Un ensayo *in vivo* adecuado consiste en la inyección intramuscular de la vacuna antipoliomielítica a pollos, cobayos o ratas seguida de la administración de anticuerpos específicos.

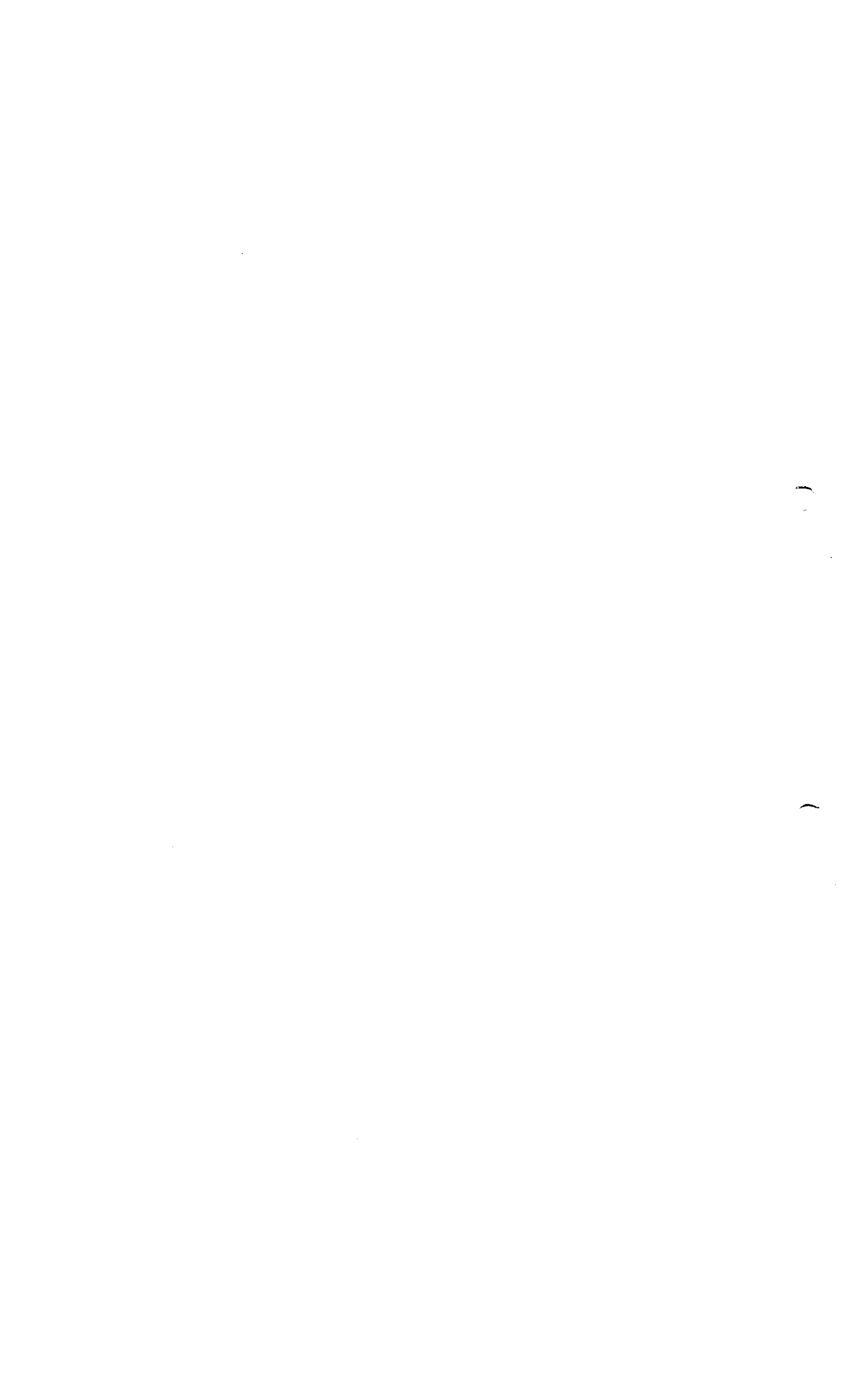


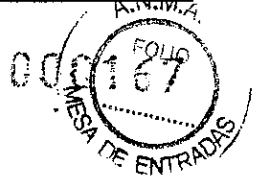


3.2.S.2.1

Fabricante(s) - IPV

 ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.	 CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------





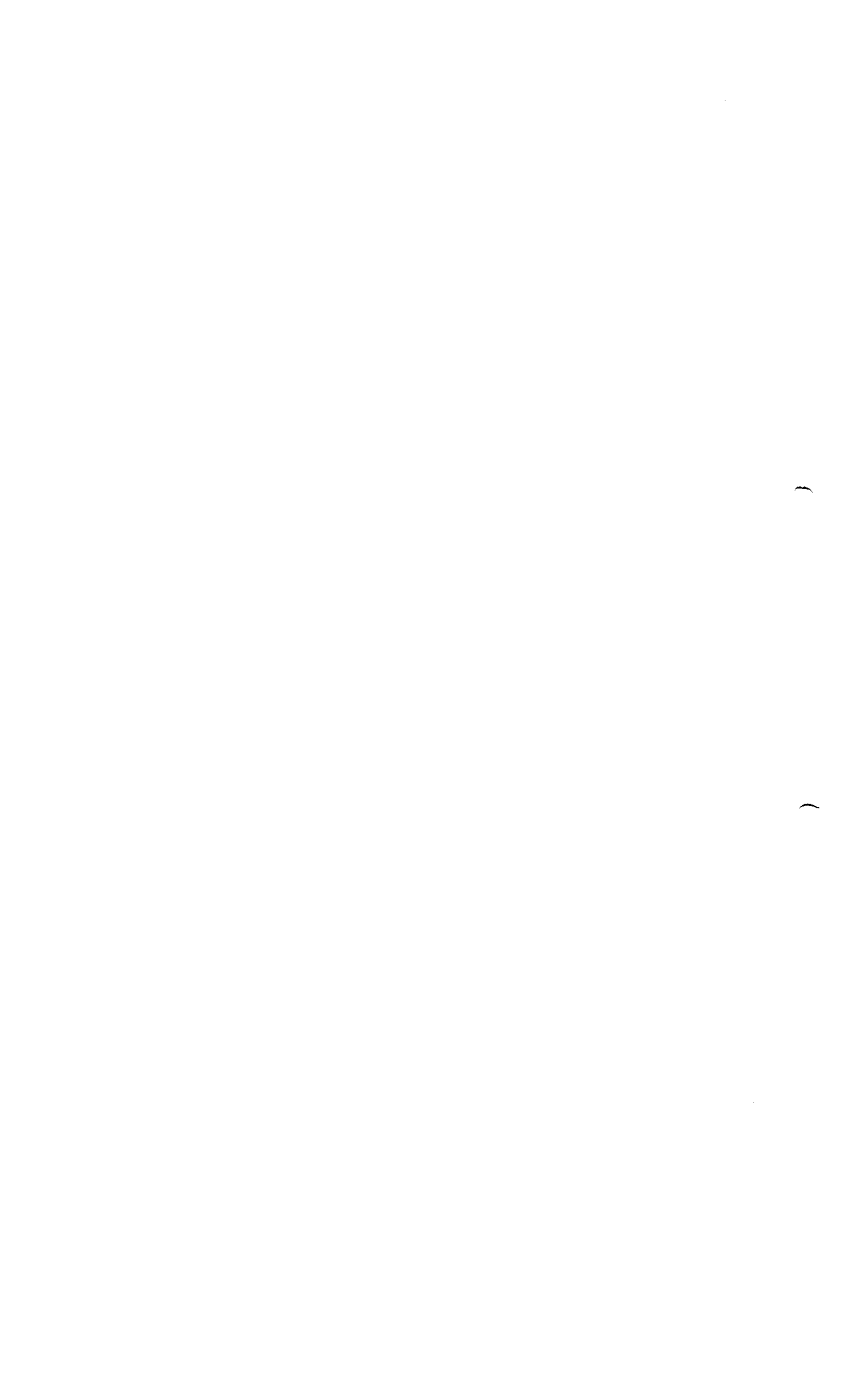
Sección 3.2.S.2.1 Fabricante

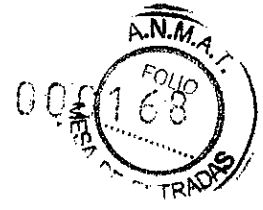
Lista de abreviaturas: consulte la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

1 Nombre y dirección del fabricante

Dirección de la planta de elaboración y pruebas:



Sanofi pasteur
1541, avenue Marcel Mérieux
69280 – Marcy l’Etoile – Francia

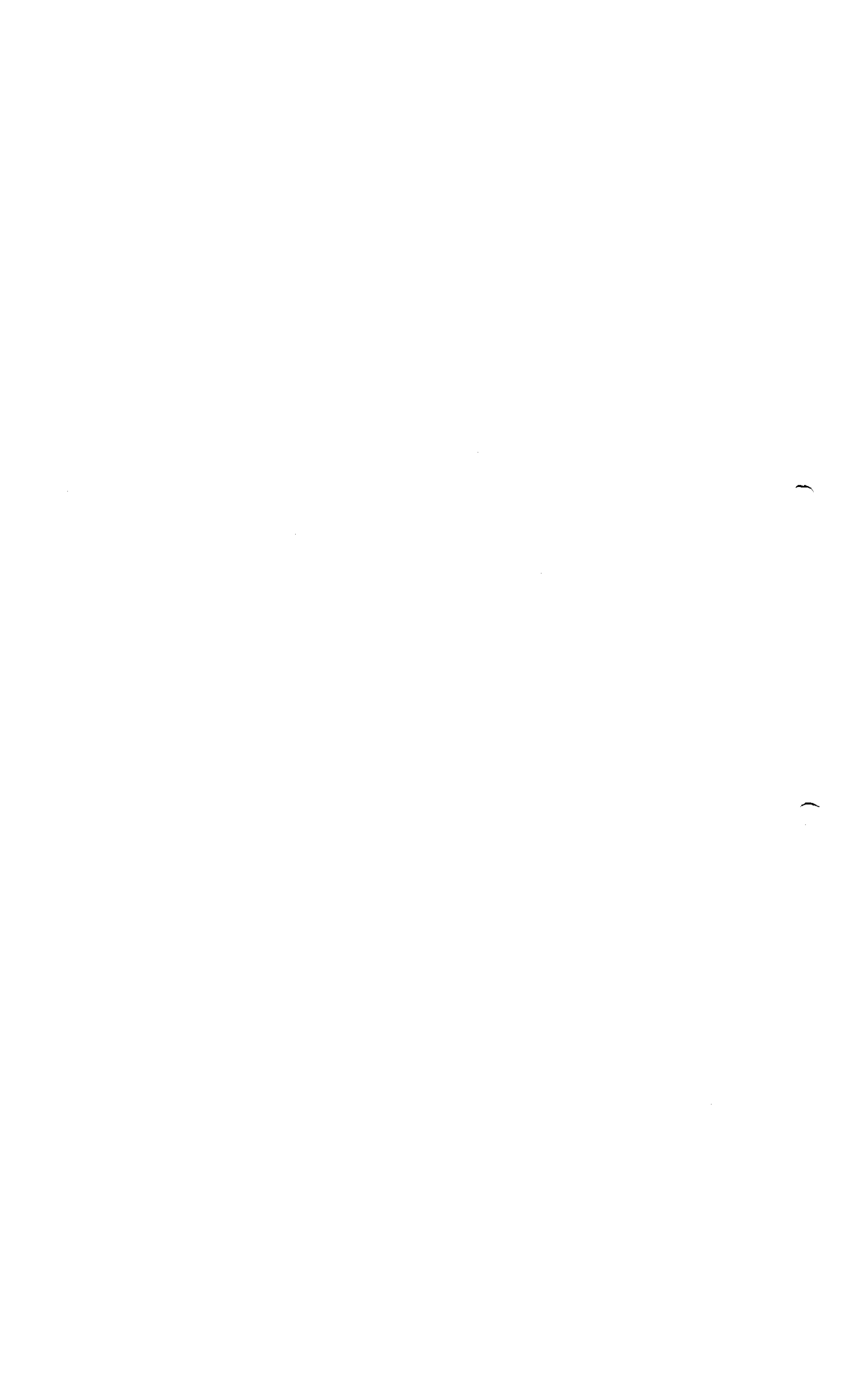


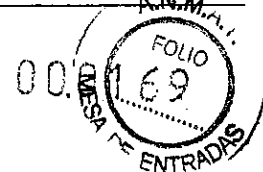


3.2.S.1.1

Nomenclatura - PRP-T

 ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.	 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

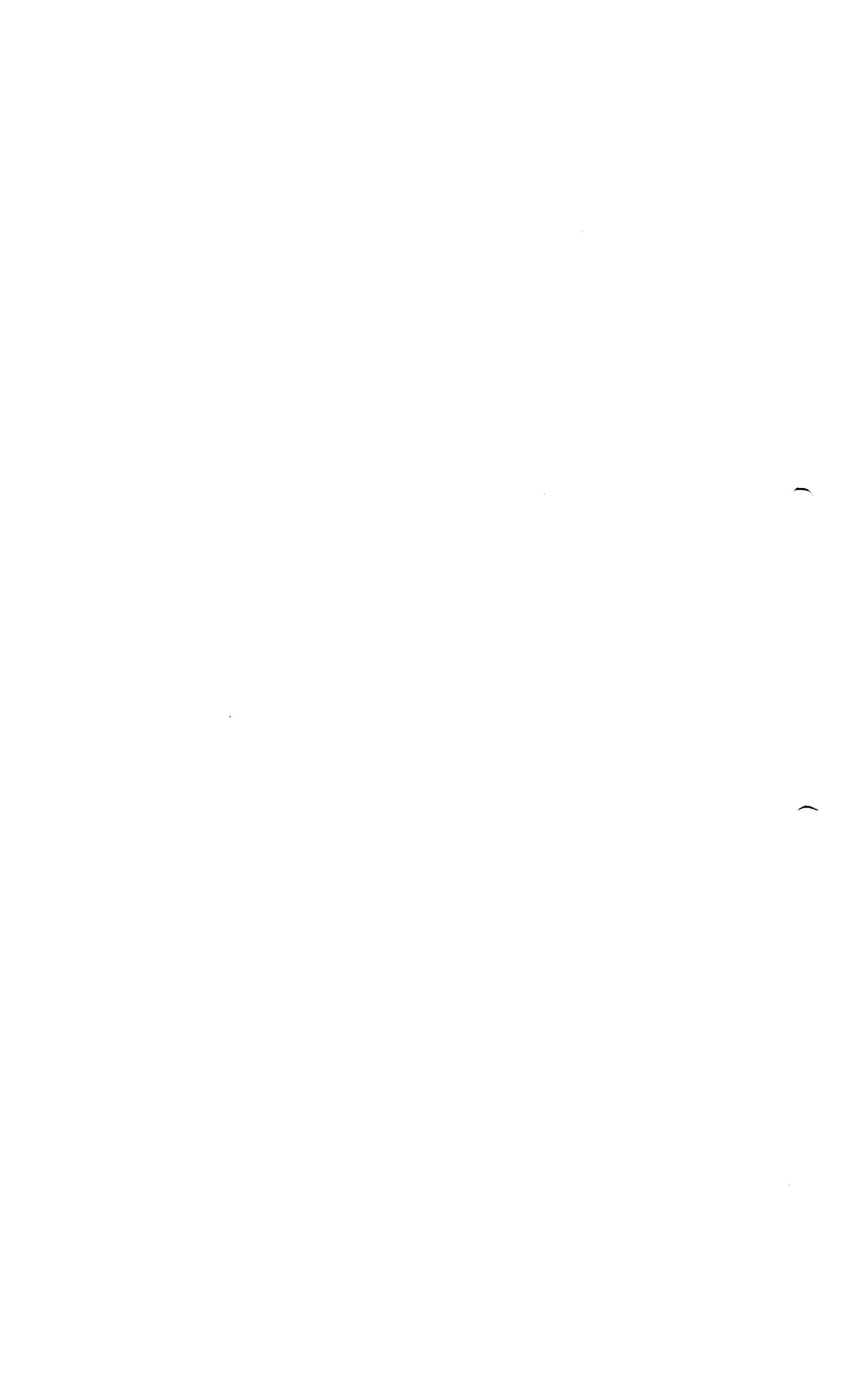


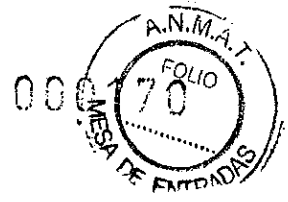


Sección 3.2.S.1.1 - Nomenclatura

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


- Nombre internacional: *Vaccinum haemophili stirpi b coniugatum*
- Nombre de la Farmacopea Europea:
Vacuna conjugada contra *Haemophilus* tipo b (monografía n.º 1219).
- Nombre de la Organización Mundial de la Salud (OMS):
Vacunas conjugadas contra *Haemophilus influenzae* tipo b (TRS n.º 897, 2000).
- Nombre interno de la compañía (que se utilizará en el CTD):
 - Polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b concentrado conjugado con proteína tetánica:
 - Granel de polisacáridos conjugados de *Haemophilus* b,
 - Fosfato de polirribosil ribitol conjugado con tétanos, abreviado PRP-T.




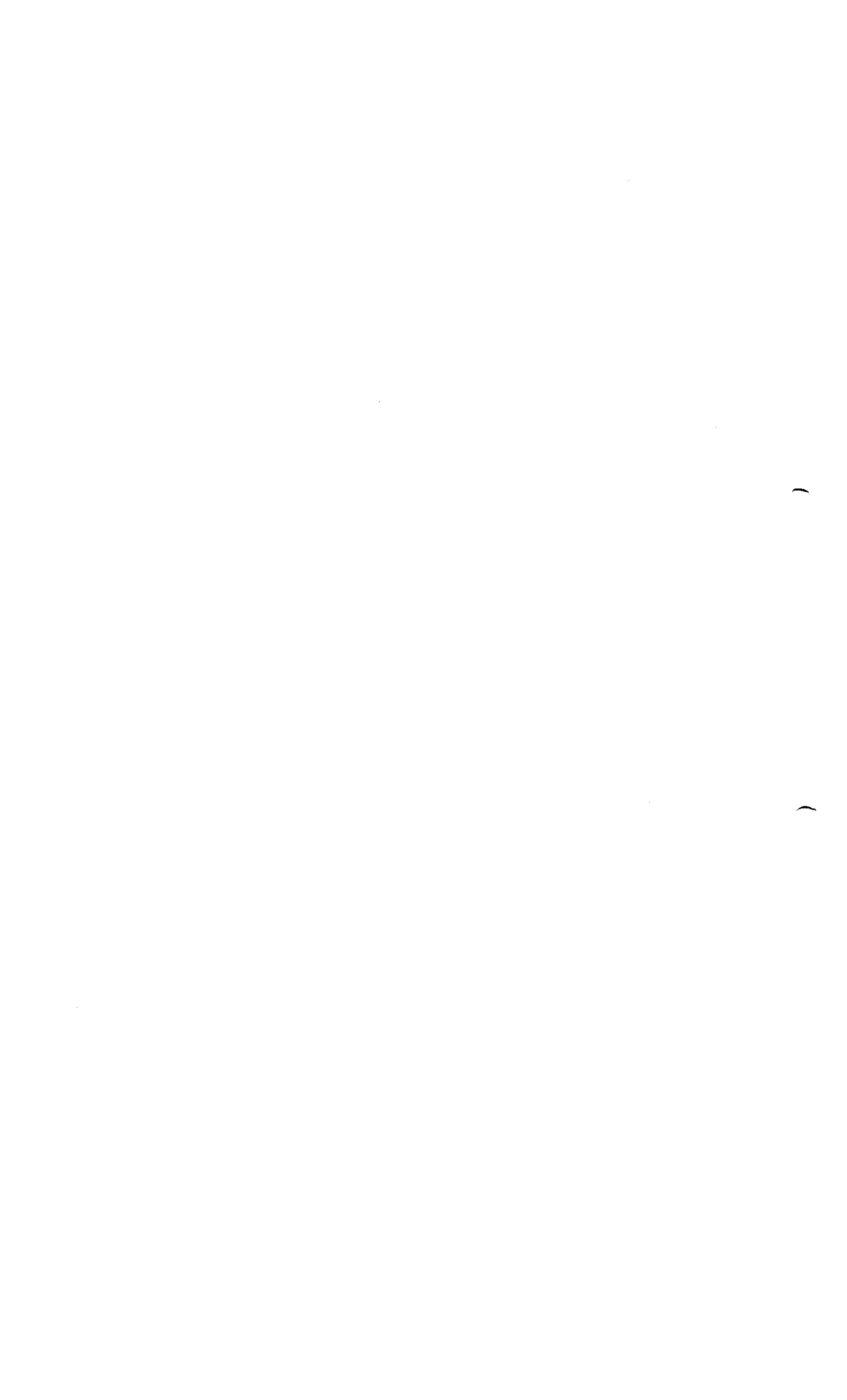


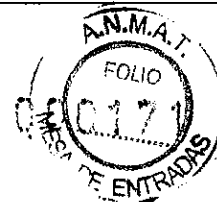
3.2.S.1.2

Estructura - PRP-T


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





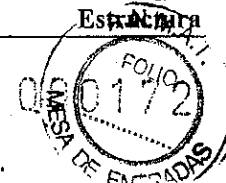
Sección 3.2.S.1.2 - Estructura

Lista de figuras

Figura 1: Estructura del polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b	2
Figura 2: Reacción de activación del polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b.....	3
Figura 3: Reacción de activación de la proteína tetánica purificada	3
Figura 4: Reacción de conjugación de la proteína tetánica activada con el polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b activado	4

(

)



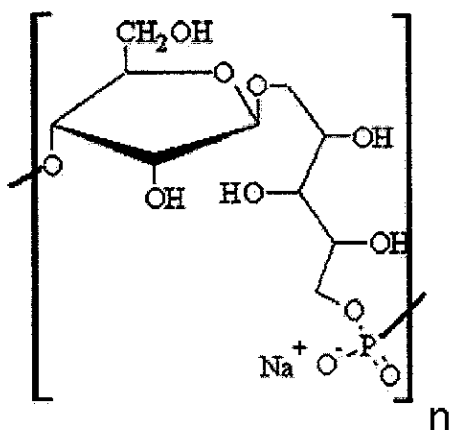
Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

El granel concentrado conjugado de polisacáridos de *Haemophilus* (abreviado PRP-T) es un conjugado del polisacárido fosfato de polirribosil ribitol elaborado a partir de la cepa 1482 de *Haemophilus influenzae* tipo b, unido por enlace covalente a una proteína transportadora, la proteína tetánica purificada y detoxificada (proteína tetánica purificada), obtenida a partir de la cepa de *Clostridium tetani*.

El polisacárido de *Haemophilus* tipo b y la proteína tetánica se elaboran, extraen y purifican por separado y se unen en enlace covalente durante la última etapa del proceso de elaboración.

El polisacárido o fosfato de polirribosil ribitol (abreviado, PRP), el principal componente de la cápsula exterior del *Haemophilus influenzae* tipo b, es un copolímero lineal con la siguiente fórmula: 3-β-D-ribofuranosil (1→1)-D-ribitol-5-fosfato [(C₁₀H₁₉O₁₂P)_n] (vea la figura 1).

Figura 1: Estructura del polisacárido de *Haemophilus* tipo b



El polisacárido no tiene ningún grupo carboxílico ni porciones de aldehído terminales para formar uniones covalentes con los grupos amino de una proteína transportadora. Por consiguiente, se utiliza bromuro de cianógeno para preparar un intermedio activado de PRP (vea la figura 2).

Al añadir dihidrazida del ácido adípico (ADH), como separador, al intermedio activado de PRP, se consigue PRP-hidrazida del ácido adípico activado (abreviado, PRP-AH), lo cual facilita la reacción de acoplamiento entre el PRP activado y la proteína transportadora, y proporciona una gran producción de producto conjugado (vea la figura 2).

