PUBLIC ASSESSMENT REPORT
FOR
HEXAXIM

Application No. 2C 90001/56 (NB)

Non-Proprietary Name or Common Name:

Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), hepatitis B (rDNA), poliomyelitis (inactivated) and Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine (adsorbed)

Assessment Report as adopted by the TFDA with
all information of a commercially confidential nature deleted

TABLE OF CONTENTS

1. BACKGROUND INFORMATION ON THE PROCEDURE.....

1.1 Submission of the dossier.....

1.2 Steps taken for the assessment of the product.....

2. SCIENTIFIC DISCUSSION.....

2.1 Introduction.....

2.2 Quality aspects.....

2.3 Non-clinical aspects.....

2.4 Clinical aspects.....

2.5 Pharmacovigilance.(If applicable).....

2.6 Overall conclusions, risk/benefit assessment and recommendation

1. BACKGROUND INFORMATION ON THE PROCEDURE

1.1 Submission of the dossier

ผู้รับอนุญาตบริษัท ซาโนฟี่ ปาสเตอร์ จำกัดได้ยื่นคำขอขึ้นทะเบียนตำรับยา HEXAXIM เมื่อวันที่ 18 ธ.ค. 55 และเจ้าหน้าที่ได้พิจารณาเอกสารประกอบคำขอและได้ออกเลขรับคำขอขึ้นทะเบียน เลขรับที่ 2C 90001/56 (NB) เมื่อวันที่ 6 มี.ค. 56

ผู้ผลิต Sanofi Pasteur S.A. Marcy I'Etoile, FRANCE

ข้อบ่งใช้ วัคซีนป้องกันโรคคอตีบ, บาดทะยัก, ไอกรน (ชนิดไร้เซลล์, component), ไวรัสตับอักเสบ บี (rDNA), โปลิโอ(ชนิดเชื้อตาย) และ Haemophilus influenza ชนิด บี คอนจูเกต(ชนิด adsorbed)

สูตรตัวยาสำคัญ 1 dose (0.5 ml)

- Diphtheria toxoid ≥20 IU(30Lf)
- Tetanus toxoid ≥40 IU(10Lf)
- Bordetella pertussis antigens: Pertussis toxoid 25 mcg
- Filamentous haemagglutinin 25 mcg
- Poliovirus (Inactivated)
  - Type1(Mahoney) 40 D antigen units
  - Type2(MEF-1) 8 D antigen units
  - Type3(Saukett) 32 D antigen units
- Hepatitis B Surface antigen 10 mcg
- Haemophilus influenza type b polysaccharide (polyribosylribitol phosphate) 12 mcg
  Conjugated to Tetanus protein (PRP-T) 22-36 mcg

เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบ TFDA Product Team Leader: (PTL)
ภก. ปราโมทย์ อัครภานนท์

ผู้เชี่ยวชาญ

- ด้านเคมีและเภสัชกรรม Quality:
  1. นาย อภิชัย ศุภสารสาธร
  2. รศ.ดร.ภญ. มณีวรรณ สุขสมทิพย์
- ด้านเภสัชวิทยาและพิษวิทยา Non Clinical
  1. รศ.ดร.โสภิต ธรรมอารี
  2. รศ.ดร.ภญ.นงลักษ์ สุขวาณิชศิลป์
- ด้านคลินิก Clinical

1. ศ.นพ.ประเสริฐ ทองเจริญ
2. รศ(พิเศษ) ทวี โชติพิทยสุนนท์

1.2 Steps taken for the assessment of the product

- ตรวจรับคำขอ 18 ธ.ค. 55 เจ้าหน้าที่ได้พิจารณาเอกสารและมี List of questions ให้แก่ผู้รับอนุญาต และ ผู้รับอนุญาตได้ส่งข้อมูลเพิ่มเติมตามความเห็นเจ้าหน้าที่เรียบร้อย
- ออกเลขรับคำขอ 6 มี.ค. 56
- เจ้าหน้าที่ส่งผู้เชี่ยวชาญภายนอกเพื่อพิจารณา เมื่อวันที่ 29 มี.ค. 56
- ผู้รับอนุญาตได้ส่งผลการตรวจวิเคราะห์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ สธ 0603/0366 ลงวันที่ 10 มี.ค.57 หมายเลขวิเคราะห์ที่ 03 56-000645 **ผลวิเคราะห์ผ่าน**
- การพิจารณาเอกสารประกอบการขึ้นทะเบียนพร้อมทั้งเอกสารเพิ่มเติม โดยเจ้าหน้าที่และผู้เชี่ยวชาญทั้งหมด มีความเห็นรับขึ้นทะเบียน

2. SCIENTIFIC DISCUSSION

2.1 Introduction

วัคซีนนี้ผลิตและขึ้นทะเบียนในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป ตาม Article 58 Regulation (EC) No. 726/2004 โดยมีแนวทางการพิจารณาและการให้ความเห็นเท่าเทียมกันกับผลิตภัณฑ์อื่นที่ขึ้นทะเบียนและจำหน่ายในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป

Hexaxim เป็นน้ำยาแขวนตะกอนสีขาว ขุ่น ปราศจากเชื้อ ขนาดบรรจุ กล่องกระดาษบรรจุ 1, 10 กระบอกฉีดแก้วใส ขนาด 0.5 ml (1 dose) ใช้ฉีดเข้ากล้าม (IM) ขนาด 1 dose ประกอบด้วย ท็อกซอยด์เชื้อคอตีบ ท็อกซอยด์เชื้อบาดทะยัก ท็อกซอยด์เชื้อไอกรน Filamentous Haemagglutinin แอนติเจนส่วนผิวของไวรัสตับอักเสบ บี เชื้อไวรัสโปลิโอ (ชนิดเชื้อตาย) และโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อ Haemophilus influenza type b ชนิด adsorbed คอนจูเกตกับโปรตีนบาดทะยัก ใช้ในเด็กทารกและเด็กวัยหัดเดินอายุตั้งแต่ 6 สัปดาห์ถึง 24 เดือน เป็นวัคซีนชุดแรกและกระตุ้นซ้ำ เก็บไว้ที่ 2–8 °C อายุยา 36 เดือน ห้ามแช่แข็ง

2.2 Quality aspects

Introduction

Hexaxim vaccine is a preservative free liquid formulation for intramuscular administration which combines aluminium hydroxide as adjuvant and six Drug Substances as follows:

- Purified Diphtheria Toxoid (PDT);
- Purified Tetanus Toxoid (PTT);
- 2-component acellular pertussis (aP; purified pertussis toxoid and purified filamentous haemagglutinin);
- Inactivated poliomyelitis trivalent concentrate (IPV);
- Hepatitis B surface antigen (HBsAg);

- Haemophilus influenzae type b (Hib) polysaccharide conjugated to tetanus protein.

The vaccine is presented in single-dose type I glass vials or syringes without needle.

Drug substance

Diphtheria

The Purified Diphtheria Toxoid (PDT) เป็น detoxified protein ซึ่งได้มาจาก Corynebacterium diphtheria ที่ผลิตโดยการ Fermentation และได้นำ toxin มาทำให้หมดพิษด้วย formaldehyde ได้ Crude Diphtheria Toxoid (CDT) แล้วถูกทำให้บริสุทธิ์ และทำ precipitation ด้วย ammonium sulphate ได้เป็น PDT

C. diphtheriae stain CN 2000 MSM III ที่นำมาผลิตนั้นมาจาก the University of Utrecht ในรูปแบบ freeze-dried ampoule หลังจาก verification ในเรื่อง Purity และ Identity แล้วทำการคัดเลือก colony เพื่อทำ Pre-MSL Seed Lot (MSL) และ Master Seed Lot แล้วขยายเป็น Intermediate Seed Lot, Working Seed Lot ตามลำดับ

Tetanus

The Purified Tetanus Toxoid (PTT) เป็น detoxified protein ซึ่งได้มาจาก Clostridium tetani Harvard 49205 strain ที่ผลิตโดยการ Fermentation และได้นำ toxin มาทำให้หมดพิษด้วย formaldehyde ได้ Crude Tetanus Toxoid (CDT) แล้วถูกทำให้บริสุทธิ์ และทำ precipitation ด้วย ammonium sulphate ได้เป็น PTT

Clostridium tetani Strain Y-IV-5A derived from the Hardvard Strain 49205, IM 1472C จาก the Risk Institute of Bilthoven (Netherlands) ในรูปแบบ freeze-dried ampoule หลังจาก verification ในเรื่อง Purity และ Identity แล้วขยายได้ Master Seed Lot, Working Seed Lot ตามลำดับ

Acellular Pertussis

Acellular pertussis drug substance ประกอบด้วย 2 component pertussis antigens คือ Adsorbed Purified Filamentous Haemagglutinin (FHA) Adsorbed Purified Pertussis Toxoid (PTxd) โดยแยกมาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ Bordetella pertussis phase I strain Pillemer 134 ผ่านกระบวนการ fermentation process แล้วถูกแยกให้บริสุทธิ์โดย adsorption chromatography และ affinity chromatography ซึ่ง Native Purified Pertussis Toxin (PT) ถูกทำให้หมดพิษด้วย glutaraldehyde แล้วทั้ง native purified FHA และ native purified PTxd จะถูกแยกไป adsorbed บน aluminum hydroxide

Bordetella pertussis phase I strain Pillemer 134 ได้รับจาก Dr. Preston, University of Manchester ในรูป Freeze dried แล้วทำการขยายเชื้อได้เป็น Final Pre-Master Seed จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงผ่าน Bordet Gengou medium ที่ผสมเลือดแกะ แล้วนำเชื้อไปเพาะในสมองของ SPF mice แล้วนำมาเพาะเลี้ยงใน Bordet Gengou medium ที่ผสมเลือดแกะอีกครั้งหนึ่งจึงนำไปทำแห้งไปเป็น Master Seed Lot หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงขยายได้เป็น Working Seed Lot

Hepatitis B

Cell Source

1. Hansenula polymorpha เป็น heterologous gene expression ซึ่งใช้ methanol as a sole energy และ carbon source ใช้ในการเจริญเติบโตโดย methanol เป็น non-repressible sugars เป็นตัวกระตุ้น enzymes สำหรับ methanol metabolism ได้แก่ MOX (methanol oxidase), DHAS (dihydroxyacetone synthase) และ FMDH (formate dehydrogenase) โดยมี gene URA3 auxotrophic mutant สำหรับ H. polymorpha (strain RB11 deficient in orotidine-5'-phosphate decarboxylase) ซึ่ง host cells จะผลิต HBsAg gene ออกมาโดย HBsAg gene จะถูก inserted ระหว่าง FMDH promoter และ MOX terminator ซึ่งไปกระตุ้นการ expression of HBsAg เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี methanol

2. The HBsAg gene ได้คัดแยกจาก serum ของผู้ป่วยที่ที่ติดเชื้อ Hepatitis B virus คัดแยกโดยวิธี PCR โดย gene coding for the HBsAg contains about 678 bp and the HBsAg is a 226 amino-acids antigen of the subtype adw2 (S adw2). การคัดแยก Purified HBsAg ที่ผลิตจาก H. polymorpha จะถูก identified โดยใช้ N-terminal 19 amino-acids in the protein with the deduced amino-acids sequence

Gene Insert and Plasmid Vector Sources

สำหรับ vector pFPMT121 จะ insert EcoRI/BamHI และ encoding gene HBsAg (subtype adw2) และ vector นี้จะเข้าไปยัง H. polymorpha จากนั้นจะมีการสร้าง vector pFPMTsadw2 ออกมา โดย Map of the Plasmid Vector pFPMTsadw2

The HBsAg expression vector:

The expression vector used for expression of the HBsAg gene is based on a pBR322 plasmid and contains the following elements:

- Standard E. coli pBR322 skeleton including E. coli origin of replication (ori);
- Amp resistance gene for selection in E. coli;
- Auxotrophic selective marker gene complementing the auxotrophic deficiency of the host (URA3 gene);
- H. polymorpha autonomously replicating sequence (HARS);
- An expression cassette containing the FMDH promoter (1200 bp) and the MOX terminator (about 300 bp) for insertion of the foreign genes

The vectors integrate into the host genome of Hansenula polymorpha in the form of head-to-tail multimeric structures.

Derivation, Genetic Manipulation, Passage and Cultivation History

HBsAg expression vector pFPMTsadw2 จะถูกเพิ่มจำนวนใน E. coli และทำการ purified plasmid DNA และนำมา transform กระตุ้นโดยใช้ heating shock ซึ่งถูก genetic manipulation และเซลล์จะเจริญใน selective medium ทำการคัดเลือกเซลล์ที่มีการ clones with the expression vector integrated into

the host genome แล้วนำมาเพิ่มจำนวนต่อเพื่อเป็น Pre-Master และเพียง 1 vial ที่จะถูกนำมาผลิตเป็น Master and working seed lots

IPV

Inactivated poliomyelitis vaccine ประกอบด้วย 3 subtypes ของ poliovirus ได้แก่

IPV type1: Mahoney strain

IPV type 2: MEF-1 strain

IPV type 3: Saukett strain. The poliovirus เป็น non-enveloped small viruses อยู่ใน Picornaviruses

Virus Seed Lot System

Virus strains ถูกเตรียมโดย RIJKS Institute voor de Volksgezonheid (Netherlands) โดยเลี้ยงใน cynomologous Primary Monkey Kidney Cells ซึ่งเป็น Original strains (SO) ได้แก่

Type 1: Mahoney (code 74/3 B3) ได้จาก Pitman Moore company

Type 2: MEF-1 (code 68/2 B3) ได้จาก Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark

Type 3: Saukett (code 74/2 B2) ได้จาก Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark

จากนั้น นำมาPassage ต่อ ใน Primary Monkey Kidney Cells (Erythrocebus patas) เพื่อเป็น Master Seed (MS) Lot เก็บที่ ≥-60°C แล้วนำ MS มาเพิ่มจำนวนอีก 1 ครั้งใน Primary Monkey Kidney Cells or Vero cells เพื่อเป็น Sub-Master Seed Lots และ Working Seed Lot

Cell Bank System

Vero continuous cell line cells ซึ่ง original cells ได้จาก kidney cells ของ African green monkey (Cercopithecus aethiops) Mérieux Institute ได้นำเซลล์มาเพิ่มจำนวนจนถึง passage no. 129th เพื่อเตรียมเป็น Master Cell Banks แบ่งออกเป็น Master cell bank A และ B โดยแบ่งตามการเติม Antibiotic ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ในระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวน Master cell bank A ถูกเลี้ยงใน media ที่เติม Antibiotic จากนั้นทำการ harvest cell และนำมา resuspend แล้วนำมาบรรจุใน sterile glass ampoules และเก็บที่ liquid nitrogen

Haemophilus influenza type b

Haemophilus influenza type b strain no. 1482 (IM 2164) ได้รับจาก Dr. R. Schnerson, US Public Health Service-National Institute of Health.

Master Seed Lot เก็บที่ 2 – 8 °C, Working Seed Lot: เตรียมจาก MSL resuspended in a sterile skim milk solution เก็บที่ 2 – 8 °C

Clostridium tetani strain Y-IV-5A มีต้นกำเนิดมาจาก Harvard Strain 49205, IM 1472C ซึ่งได้รับมาจาก Dr. TIES JEMA Rijks Institute of Bilthoven, Netherlands

Master Seed Lot เก็บที่ 2 – 8 °C, Working Seed Lot: เตรียมจาก MSL เลี้ยงใน thioglycolate-resazurin medium เก็บใน a sterile skim milk solution เก็บที่ 2 – 8 °C

Physicochemical properties

- Free carrier protein content <1% of the total protein content
- Depolymerized PRP content <20% of the total polysaccharide content
- Polysaccharide/protein ratio: 0.33 – 0.55
- Molecular size distribution: KD ≤ 0.37, Rh ≥ 30 nm, Mw ≥ 4.2 x 106 Da

Biological properties มีการทดสอบ irreversibility of tetanus protein เพื่อให้แน่ใจว่า PRP-T concentrate bulk มีความปลอดภัย ซึ่งมีการทดสอบใน CTP intermediate

Manufacturing Process of the Drug Substance(s)

Diphtheria: Sanofi Pasteur Marcy l'Etoile (MLE), 1541 Avenue Marcel Merieux 69280 Marcy l'Etoile, France

การผลิตโดยเริ่มนำ Lyophilized working seed lot มาผลิต คือ 1st Pre-culture, 2nd Pre-culture, 3rd Pre-culture, Industrial culture, Harvest, Formaldehyde Treatment (Detoxification), Filtration (Detoxification), Concentration, Diafiltration, Volume adjustment, Precipitation (First), Precipitation (Second), Dialysis of the precipitate และ Prefiltration, Stabilization, Filtration and Filling และเก็บที่ +5°C ± 3°C ได้ 36 เดือน

Tetanus: Sanofi Pasteur Marcy l'Etoile (MLE), 1541 Avenue Marcel Merieux 69280 Marcy l'Etoile, France

การผลิตโดยเริ่มนำ Lyophilized working seed มาผลิตคือ Inoculum preparation and subculture, 1st Pre-culture, 2nd Pre-culture, 3rd Pre-culture, Industrial culture, Cell lysis, Harvest, Treatment, Detoxification, Mixing, Concentration, Diafiltration, Volume adjustment, Precipitation (First), Precipitation (Second), Dialysis of the precipitate และ Prefiltration, Stabilization, Filtration and Filling รายละเอียดตาม 2.3.S.2 Manufacture (Tetanus) ใช้ Massachusetts medium ได้ PTT และเก็บที่ +5°C ± 3°C ได้ 36 เดือน

Acellular pertussis: Sanofi Pasteur Marcy l'Etoile (MLE), 1541 Avenue Marcel Merieux 69280 Marcy l'Etoile, France

การผลิตแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนหลักคือ

1. Fermentation and Component Fractionation ใช้ SS-SAT medium ประกอบด้วย

ขั้นตอน 1st Pre-culture, 2nd Pre-culture, 3rd Pre-culture, Industrial culture, Harvest, pH Adjustment และ Hydroxyapatite Adsorption

2. PT Purification, Detoxification and Adsorption, PT Purification, Detoxification and Adsorption ประกอบด้วยขั้นตอน Recovery of PT, pH Adjustment, ASF-4B Sepharose Adsorption, ASF-4B Sepharose Supernatant Elimination, ASF-4B Sepharose Washing and Contaminants Elution, PT Elution, Precipitation of PT, Solubilization of PT, Protein Content Adjustment, Detoxification, Diafiltration of PTxd, Sonication, Pre-Filtration of PTxd, Sterile Filtration of PTxd, Adsorption, Decantation

3. FHA Purification and Adsorption, FHA Purification and Adsorption ประกอบด้วยขั้นตอน Hydroxyapatile Washing and Contaminants Elution, Elution of FHA, Elution Pooling, Precipitation of FHA, Solubilization of FHA, Pre-filtration of FHA, Sterile filtration of FHA, Adsorption, Decantation

Hepatitis B: Sanofi Pasteur Calle 8 N° 703 (esquina 5) Parque Industrial Pilar (1629) Provincia de Buenos Aires Argentina

Overview of the Manufacturing Process

ขั้นตอนการผลิต HBsAg, recombinant protein โดยอาศัยเทคนิค recombinant ใน strain K3/8-1 ของ Hansenula polymorpha ซึ่งมีขั้นตอนหลักดังนี้

1. Cell culture and harvest
2. Purification
3. Maturation

Transportation

การขนส่ง HBsAg batch flask จาก sanofi pasteur Argentina ไปยัง sanofi pasteur France, Marcy l' Etoile plant จะถูกแพ็คใน container แบบปิดซึ่งบรรจุ double-bag containing และมี electronic thermometer controlling และควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ +5°C ± 3°C ตลอดการขนส่ง

Process Validation and/or Evaluation (HBsAg)

การศึกษา Process Validation ศึกษาถึงความสม่ำเสมอของการผลิต และควบคุมคุณภาพใน 5 industrial batches ต่อเนื่องกัน โดยมีการศึกษาในขั้นตอนการผลิตดังนี้

Validation of Production Steps and Yield Consistency

ศึกษาใน Fermentation process, Harvest process, Purification and Maturation Process โดยผลการศึกษาทุกขั้นตอนเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และ Process Yield Evaluation ศึกษาใน 30 production batches โดยศึกษาจากน้ำหนักของ HBsAg ในแต่ละขั้นตอน Cell crude extract, PEG supernatant, Clarified desorbate, IEC fraction concentrated, Diafiltrated KBr pool และ HBs final purified Ag

Cleaning Validation and Life Time Studies

ศึกษา Cleaning validation ใน IEC and GFC systems เพื่อประเมินถึงประสิทธิภาพ จำนวนรอบการใช้ขบวนการทำความสะอาด และความมีสุขลักษณะ และขั้นตอนการเก็บ ควบคุมคุณภาพโดยศึกษา microbiologic monitoring และ endotoxin ศึกษา GFC system ผลการศึกษาเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และทั้ง 2 system สามารถเก็บ maximum of 30 days

IPV: Sanofi Pasteur Marcy l'Etoile (MLE), 1541 Avenue Marcel Merieux 69280 Marcy l'Etoile, France

Vero Cell Culture: จาก Vero Working Cell Bank นำมาเลี้ยงใน Bioreactor โดยให้เซลล์เกาะบน microcarrier beads ขนาดของ Bioreactor จะเพิ่มขึ้น

Production of the Single Harvest จะประกอบไปด้วยขั้นตอน:

- The Vero cells culture
- The viral culture and harvest (up to the single harvest).

Preparation of the Monovalent: เมื่อผ่านขั้นตอน Single harvest ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะต้องนำมาผ่าน 3 ขั้นตอน เพื่อให้ได้ Monovalent ดังนี้

1.Concentration

2.Purification

3. Inactivation

Process Validation and/or Evaluation

Validation of Monovalent (Types 1, 2 and 3) Production ประกอบด้วย 3 steps:

- Validation of the Vero cells culture and crude harvest production
- Validation of the crude harvest purification; การทดสอบเพื่อยืนยันถึงความบริสุทธิ์ของ concentrated purified viral suspension (CPVS) โดยมีการตรวจวิเคราะห์ BSA, DNA content และ SDS PAGE โดยการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวเพื่อบ่งบอกถึง characterization ของผลิตภัณฑ์
- Validation of the inactivation of concentrated purified viral suspension

ในขั้นตอนการผลิต Monovalent จะใช้การศึกษาใช้ concentrated purified viral suspension 3 lots ต่อเนื่องกันสำหรับ serotypes 1 และ 3 สำหรับ Serotype 2 จะใช้ 2 lots of concentrated purified viral suspension ต่อเนื่องกัน (Single harvested 6 lots) เพื่อนำมา pool เป็น monovalent 1 lot ผลการศึกษาในขบวนการผลิต monovalent ของทั้ง 3 serotype อยู่ในสภาวะที่กำหนด

Validation of the Trivalent Concentrate Production

ในขั้นตอนการ formulation สำหรับ concentrated trivalent จะศึกษาเพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ใน:

- Validation of the stirring step during blending โดยศึกษาภายใต้สภาวะที่จัดเป็น Worst cases ได้แก่ maximum batch size, minimum stirring speed และ minimum stirring duration การศึกษาในสภาวะต่าง ๆนี้เพื่อนำมาวิเคราะห์การเป็นเนื้อเดียวกันของสารจากการ mixing
- Validation of the blending step ศึกษาใน Maximum batch size โดยในแต่ละขั้นตอนจะถูก

ควบคุมคุณภาพและศึกษาปริมาณ D-antigen, pH และ การคงสภาพของแอนติเจนคือไม่ถูกทำลายในระหว่างขั้นตอนการผสมสาร

Haemophilus influenza type b: Sanofi Pasteur 1541 avenue Marcel Mérieux 69280 – Marcy L'Etoile – France

Haemophilus polysaccharide conjugate concentrated bulk (PRP-T) เป็น high molecular-weight polysaccharide เตรียมจาก

Polysaccharide polyribosyl-ribitol phosphate (PRP) ได้จาก outer capsule Haemophilus influenza type b strain 1482 มีโครงสร้างเป็น linear copolymer

Carrier protein (purified tetanus protein) ที่ได้จาก Clostridium tetani Harvard strain 49205 detoxified ด้วย formaldehyde, activated โดยใช้ EDAC

Activated tetanus protein ทำปฏิกิริยากับ PRP-AH ด้วย carbodiimide condensation reaction ซึ่งจะได้ PRP-T drug substance

Characterization of the Drug Substance(s)

DTaP

Diphtheria

Morphological Characterization: Gram positive rods with the presence of palisades and "Chinese letters" arrangement. Some club-shaped end could be observed. และผลิต Diphtheria toxin ซึ่งแยกได้เป็นสามส่วนคือ the single intact polypeptide chain, fragment A และ fragment B มี molecular weight อยู่ระหว่าง 55 ถึง 60 kDa

Characterize ด้วย

-Phenotypic โดยทดสอบ Identification, Biological properties, In vivo properties

-Genotypic โดยทดสอบ Genomic profile identification, Identification of each of the two corynephages integrated at attB loci into the chromosomal DNA, Identification of loci of interest

Tetanus

เป็น Gram positive, spore forming anaerobic bacillus ผลิต tetanus toxin จาก fermentation process Tetanus toxin เป็น toxic protein มี molecular weight ประมาณ 150 kDa ในรูป a single polypeptide chainโดย light chain (toxic moiety) มี molecular weight ประมาณ 52 kDa และ heavy chain (binding moiety) มี molecular weight ประมาณ 98 kDa ซึ่งเชื่อมกันด้วย a single disulfide bond

Characterize ด้วย

-Physicochemical โดยทดสอบ Differential Scanning Calorimetry และ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel

Acellular Pertussis

ประกอบด้วย Antigen สองชนิดที่สกัดมาจากการเลี้ยงเชื้อไอกรน คือ Pertussis Toxoid (PTxd) และ Filamentous Haemagglutinin (FHA) โดย

PTxd เมื่อแยกด้วย SDSPAGE แบ่งได้เป็นสองส่วนคือ A subunit มีหนึ่ง subunit (S1) single polypeptide chain เป็น catalytic activity และ B oligomer ประกอบด้วย 5 subunits (S2, S3, S5 มีอย่างละหนึ่ง copy และ S4 มีสอง copy) โดยทั้ง 5 subunits มี molecular weight 28 kDa อยู่ระหว่าง 14–30 kDa

FHA เป็น surface-associated protein ของเชื้อไอกรน มีขนาดความยาว 50 nm เป็น polypeptide chain และมี molecular weight 220 kDa เมื่อ mature form โดยมีลักษณะเป็น elongated shape, beta-structure และมีด้วยกันสองส่วนคือ R1 และ R2

Hepatitis B

สำหรับการทดสอบถึง Characterization ของ seed lot โดยทดสอบ phenotypic และ genotypic ทั้งใน MSL และ WSL ซึ่งการทดสอบเพื่อยืนยันถึง genetically stable, integrated the plasmid that contains the HBsAg gene in their genome และความสามารถในการสร้าง HBsAg.

IPV

The inactivated Vero Trivalent Poliovaccine Bulk เตรียมจาก poliovirus 3 สายพันธุ์ได้แก่ Mahoney, MEF-1 และ Saukett strains (สำหรับ Types 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) การทดสอบที่ใช้เพื่อยืนยันถึง poliovirus และคุณลักษณะของไวรัสประกอบด้วยการทดสอบทางด้าน Physicochemical Properties คือการควบคุมความเป็นกรดเบสของ Trivalent bulk, Identity, Poliovirus Types 1, 2 and 3 Concentration, Impurities ในขบวนการผลิต poliovirus concentration และ purification โดยตรวจวิเคราะห์เพื่อศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และสารเคมีหรืออื่น ๆที่มีการปนเปื้อนเช่น residual formaldehyde, bacterial endotoxins และ Bovine Serum Albumin (BSA) โดยการตรวจวิเคราะห์ที่เพิ่มเข้ามาในระหว่างการศึกษา validation ของความสม่ำเสมอของคุณภาพของผลิตภัณฑ์จะศึกษา impurities โดยเพิ่มการตรวจวิเคราะห์ protein content, Deoxyribonucleic Acid (DNA) content, BSA content, residual antibiotics content (neomycin, polymyxin B and streptomycin) และทดสอบโดยวิธี SDS-PAGE electrophoretic

Additional Characterization Test: Immunogenicity Test on Rats

อ้างอิงตาม European Pharmacopeia Monograph 0214 Poliomyelitis vaccine (inactivated), Monograph 2.7.20 “In vivo assay of poliomyelitis vaccine (inactivated)” ผู้ผลิตจะทำการตรวจวิเคราะห์ in-vivo test ใน Rats เมื่อมีการปรับเปลี่ยนขั้นตอนการผลิตหรือปรับความเข้มข้นใน trivalent manufacturing process โดยเปรียบเทียบกับผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ D-antigen จากข้อมูลที่ทำการศึกษาคือผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก 3 Batches manufactured ของ Final bulk product (FBP) ที่ผ่านขั้นตอนการกรองโดย DEAE Spherodex support (current) และ 3 Batches manufactured ของ FBP ที่ผ่านขั้นตอนการกรองโดย DEAE Ceramic Hyper

D support (proposed) ผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบจากทั้ง 2 วิธีแตกต่างกันน้อยมาก และการกรองโดยใช้ DEAE Ceramic Hyper D support ถูกนำมาใช้แทนวิธีเดิมเนื่องจากไม่มี dextran อายุการใช้งานยาวนานกว่าวิธีเดิม

Impurity

ในขั้นตอนการผลิตจะมีการประเมิน impurity ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ในขั้นตอน poliovirus concentration และ ขั้นตอน purification (crude harvest to the concentrated purified viral suspension) โดยมีการควบคุมคุณภาพตรวจสอบสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆเช่น residual formaldehyde, bacterial endotoxins and Bovine Serum Albumin (BSA). Furthermore, additional, protein content, Deoxyribonucleic Acid (DNA) content, BSA content, residual antibiotics content (neomycin, polymyxin B and streptomycin) และ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) profile

Haemophilus influenza type b

Characterization ของ PRP-T ประกอบด้วย

1. Elucidation of structure and other characteristics

- Characterization of H. influenzae type b polysaccharide โดย NMR
- Characterization of Tetanus ซึ่งในแต่ละขั้นตอนการผลิต Tetanus จะมีการ characterize แตกต่างกัน คือ DSC ใช้ determination of the mid-point of protein denaturation (or melting point, Tm), SDS-PAGE
- Characterization of PRP-T: structure of PRP-T ดูได้จาก molecular size distribution โดยใช้ HPSEC coupled with LALS ซึ่งจะพิจารณาจากค่า KD, Rh และ Mw นอกจากนี้ยังใช้ immunogenicity testing in mice (carrier protein) และนำมาทดสอบ ELISA

2. Impurities

- Impurities of H. influenzae type b polysaccharide พิจารณาจากค่า protein, nucleic acid และ endotoxins ซึ่ง specification จะต้องเป็นไปตาม Ph.Eur. monograph 1219
- Impurities of Tetanus พิจารณาจากค่า residual phosphate (in phosphorus), formaldehyde และ pyrogen โดย residual phosphate < 1.5 µg/mg of protein, diafiltration process จะต้องสามารถ reducing formaldehyde < 1 µg/mg after concentration และ pyrogen จะต้อง free of pyrogenic contaminants
- Impurities of activated PRP-AH พิจารณาจากค่า residual cyanides and bromide และ ADH
- Impurities of PRP-T พิจารณาจากค่า free polysaccharide, free tetanus protein, EDAC and EDU และ phenol โดย free polysaccharide เพื่อดูประสิทธิภาพของกระบวนการ purification ในการ remove the free activated PRP-AH, free tetanus protein เพื่อดูว่า unconjugated tetanus protein ถูก remove โดยกระบวนการ purification, EDAC and EDU เพื่อดูว่า EDAC ถูกกำจัดในขั้นตอน dialysis ส่วน phenol ที่ใช้ใน final purification process ของ PRP ว่าถูกกำจัดไปเท่าไร
- Other Impurities not routine test during PRP-T ประกอบด้วย bromide, formaldehyde,

low molecular weight conjugate content และ blood group substances

Quality Control of the Drug Substance(s)

Diphtheria

มีการควบคุมคุณภาพตามข้อกำหนดเป็นไปตาม Ph.Eur. 0443 Current edition และ WHO TRS 800 ในขั้นตอนการผลิต ทั้งรายการและวิธีการทดสอบ

-Diphtheria Seed Lots

-In-process controls applied during fermentation of Corynebacterium Diphtheriae and harvest of concentrated toxin

-In-process controls applied during Detoxification of Diphtheria Toxin

-In-process controls applied during the Purified Diphtheria Toxoid

-the Purified Diphtheria Toxoid

Tetanus

มีการควบคุมคุณภาพตามข้อกำหนดเป็นไปตาม Ph.Eur. 0452 Current edition และ WHO TRS 800 ในขั้นตอนการผลิต ทั้งรายการและวิธีการทดสอบ

-Clostridium Tetani Seed Lots

-In-process controls applied during Detoxification of Tetanus Toxin

-In-process controls applied during the Purified Tetanus Toxoid

-the Purified Tetanus Toxoid

Acellular Pertussis

มีการควบคุมคุณภาพตามข้อกำหนดเป็นไปตาม Ph.Eur. 1934 Current edition และ WHO TRS 878 ในขั้นตอนการผลิต ทั้งรายการและวิธีการทดสอบ

-B. Pertussis Seed Lots

-In-process controls applied during Fermentation of Bordetella Pertussis and Harvest

-In-process controls applied during FHA Purification

-In-process controls during Detoxification of PT

-In-process controls during Antigens Adsorption

-Native Purified Pertussis Toxin

-Native Purified FHA

-Purified Pertussis Toxoid in Solution

-Purified FHA in Solution

-the Adsorbed Purified Pertussis Toxoid

-the Adsorbed Purified Filamentous Haemagglutinin

Hepatitis B

การควบคุมคุณภาพ อ้างอิงตาม Ph. Eur. monograph 1056 "Hepatitis B vaccine (rDNA)", WHO Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines, adopted by ECBS in October 2010 (revised TRS 786) โดยมีการควบคุมคุณภาพในแต่ละขั้นตอนการผลิตดังนี้

1. Control of materials

Tests Performed on the Pre-MSL

Test Performed on the Pre-MSL K3/8-1 ADW001/12/94

2. Quality Control for Hansenula polymorpha MSL and WSL: ผล Quality control และ characterization ของ MSL และ WSL เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดขาดข้อมูลของ MSL

3. In-process control มีการควบคุมในขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. In-Process Controls Performed During Fermentation and Harvest

2. In-Process Controls Performed During Purification and Maturation of the HBsAg

Method Validations

การศึกษาอ้างอิงตาม ICH Q2 (R1) “Validation Analytical Procedures: Text and Methodology” โดยวิธีที่ทำการศึกษามีดังนี้

• Identification and HBsAg content – ELISA RB; โดยใช้ in-house HBsAg reference มา plot graph สร้าง standard curve เพื่อคำนวณหาปริมาณของ HBsAg จากค่า OD แต่ละความเจือจางของผลิตภัณฑ์

• Carbohydrates content – titration by colorimetric assay;

• Lipids content - titration by colorimetric assay;

• Purity by SDS-PAGE under reducing conditions;

• Percentage of HBsAg free monomer, limit test by SDS-PAGE under non reducing conditions

IPV

Control of materials

1. Quality Control of Vero Cell Banks: Master Cell Banks ทดสอบ Mycoplasma (culture method), Sterility Test (both tests were performed using Ph. Eur. test methods). สำหรับ Working Cell Banks, lots ซึ่งเคยนำมาใช้ในการผลิต Inactivated Poliomyelitis Vaccine ได้แก่ LS-5, LS-6, LS-7 และ LS-10 ซึ่งปัจจุบันไม่ได้นำมาใช้ การควบคุมคุณภาพอ้างอิงตาม WHO Technical Report Series (TRS) No 745 (1987) Annex 3 และสำหรับ Working cell lot ที่ถูกใช้ในปัจจุบันคือ LS-11 และ lot ที่จะนำมาใช้เมื่อ lot no. LS-11 หมดลงคือ LS-12 ทั้ง 2 lots นี้ควบคุมคุณภาพโดยอ้างอิงตาม The requirements of the Ph. Eur. § 5.2.3 “Cell substrates for the production of vaccines for human และ the recommendations of the WHO TRS No. 878 (1998) Annex 1 “Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals”

ผลการตรวจวิเคราะห์ Vero Working Cell Banks (LS-11, Batch FA106611 Manufactured on 29 April 2002 and LS-12, Batch FA115772 Manufactured on 23 July 2002) ที่ 137th Passage on Cells, ที่ 137th Passage on Supernatants, ที่ 147th Passage on Cells และที่ 147th Passage on Supernatants ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดในทุกๆการทดสอบ

2. Quality Control of poliovirus seed lot การควบคุมคุณภาพของ Master Seed Lots (batch 1011 for Type 1, batch 2011 for Type 2 and batch 3011 for Type 3) และ Sub-Master Seed Lots (batch 10112 for Type 1, batch 20112 for Type 2 and batch 30113 for Type 3) โดยแสดงใน Certificates of Analysis 3.2.S.2.3 Certificate of Analysis - Master Seed Lots Type 1, 2 and 3 (IPV) (Module 3 Vol. 3)

3. Control Tests Performed on Master Seed Lots: การควบคุมคุณภาพของ Virus Master Seed Lots จะเป็นไปตาม WHO requirements(1977) โดยมีการตรวจวิเคราะห์ดังนี้ Master seed lot ต้องปราศจาก B virus เมื่อทดสอบในกระต่าย (absence of B virus in rabbits), bacterial and fungal sterility test, absence of Mycobacteria, absence of SV40 and other extraneous agents detectable by inoculation on Primary Monkey Kidney Cells, absence of Marburg virus by inoculation of guinea-pig, identity and Poliovirus concentration และ Control cells จะต้องมีการ observed for absence of cytopathic effect (CPE) และการตรวจวิเคราะห์ที่เพิ่มเติมคือ วิเคราะห์ Strains of poliovirus และตรวจคุณลักษณะโดย infectivity tests และ immunological methods ทุกวิธีวิเคราะห์ที่เพิ่มเติมได้รับการ Approve โดย National Control Authority

4. Control Tests Performed on Sub-Master Seed Lots: การควบคุณคุณภาพของ Sub-Master Seed Lots จะควบคุมเช่นเดียวกับ Working Seed Lots และอ้างอิงตาม WHO requirements เพื่อวิเคราะห์ absence of B virus in rabbits, bacterial and fungal sterility test, absence of Mycobacteria and absence of Mycoplasma by culture method and by epifluorescence in cell culture, absence of SV40 and other extraneous agents detectable by inoculation on Primary Monkey Kidney Cells, identity and Poliovirus concentration แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก new subsequent Sub-Master Seed Lots การควบคุมคุณภาพจะอ้างอิงตาม European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) และ WHO requirements โดยใช้หลักการ “state of the art”

5. Control Tests Performed on Working Seed Lots: การควบคุมคุณภาพของ Working seed จะดำเนินการตรวจวิเคราะห์ทั้งใน control cells และ control cell supernatants อ้างอิงตาม requirements of Ph. Eur. 0214 Monograph และ WHO TRS No. 910 (2002) Annex 2 ในขั้นตอนการผลิต Working seed lot นั้นมีขั้นตอนเช่นเดียวกับการผลิตวัคซีนโดยใช้ working seed ได้แก่ Cell Culture and Harvest การ Purification and Modification Reactions การ Filling Storage และ Transportation ยกเว้น viral suspension สำหรับการเตรียม WS จะไม่นำมาผ่านขั้นตอนการ inactivation โดย Quality control profile ของ Working Seed Lots สำหรับ poliovirus type 1, 2 และ 3

Results for Working Seed Lots

ผลการศึกษาการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก Working seed lots ในขั้นตอน Control cell, Control cell supernatants, Viral suspension เพิ่มการทดสอบ porcine circovirusในปี 2012 และ Concentrate viral

suspension จาก WS lot 3 batches ต่อเนื่องกันได้แก่ FA350158 (PV1), FA189575 (PV2) และ FA331115 (PV3) ทั้ง 3 batches ผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด

6. In-Process Controls มีการควบคุมคุณภาพในขั้นตอน

1. In-Process Controls Applied during Vero Cell Culture
2. In-Process Control applied during the Virus inoculation and harvest
3. In-Process Controls Applied during the Purification
4. In-Process Controls Applied during the Inactivation of the Virus Suspension
5. In-Process Controls Applied during the Production of the Concentrated Trivalent

7. Controls of Critical Steps and Intermediates

ขั้นตอนการผลิต Inactivated Polio vaccine Trivalent Bulk ถูกควบคุมคุณภาพโดย Production parameter และ in-process control โดยการการควบคุมคุณภาพใน Critical steps ได้จากการศึกษา Validation programs และผลจากการศึกษา Stability โดยผลการศึกษาที่ได้เมื่อมีความสม่ำเสมอของผลจะนำมาใช้ในการวบคุมคุณภาพในขั้นตอน critical steps. เกณฑ์ข้อกำหนดใช้ในขั้นตอนการผลิต intermediates product โดยกำหนดใน 1. the control cells and control cell 2. single virus harvests for each serotype 3. concentrated purified viral suspensions for each serotype และ 4. monovalent for each serotype โดยศึกษาในการการ Culture ไวรัส การ Purified และ ขั้นตอนการ inactivation และการกำหนด Specification อ้างอิงตาม European Pharmacopoeia name: Trivalent pool of inactivated monovalent harvests, Monograph no. 0214, Poliomyelitis Vaccine (Inactivated).,World Health Organization (WHO) name: Trivalent inactivated poliomyelitis vaccine / Trivalent bulk, Recommendations for the production and control of poliomyelitis vaccine (Inactivated) (TRS no. 910, Annex 2, 2002) และ Guidelines for the safe production and quality control of inactivated poliomyelitis vaccine manufactured from wild polioviruses. Addendum, 2003, to the Recommendations for the Production and Quality Control of Poliomyelitis Vaccine (Inactivated) (TRS no. 926, 2004).

ผลการศึกษาการควบคุมคุณภาพของ Intermediate products ในแต่ละ Monovalents ทั้ง 3 types, type ละ 3 batches ต่อเนื่องกันผลการศึกษาเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

Haemophilus influenza type b

- Master Seed & Working Seed ของ Haemophilus influenza type b seed lot ตาม Page 2889
- Master Seed & Working Seed ของ Clostridium tetani seed lot ตาม Page 2890
- PRP ตาม Page 2916
- PRP-AH ตาม Page 2989
- PTP ตาม Page 3065 ขาดการทดสอบ specific toxicity และ reversion of toxicity ตาม WHO TRS 800, 1990.
- CTP ตาม Page 3102

- PRP-T (drug substance) ตาม Page 3283 ขาดการทดสอบ specific toxicity ตาม WHO TRS 897, 2000 (Hib conjugated) เป็นไปตาม WHO TRS 897, 2000 (Hib conjugated) และ WHO TRS 800, 1990 (DTP) แต่ในส่วน PTP ขาดการทดสอบ specific toxicity และ reversion of toxicity ตาม WHO TRS 800, 1990 แต่มีการตรวจใน CTP จึงเห็นว่าสามารถยอมรับได้ สำหรับ PRP-T ขาดการทดสอบ specific toxicity ตาม WHO TRS 897, 2000 (Hib conjugated)
- แสดง Analytical Procedure ตาม Ph.Eur. บาง test ที่ไม่อธิบายใน Ph.Eur. แสดงตาม Page 2917-2929, 2990-3004, 3066-3070, 3103-3111, 3291-3324
- แสดง Validation of Analytical Procedure เป็นไปตาม ICH Q2 (R1) ตาม Page 2930-2947, 3005-3025, 3071-3086, 3112-3132, 3331-3365
- แสดง Batch Analyses PRP จำนวน 3 industrial batches ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 2956
- แสดง Batch Analyses PRP-AH จำนวน 3 industrial batches ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 3026
- แสดง Batch Analyses PTP จำนวน 3 industrial batches ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 3087
- แสดง Batch Analyses CTP จำนวน 3 industrial batches ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 3133
- แสดง Batch Analyses PRP-T consistency batches used in clinical study จำนวน 3 รุ่นการผลิต ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 3370
- แสดง Batch Analyses PRP-T production lot (industrial batches) จำนวน 3 รุ่นการผลิต ผลการทดสอบเป็นไปตาม acceptance criteria ตาม Page 3371
- แสดง Justification of specification ตาม Page 2957-2958, 3027-3028, 3088, 3134-3135, 3374-3376

Reference Standards or Materials

Diphtheria

-an in-house flocculating standard for diphtheria (toxoid) calibrated against the International Flocculation Standard for Tetanus (NINSC) เก็บที่ <-20^{o}C

-the formaldehyde reference standard 34.5% to 38.0% w/w solution เก็บที่อุณหภูมิห้อง

Tetanus

-an in-house flocculating standard for tetanus (antitoxin) calibrated against the WHO reference เก็บที่ +5^{o}C ± 3^{o}C

-the formaldehyde reference standard 34.5% to 38.0% w/w solution เก็บที่อุณหภูมิห้อง

Acellular Pertussis

-a copper sulphate solution เก็บที่อุณหภูมิห้อง

-a bovine serum albumin solution ของ NIST เก็บที่ +5oC ± 3oC

-in-house standards of native purified FHA and native purified PT เก็บที่ -70oC
-PT and FHA reference (NIBSC) เก็บที่ -20oC
- a 25% glutaraldehyde solution เก็บที่ -20oC

Hepatitis B

Control of Source and Starting Materials of Biological Origin (HBsAg)
ในระหว่างขั้นตอนการผลิต HBsAg ใช้ material ที่ได้จาก biological origin คือ Sodium Deoxycholate (DOC) ผลิตจาก Bovine bile โดย material นี้นำมาใช้ใน Desorption buffer โดยมีการควบคุมคุณภาพตาม Internal specification และ ทดสอบ Bovine ตาม Ph. Eur. 1483 and Ph. Eur. 5.2.8 และ Certificate สำหรับ DOC
Reference Standard ซึ่งทุกชนิดแสดง Certificate of Analysis ได้แก่
1. Bovine Serum Albumin Reference Standard: used for the determination of protein content by Lowry method
2. Sucrose Reference Standard: used to determine the carbohydrate content test
3. Lipid Reference Material: used for the lipid content test is an olive oil, highly refined, with low acidity, provided by an external supplier
4. In-House HBsAg Reference Standard: According to WHO recommendation, the reference standard to be used for HBsAg content on purified antigen could be a representative bulk of known HBsAg and protein content or a highly purified preparation of HBsAg of known HBsAg and protein content. The titre of the first two references (RA07/00 and L039) used during development was determined by calibration against a batch of GenHevac vaccine.
5. Low Molecular Weight Marker Reference Material: provided by an external supplier, is used in SDS-PAGE
6. Endotoxins Reference Material: E.coli endotoxin freeze dried powder purchased to an external American supplier. The potency of this reference is determined against an international reference standard by the method described on the guideline on validation of the Limulus amebocyte lysate test published by the U.S. FDA

IPV

1. Type 1: Mahoney strain;
2. Type 2: MEF 1 strain;
3. Type 3: Saukett strain.

ไวรัสทั้ง 3 strainsเพื่อตรวจวิเคราะห์ Type 1, 2 and 3 Poliovirus Concentration
4. bovine serum albumin เพื่อวิเคราะห์ Protein content
5. bovine serum albumin reference standard เพื่อวิเคราะห์ Bovine Serum Albumin Content

6. The reference standard batch 28/01/99 และ reference standard batch 11/07/07.เพื่อวิเคราะห์ D-antigen content ซึ่ง lot no. 11/07/07 reference standard จะใช้เมื่อLot no. 28/01/99 reference standard หมด
7. commercially available 34.5 - 38.0% w/w formaldehyde solution เพื่อวิเคราะห์ Residual Formaldehyde Content
8. การตรวจวิเคราะห์ Bacterial Endotoxins Content ใช้สารมาตรฐารตามชุดทดสอบ
สารมาตรฐานทั้งหมดมี COA เพื่อควบคุมคุณภาพ

Haemophilus influenza type b

1. An internal lyophilized Haemophilus conjugate vaccine at 10 µg/vial (20 µg/ml after reconstitution of vials with 0.5 ml of purified water) เก็บที่ 2 – 8°C ใช้ในการทดสอบ Identification
2. A compound of known MW molecules (Ph.Eur.) by external supplier ใช้ในการทดสอบ Molecular size distribution พร้อมแสดง COA
3. A commercially ribose powder by external supplier ใช้ในการทดสอบ Ribose content พร้อมแสดง COA
4. A commercially KH2PO4 dried powder by external supplier ใช้ในการทดสอบ Phosphorus content พร้อมแสดง COA
5. A bovine serum albumin solution by NIST or other official organization ใช้ในการทดสอบ protein content พร้อมแสดง COA
6. Test kit by external supplier ใช้ในการทดสอบ Endotoxin content พร้อมแสดง COA
7. A cyanide solution (1 g/L of cyanide in 0.1 M NaOH) by external supplier ใช้ในการทดสอบ Residual cyanides limit test
8. A commercially ADH powder by external supplier ใช้ในการทดสอบ Total and Free ADH content พร้อมแสดง COA
9. In-house flocculation standard for Tetanus (antitoxin) calibrated กับ International Flocculation Standard for Tetanus (NIBSC) เก็บที่ < -20°C ใช้ในการทดสอบ flocculation titer
10. A commercially 34.5-38.0% w/w formaldehyde solution by external supplier ใช้ในการทดสอบ Formaldehyde content พร้อมแสดง COA
11. Internal PRP-AH ที่ทราบ titer เก็บที่ ≤ -70°C ใช้ในการทดสอบ free polysaccharide content
12. Internal lot of PRP-T เก็บที่ ≤ -35°C และ internal lot of tetanus protein เก็บที่ 2 – 8°C ใช้ในการทดสอบ free tetanus protein content
13. A commercially EDAC by external supplier ใช้ในการทดสอบ residual EDAC and EDU limit test พร้อมแสดง COA
14. A 90% phenol solution by external supplier ใช้ในการทดสอบ Phenol content พร้อมแสดง COA

15. A commercially sucrose powder by external supplier ใช้ในการทดสอบ Sucrose content พร้อมแสดง COA

Packaging and Container Closure System of the Drug Substance(s)

Diphtheria

-Intermediate Stability

-The CDT is stored in a stainless steel tank for up to 16 weeks at +5oC ± 3oC.

Tetanus

-Intermediate Stability

-The CTT is stored in a stainless steel tank for up to 16 weeks at +5oC ± 3oC

Acellular Pertussis

-Intermediate Stability

-The native purified PT and FHA antigens ถูกเก็บใน 10L หรือ 1L (Type 1) glass vials กับ Polypropylene caps at +5oC ± 3oC for 48 months

Hepatitis B

Packaging

Primary Packaging: Type I glass flask (5 liters or 10 liters) use screw caps in polybutylene terephtalate

Secondary Packaging: N/A

IPV

Composition of the Container-Closure System for Storage of the Crude Harvest, Concentrated Purified Viral Suspension and Monovalent (Type 1, 2 or 3)

Haemophilus influenza type b

Stability of the Drug Substance(s)

Diphtheria

Intermediate Stability

-PDT เก็บใน polypropylene flasks กับ polypropylene screw caps ตาม FDA regulation และ the USP class VI test

-PDT Stability Data ศึกษา 3 batches รายละเอียดตาม 3.2.S.7.3 ในการทดสอบ Protein nitrogen content, Free Formaldehyde content, Flocculating Titer, Antigenic Purity, Irreversibility of toxoid, Absence of toxin
(Specific toxicity) และ Sterility test มีอายุ 36 เดือน เก็บที่ +5°C ± 3°C.

Tetanus

Intermediate Stability

-PTT เก็บใน polypropylene flasks กับ polypropylene screw caps ตาม FDA regulation และ the USP class VI test

-PTT Stability Data ศึกษา 3 batches รายละเอียดตาม 3.2.S.7.3 ในการทดสอบ Protein nitrogen content, Free Formaldehyde content, Flocculating Titer, Antigenic Purity, Irreversibility of toxoid, Absence of toxin
(Specific toxicity) และ Sterility test มีอายุ 36 เดือน เก็บที่ +5°C ± 3°C.

Acellular Pertussis

Intermediate Stability

The native purified PT and FHA antigens ถูกเก็บใน glass vessels ได้ 48 เดือน ที่ +5°C ± 3°C โดยมีข้อมูลสนับสนุนจากการศึกษาความคงตัวจำนวน 6 industrial-scale batches ในแต่ละ antigen รายละเอียดตาม 3.2.S.2.4

Stability (Pertussis)

The Adsorbed Purified Filamentous Haemmaglutinin (FHA) and Adsoebed Purified Pertussis Toxoid (PTxd) ใน storage container type glass เก็บได้ 48 เดือน ที่ +5°C ± 3°C รายละเอียดตาม 3.2.S.7.3

Hepatitis B

ศึกษา Stability ใน purification of HBsAg 3 batches ต่อเนื่องกันโดยออกแบบการศึกษาเป็น 3 สภาวะ กำหนด shelf-life ของ Drug substance อยู่ที่ 30 เดือนเมื่อเก็บที่ 2-8°C ใน Glass flasks (type I) sealed with polybutylene terephthalate caps ซึ่งได้จากการศึกษา Characterisation ใน 3 batches เช่นเดียวกับการศึกษา stability และ parameter ที่ใช้ในการศึกษาดังแสดงใน Table 1

Table 1. Study Parameters and Acceptance Criteria for the Stability Study 1 of Hepatitis B Surface Antigen

IPV

Purified concentrate viral suspension: จากการศึกษา stability สภาวะ normal condition ใน propylene flask ที่ +5°C ± 3°C for 3 months โดยศึกษาใน purified concentrate viral suspension ทั้ง 3 type, type ละ 1 batch โดยตรวจวิเคราะห์ในเดือนที่ 0,1, 2 และ 3 ตามรายการใน Specification of purified concentrate viral suspension โดยผลเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

Monovalent: แบ่งการศึกษาเป็น 2 แบบเพื่อกำหนด Shelf-life ของ monovalent ทั้ง 3 type อยู่ที่ 36 เดือน โดยผลการตรวจวิเคราะห์เป็นดังนี้

1. Initial study ศึกษาใน Monovalent ทั้ง 3 type, type ละ 3 batches ผลิตในขนาด Industrial batch เป็นการศึกษาเพื่อสนับสนุน Shelf-life ของผลิตภัณฑ์ที่ 36 เดือนและเมื่อ 42 เดือนผลการตรวจวิเคราะห์ ของ monovalent ทั้ง 3 types ยังคงอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

2. Additional study ศึกษาใน monovalent ทั้ง 3 type, type ละ 1 batch โดยในแต่ละ monovalent จะถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ chromatography ใหม่เพื่อยืนยัน Shelf-life ของผลิตภัณฑ์มีอายุได้ถึง 36 เดือนเมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านตามขั้นตอน Purification and Modification Reactions, Filling Storage and Transportation ซึ่งทุกๆ ขั้นตอนมีข้อกำหนดการควบคุมคุณภาพตาม Process Validation and/or Evaluation ผลการศึกษาเป็นไปตามเกณที่กำหนดทั้ง 3 type เมื่อครบเดือนที่ 36

Concentrated Purified Viral Suspension

สำหรับ Concentrated purified viral suspension เก็บใน Polypropylene flask ที่อุณหภูมิ 2-8°C นาน 3 เดือนจากการศึกษา ในซีโรทัยป์ละ 1 lot กำหนด Test Schedule (months): T0, T1, T2 and T3 โดยทดสอบ D-antigen Content (sigmoid method) Protein Content, Purity (Specific Activity) และ Bacterial and Fungal Sterility Test

Poliomyelitis Concentrated Trivalent

กำหนด Holding time อยู่ที่ 24 เดือนที่อุณหภูมิ 2-8OC โดยศึกษา Stability ใน 2 containers ได้แก่ glass vials (150 L) สำหรับ European market ศึกษาที่ 0, 6, 9, 12, 18, 24 และที่ 36 เดือนตรวจวิเคราะห์ pH, residual formaldehyde, D-antigen content (Sigmoid) และ sterility test ใน stainless steel mini tanks (295 L) สำหรับ US market ศึกษาที่ 0, 6, 9, 12, 18 และที่ 24 เดือนตรวจวิเคราะห์ Appearance, pH, residual formaldehyde, D-antigen content (Parallel line), sterility test และ Endotoxin

Haemophilus influenza type b

1. Cetrimide Pellet: 3 industrial-scale batches PRP ศึกษาที่ 9 เดือน ≤-20°C เก็บใน stainless steel container, Test parameter: ribose content, phosphorus content, protein content, nucleic acid content, bacterial endotoxins content, pyrogen test, molecular size distribution, Haemophilus type b identification test และ residual moisture. ผลการศึกษาสนับสนุนที่ hold-time 9 เดือน ที่ ≤-20°C
2. Intermediate product: 3 lot เก็บที่ ≤-20°C 3 เดือน ใน polycarbonate container, Test parameter: ribose content, phosphorus content, protein content, nucleic acid content, bacterial endotoxins content, pyrogen test, molecular size distribution, Haemophilus type b identification test และ residual moisture. ผลการศึกษาสนับสนุน hold-time 3 เดือน ที่ ≤-20°C
3. PRP: 6 PRP lot (PRP 3 lot, PRP-reprocess 3 lot) เก็บที่ ≤-35°C 66 เดือน ใน glass container, Test parameter: ribose content, phosphorus content, protein content, nucleic acid content, bacterial endotoxins content, pyrogen test, molecular size distribution, Haemophilus type b identification

test และ residual moisture. ผลการศึกษา PRP 3 lot สนับสนุน hold-time 60 เดือน ที่ ≤-35°C และ PRP-reprocess แสดงถึงการ reprocess ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

4. PRP-AH: 6 PRP-AH lot (PRP-AH 3 lot, PRP-reprocess-AH 3 lot) เก็บที่ ≤-35°C 24 เดือน ใน glass container, Test parameter: residual cyanide content, polysaccharide content, percentage of polysaccharide linked ADH, free ADH/total ADH ratio, molecular size distribution และ Haemophilus type b identification test ผลการศึกษา PRP-AH 3 lot สนับสนุน hold-time 24 เดือน ที่ ≤-35°C และ PRP-reprocess-AH แสดงถึงการ reprocess ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

5. PTP: 3 PTP lot เก็บที่ 2 - 8°C 18 เดือน ใน polypropylene container, Test parameter: protein nitrogen content, total nitrogen content*, protein nitrogen/total nitrogen ratio*, OD280/OD260 ratio*, flocculating titer, antigen purity, molecular size distribution, sterility* และ irreversibility of tetanus toxoid** (*ทดสอบที่ T0 และ finish time point, **ทดสอบที่ T9 และ finish time point) ผลการศึกษาสนับสนุน hold-time 18 เดือน ที่ 2 – 8°C (แต่ใน page 2832 ระบุ shelf-life ไว้ 12 เดือน)

6. CTP: 3 CTP lot เก็บที่ 2 - 8°C 15 เดือน ใน glass container, Test parameter: protein nitrogen content, OD280/OD260 ratio, phosphorus content, residual free formaldehyde content, flocculating titer, antigen purity, molecular size distribution, sterility, irreversibility of tetanus toxoid, specific toxicity* และ pyrogen (*ทดสอบที่ T0 และ finish time point) ผลการศึกษาสนับสนุน hold-time 12 เดือน ที่ 2 – 8°C

7. PRP-T: เก็บที่ ≤-35°C 36 เดือน ใน polypropylene flasks ซึ่งมีข้อมูล stability study สนับสนุน 5 cases ซึ่งแต่ละ case มีวัตถุประสงค์ต่างกัน ดังนี้

1) 3 industrial-scale batches ศึกษาที่ ≤-35°C 36 เดือน ใน polypropylene flasks เพื่อสนับสนุน hold-time ที่ ≤-35°C 36 เดือน ซึ่งผลิตมาจาก PTP ที่ผลิตจาก 2400 L industrial batch size (batch size ปัจจุบัน)

2) 3 industrial-scale batches ศึกษาที่ ≤-35°C 36 เดือน ใน polypropylene flasks เพื่อสนับสนุน hold-time ที่ ≤-35°C 36 เดือน ซึ่งผลิตมาจาก PTP ที่ผลิตจาก 1200 L industrial batch size (batch size เดิม) non-reprocessed PRP

3) 3 industrial-scale batches ศึกษาที่ ≤-35°C 36 เดือน ใน polypropylene flasks เพื่อสนับสนุน hold-time ที่ ≤-35°C 36 เดือน ซึ่งผลิตมาจาก PTP ที่ผลิตจาก 1200 L industrial batch size (batch size เดิม) with reprocessed PRP

4) 3 industrial-scale batches ศึกษาที่ ≤-35°C 36 เดือน ใน polypropylene flasks เพื่อสนับสนุน validate the sterility maintenance และ hold-time ที่ ≤-35°C 36 เดือน ซึ่งผลิตมาจาก PTP ที่ผลิตจาก 1200 L industrial batch size (batch size เดิม) non-reprocessed PRP

5) Accelerated storage condition เพื่อประเมินผลกระทบของสภาวะการเก็บที่เบี่ยงเบนไปจากที่กำหนดของ PTP-T ที่ผลิตมาจาก PTP ที่ผลิตจาก 1200 L industrial batch size (batch size เดิม)

- เก็บที่ 2 - 8°C 24 เดือน
- เก็บที่ 20 - 24°C 24 เดือน

สำหรับ Test parameter ประกอบด้วย phosphorus content on PRP-T, sucrose content, protein/polysaccharide ratio, identification Hib and Tetanus, free tetanus protein content, pH, sterility, molecular size distribution, high molecular weight conjugate polysaccharide content, free polysaccharide content, และ irreversibility of tetanus protein
ผลการศึกษาอยู่ใน acceptance criteria ซึ่งสนับสนุน hold-time ที่ ≤-35°C 36 เดือน for PRP-T

DRUG PRODUCT

Description and composition of the Drug Product

Drug product ของ Hexaxim ประกอบด้วย 6 Drug substances คือ PDT, PTT, 2-component acellular pertussis (PTxd and FHA), IPV, HBsAg and Hib type b conjugated to PRP-T และมี aluminium hydroxide เป็น adjuvant อยู่ในรูปของ liquid form บรรจุอยู่ใน single-dose type I glass vial or syringe without needle (comply with WHO TRS 800 as amended และ monograph 2067 Ph.Eur.)
Description

Hexaxim vaccine เป็นวัคซีนที่ไม่มี preservative และเป็น liquid formulation วัคซีนนี้ Route ที่ให้คือ intramuscular และเป็น combines aluminium hydroxide as adjuvant ประกอบด้วย six Drug Substances ดังนี้:

• Purified Diphtheria Toxoid (PDT); is prepared from Corynebacterium diphtheriae strain Detoxification is then performed using formaldehyde
• Purified Tetanus Toxoid (PTT); is manufactured from its respective toxin by formaldehyde detoxification followed by purification and prepared from Clostridium tetani strain
• 2-component acellular pertussis (purified pertussis toxoid and purified filamentous haemagglutinin); are then adsorbed separately onto aluminium hydroxide for stabilization
• Inactivated poliomyelitis trivalent concentrate; obtained by blending defined quantities of type 1, type 2 and type 3 poliovirus monovalents. Each monovalent is manufactured separately.
• Hepatitis B surface antigen is produced by culture of a recombinant yeast of Hansenula polymorpha strain. The HBsAg production consists of a fermentation process allowing high level of intracellular expression of HBsAg under fully controlled conditions (derepression by reduction of glycerol concentration and induction by addition of methanol)
• Haemophilus influenzae type b polysaccharide conjugated to tetanus protein.

ขนาดบรรจุ: กล่องกระดาษบรรจุ 1, 10 กระบอกฉีดแก้วใส ขนาด 0.5 มล.
การควบคุมคุณภาพของวัคซีนนี้อ้างอิงตาม World Health Organization (TRS 800 as amended) และ European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), monograph 2067

Pharmaceutical Development

เริ่มแรกพัฒนา An initial formulation แล้วปรับ pH นำเอา carbonate ions ออก จนกระทั่งได้เป็น optimized formulation เติม essential amino acids รายละเอียดตาม section 2.3.P.2

Formulation Development

The Hexaxim vaccine is a ready-to-use (i.e. liquid), preservative free hexavalent adjuvanted combined vaccine เป็นวัคซีนสำหรับเด็ก (aged from 6 weeks old) ให้โดยการฉีดทางเป็น a single-dose glass vial or syringe containing 1 human dose of 0.5 mL. Final Bulk Product (FBP) is prepared by sequential addition of Drug Substances and excipients in a specific order to achieve a homogeneous and consistent formulation prior to filling (into vial or syringe) เพื่อศึกษาถึง Immunogenicity และ ความคงตัวของ hexavalent combination โดยมีประวัติการศึกษาใน paediatric vaccines ดังนี้:

- Especially liquid combination vaccines such as Tetravac (DTaP-IPV) vaccine and Pediacel (DTaP-IPV-PRP-T) vaccine;
- Reconstituted combination vaccines such as Pentavac (DTaP-IPV//PRP-T) vaccine;
- Act-Hib (Hib) lyophilized vaccine indicated for the active immunization for prevention of invasive Haemophilus influenzae type b disease

การ development จะเน้นพิจารณาและศึกษาจาก:

- The composition in terms of Drug Substances concentrations and adjuvant was defined to allow the expected protection i.e.คือความสามารถของ Drug substance ที่สามารถไปถึง Target และความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน
- The excipients composition was specifically studied and defined to find the best compromise to satisfy two opposite quality attributes: to ensure a minimal PRP-T adsorption level while maintaining a maximal HBsAg adsorption level (without impacting the depolymerized PRP level (> 20%));
- The sequence order for the addition of the Drug Substances and excipients was also specifically studied to establish favorable conditions to ensure the targeted level of Drug Substances adsorption onto the adjuvant over the combination shelf-life.

ในระหว่าง 6 ปีที่มีการพัฒนาโดยศึกษาใน batches ขนาด lab-scale (100 mL and 555 mL) ถึงขนาด industrial scale (50 L to 250 L) รวมถึงการพัฒนาการ Formulation ในหัวข้อต่างๆดังนี้

- The aluminium hydroxide content; these previous experiences, sanofi pasteur has fixed the aluminium content at 0.6 mg per dose, and find a suitable excipient composition able to maintain both a low PRP-T adsorption level and a high HBsAg adsorption level.
- Active ingredients concentrations;
- The level of adsorption of the Drug Substances onto the aluminium hydroxide gel;
- The ionic environment (e.g. excipients composition and buffer composition)

• The blending process, including the sequence of the Drug Substances introduction during blending and the pre-adsorption of the HBsAg when preparing the Final Bulk Product. Sequence Order of Drug Substances, Excipients Addition and Pre-Adsorption of
HBsAg ซึ่งเป็นตัวแรกที่ combined with the aluminium hydroxide. จากนั้นเป็น PDT and PTT (PTxd and FHA จะทำการ adsorb กับ aluminium hydroxide ก่อนนำมา Formulate) และ IPV ตัวสุดท้ายคือ PRP-T ละลายใน phosphate buffer and essential amino acids solution ผลการศึกษา % Adsorption levels ทั้ง HBaAg, PDT, PTT, PTxd และ FHA และปริมาณ Ag ที่ไม่ Adsorb ได้แก่ IPV และ PRP ศึกษาใน Final Bulk Product Lots Produced at 555 mL Scale และ Drug Product Lots Produced at 555 mL Scale (Filled in Vials) ไม่มีผลการศึกษาใน Syringe container ผลการศึกษาเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

Manufacturing Process of the Drug Product

Manufacturing Process Development for the Preparation of the Final Bulk Product and the Filled Product

Batch size:

- Batch size of Hexaxim Final Bulk Product (FBP) The batch size of the Final Bulk Product is 50 L to 250 L.

- Batch size of the Hexaxim Filled Product (FP): A FBP batch at the maximum 250 L may be filled to provide theoretically a total of:

• 500 000 vials which may correspond to one or several FP batches of variable size depending on the production equipment capacity;

• Or 500 000 syringes which may correspond to one or several FP batches of variable size depending on the productionequipment capacity.

Quality Control of the Drug Product

The control of the drug product complies with European requirements.
The tests and methods used to control the Final Bulk Product (FBP) and the Filled Product (FP). Most Analytical Procedures for FBP and FP testing are compendial methods and are in line with Ph. Eur. requirements. Since all in vivo assays are compendial methods, they were not specifically validated for Hexaxim release testing for ethical reasons. Compendial tests for osmolality and bacterial fungal sterility (FBP) as well as pH and bacterial fungal sterility have been validated. Non compendial tests (Free formaldehyde content; Non-adsorbed PRP/Depolymerized PRP; Percent adsorption - Diphtheria toxoid (Rocket); Percent adsorption - Hepatitis B (ELISA); Hepatitis B In Vitro Relative Potency (IVRP) and D-antigen content (for FBP stage) as well as Aluminium content and Identity tests (for FP) were validated according to ICH Q2 (R1).

Initial formulation batch analysis data for 4 FBP lots and 7 FP lots were presented. For the optimized formulation batch analysis data for 6 FBP and 6 FP lots (vials and syringes) are available. The results presented demonstrate that all batches from the initial and optimized formulation comply with the defined specifications and therefore fully support manufacturing consistency. The justifications of the release profile for FBP and FP commercial batches and its associated specifications are based on international requirements (Ph. Eur. monograph 2067, Ph. Eur. monograph 0153 and TRS 927), statistical analysis of batch results and the company's experience with licensed vaccines such as Tetravac (DTacP-IPV), Pediacel (DTaP-IPV-PRP-T) and Act-Hib. All results obtained with the optimized formulation batches meet these acceptance criteria. Diphtheria potency limits set for Hexaxim are: Activity ≥ 30 IU/dose, Lower fiducial limit (P = 0.95) of the estimated potency ≥ 20 IU/dose. The diphtheria component of Hexaxim therefore is considered compliant with both WHO (Technical Report Series No. 927,2005) and Ph. Eur. requirements [monograph 01/2008:2067, Diphtheria, Tetanus, Pertussis (Acellular, component), Hepatitis B (rDNA), Poliomyelilitis (inactivated) and Haemophilus influenza type b conjugate vaccine (Adsorbed)].

Stability of the Drug Product

Stability studies were conducted to support the comparability of the initial and the optimized formulation.

In general, the results of the five stability studies support the shelf-life of the FBP and the FP and the storage conditions as defined in the SPC.

The studies were conducted using FBP manufactured at Marcy l'Etoile (MLE) and Drug Product filled in single-dose syringes without needle at MLE and in single-dose vials at Val de Reuil (VDR) and Anagni. The design and test program of the stability studies was in general **satisfactory and** the FBP and FP met the relevant requirements supporting the proposed shelf-life of the vaccine of 36 months when stored at +5°C ± 3°C.

BASED ON THE RESULTS THESE QUALITY ASPECT COULD BE ACCEPTED

2.3 Non-Clinical aspects

การศึกษาทาง Non Clinic ผู้ผลิตอ้างอิงแนวทางศึกษาจาก

- WHO guidance on Nonclinical evaluation of Vaccines
- Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines, EMEA, CPMP/SWP/465/95

ข้อมูลทาง Non Clinic ผู้ผลิตได้มีการศึกษาดังนี้

1. Pharmacology

Primary Pharmacology Studies of Hexaxim

Study: Antigen Interference Study between HBSAg and PRT-T

Place: Naval Medical Research Institute (NMRI)

Species: Mice

2. Primary Pharmacodynamics มีการทำการศึกษาดังนี้

1. Diphtheria Potency in Guinea Pigs โดยการฉีดวัคซีนเพื่อศึกษา Potency ของAntigen แต่ละชนิด เช่นของ Diphtheria Toxoid เปรียบเทียบกับ reference vaccine
2. Tetanus Potency in Mice ศึกษาเพื่อหา Potency ของ Tetanus vaccine เปรียบเทียบกับ Tetanus reference standard
3. Pertussis Immunogenicity in Mice เปรียบเทียบ Acellular Pertussis กับ Reference vaccine
4. Activity of Pertussis Vaccine on bacterial Challenge in Mice ศึกษา Activity ของ Pertussis vaccine ต่อ Bacterial challenge (Bordetella pertussis) ใน mice
5. Poliomyelitis Immunogenicity in rats ศึกษา Poliomyelitis Immunogenicity ในหนู Rat เปรียบเทียบกับ reference vaccine
6. Haemophilus Immunogenicity in Mice ศึกษา Immunogenicity ในหนู mice
7. Hepatitis B Potency ศึกษาโดยการฉีด Hep B surface antigen เปรียบเทียบกับ reference vaccine

8. Primary Pharmacodynamics Immunogenicity of - Hepatitis B and Haemophilus Influenzatype b antigens within Hexaxim (in mice) เพื่อศึกษาดูว่ามีการรบกวนกัน (Antigenic Interference) ระหว่าง HBsAg กับ PRP-T (Polyribosyl Ribitol Phosphate conjugated to the tetanus protein) เพื่อดูว่า Humoral response ของแต่ละ Antigen เป็นอย่างไร จากการศึกษาไม่พบการรบกวน Anti-PRP IgG response

- Secondary Pharmacodynamics ไม่ได้ทำการศึกษา
- Safety Pharmacology ไม่ได้ทำการศึกษา
- Pharmacodynamic Drug Interactions ไม่ได้ทำการศึกษา

การศึกษาทั้งหมดข้างต้นมีผลการศึกษาพบว่าวัคซีนนี้มีผลการกระตุ้นการเกิดภูมิคุ้มกันที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การศึกษา Toxicology

General Toxicity มีการศึกษา

1. Repeat dose toxicity มี 2 การศึกษาในกระต่ายเพื่อดู Systemic toxicity และ local tolerance และการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบ Humoral immune response (HIR) โดยการฉีดวัคซีน เทียบ

กับ saline การศึกษานี้ดำเนินการตาม EMA, WHO guideline การศึกษาพบว่าไม่มี Premature death ไม่มี adverse clinical signs ไม่มีผลต่อ body weight, food consumption, Local tolerance study ในกระต่ายที่ตำแหน่งที่ฉีดวัคซีนในสัตว์ทดลองบางตัวพบ minimal -mild erythema/ edema ใน 2 dose สุดท้าย ซึ่งเป็น typical host reaction ต่อสารแปลกปลอม เป็น local inflammation มี persistent changes เช่น macrophage aggregates บริเวณที่ฉีด

2. Genotoxicity studies ไม่มีการศึกษาเนื่องจากส่วนประกอบของวัคซีนไม่มี new raw material, new adjuvant ไม่มีสารตกค้างในกระบวนการผลิต

ซึ่งเมื่อผู้เชี่ยวชาญได้รับข้อมูลจากผู้ประกอบการและการชี้แจงแล้วมีความเห็นยอมรับได้

BASED ON THE STUDIES DESIGN AND RESULTS THESE NON-CLINICAL ASPECT COULD BE ACCEPTED

2.4 Clinical aspects

การศึกษาทางคลินิกประกอบด้วยการศึกษา **EFFICACY & SAFETY** ดังนี้

Clinical efficacy

Primary vaccination studies

Phase II:

-
- **Study A3L02 in Argentina also uses acellular Pertussis and inactivated Polio components in the comparator. No BCG was given at birth. Corresponding booster study: A3L16.**

  Non-inferiority for all valences.

Phase III:

- **Study A3L04 contains one study arm with infants that have been vaccinated against Hepatitis B at birth (Peru sites only). Here again OPV is used in the comparator group. This is the largest study with safety as primary objective.**

  Descriptive immunological results for HepB in subset (no HepB at birth) only.
- **Study A3L10 is the only European study. It uses acellular Pertussis and inactivated Polio components in the comparator. BCG vaccination at birth was allowed. Corresponding booster study: A3L22.**

Regarding primary vaccination: Non-inferiority for HepB, descriptive immunological results for all other valences.

- Study A3L11 assessed consistency in the production of Hexaxim. Here, three batches were tested against the comparator Infanrix hexa (acellular Pertussis and inactivated Polio components). BCG vaccination at birth had been given. Corresponding booster study: A3L21.

  Regarding primary vaccination: Non-inferiority for D, equivalence testing for3 batches descriptive for all antigens.

- Study A3L12 aimed to assess the concomitant use of Hexaxim with Prevenar 7. It used the comparator Infanrix hexa (acellular Pertussis and inactivated Polio components). The impact of the concomitant use on the Prevenar serotypes was not assessed.

  Non-inferiority for HepB and PRP, descriptive immunological results for all other valences except Prevenar-serotypes.

- Study A3L15*ps* uses OPV and a whole-cell Pertussis containing vaccine as a comparator to Hexaxim. It is the only study in Africa. BCG vaccination at birth had been given. Corresponding booster study: A3L15*bo.*

  Regarding primary vaccination: Non-inferiority for D, T, HepB, PRP + Polio, descriptive immunological results for FHA and PT.

- Study A3L17 assessed the immunogenicity and safety of Hexaxim close to the end of shelf-life. Additionally, the immunological effect of the local practice, to vaccinate pregnant women against Diphtheria and Tetanus, on infants in Peru is looked at. The comparator Infanrix hexa (acellular Pertussis and inactivated Polio components) is used. BCG vaccination at birth had been given.

  Non-inferiority for HepB only, descriptive immunological results for D and PRP.

Booster studies

Phase I

- In A3L01, is a small study (Phase I), where a booster of Hexaxim has been compared to a booster of Hexavac.

  Descriptive immunological results for all valences pre- and post-booster.

Phase II

- In study A3L16, follow-up study of A3L02 (Hexaxim vs. Pentaxim +Engerix), the booster was Pentaxim.

Descriptive immunological results for all valences pre- and post-booster.

Phase III

- In study A3L22 it has been evaluated whether a booster with Hexaxim is similarly immunogenic even if the priming has been done with Pentaxim plus Engerix.

  Descriptive immunological results for all valences pre- and post-booster.

- In A3L21 it has been evaluated whether a booster with Hexaxim is immunogenic even if the priming has been done with Infanrix hexa.

  Descriptive immunological results for all valences pre- and post-booster.

- In A3L15 4 doses of Hexaxim have been compared to 4 doses of CombActHib + 3 doses of Engerix (no Engerix booster in the second year of life). Concomitant use of MMRV.

  Descriptive immunological results for all valences pre- and post-booster.

Immunogenicity was used as a primary endpoint in all 12 studies, except for A3L04 (safety study).

Seven studies have been performed in healthy infants (priming) and 5 in healthy toddlers (booster studies).

Clinical safety

In view of the study design, safety was a secondary objective for all clinical studies submitted, except study A3L04 where the safety was a primary objective.

Patient exposure

Overall there were 12057 doses administered in these studies:

- 10546 doses were administered to 3631 infants in the 7 primary series trials. Of them, 3434 subjects received a full 3 doses Hexaxim primary series, and completed the studies.
- 1511 doses were administered to toddlers in 4 booster studies. Of the 1511 subjects who received a booster dose, 1243 had been primed with Hexaxim.

BASED ON THE STUDIES DESIGN AND RESULTS THIS CLINICAL ASPECT COULD BE ACCEPTED

2.5 Pharmacovigilance (If applicable)

N/A.

2.6 Overall Conclusion on Risk/benefit Assessment and Recommendation

Efficacy

ผลการศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีน Hexaxim พบว่ามีการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ยอมรับได้

Safety

ผลการศึกษาด้านความปลอดภัยพบว่ามีความปลอดภัย

Benefits & Recommendations

เมื่อประกอบกับข้อมูลที่ชี้แจงพิจารณาแล้วเห็นว่าวัคซีนนี้มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยเพียงพอ พิจารณาแล้วมีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยง แต่อย่างไรก็ตามผู้รับอนุญาตต้องดำเนินการติดตามความปลอดภัยตามที่แนบมา