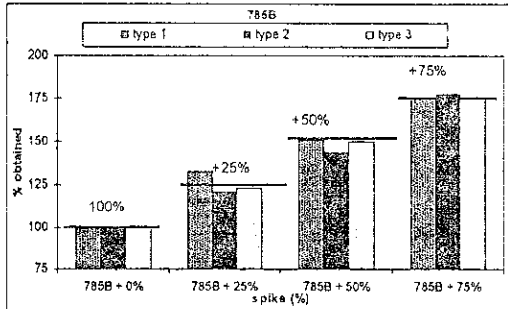


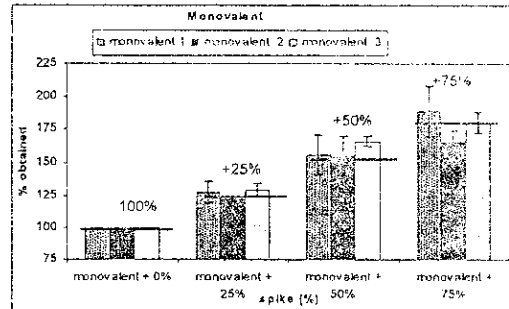


Appendix 3: Accuracy results

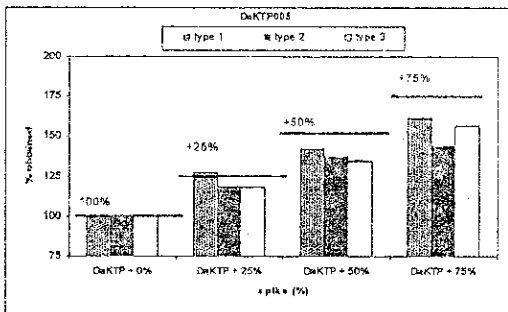
785B



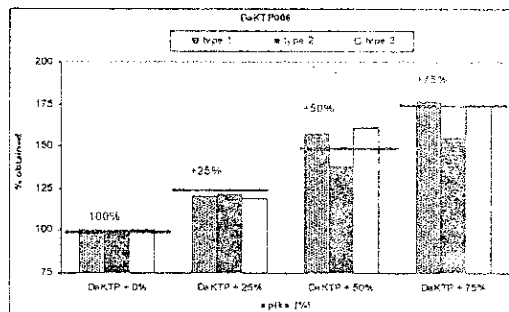
Monovalent



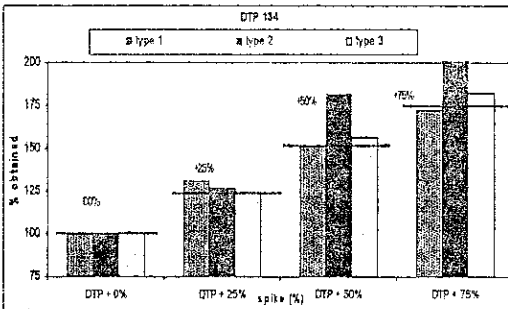
DaKTP 005



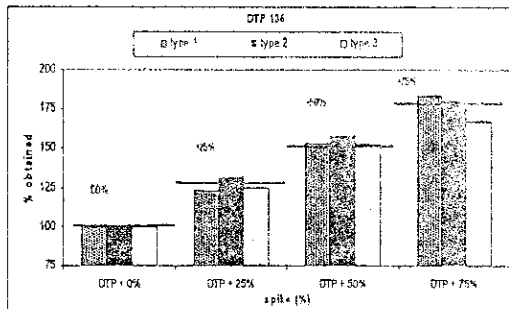
DaKTP006



DTP134

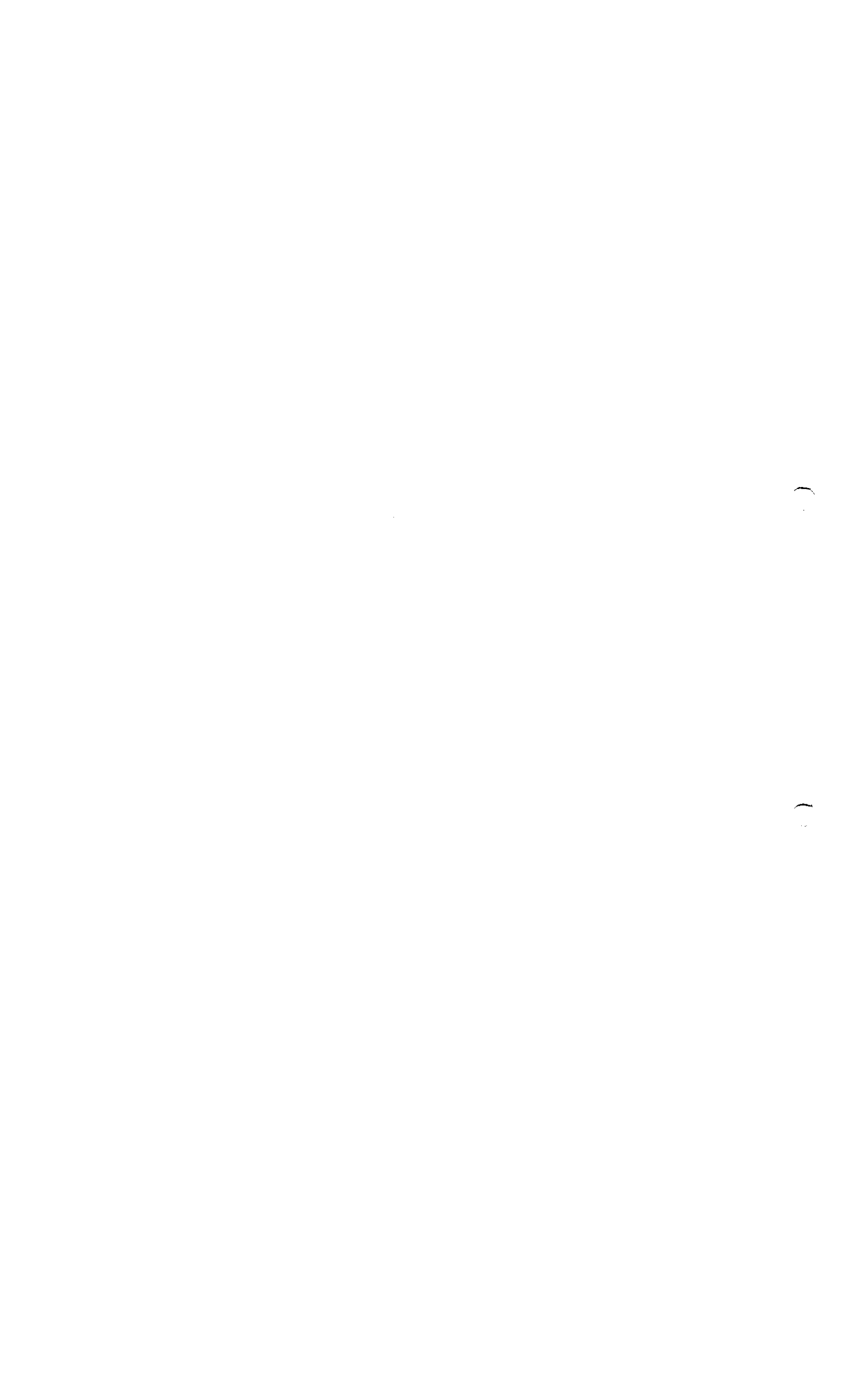


DTP 135



CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Sub-Directora Técnica  
 M.O. 15.148

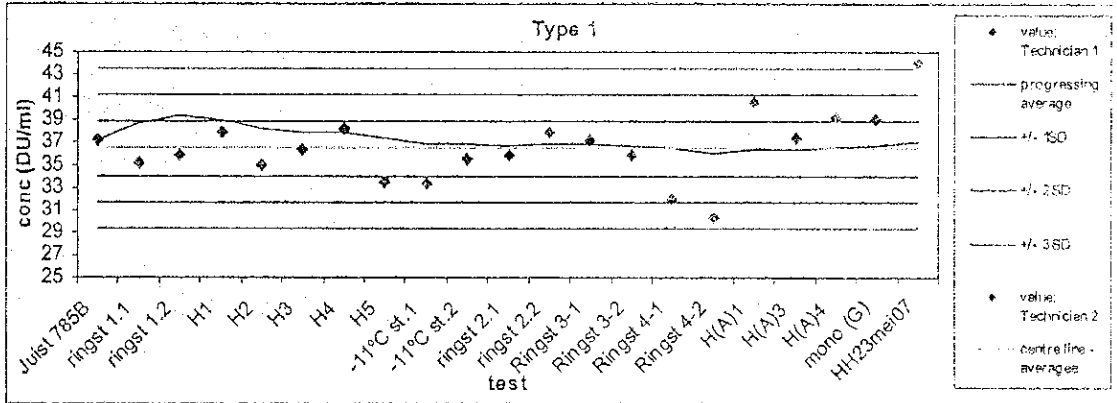
CAIF  
 Comisión Argentina de  
 Investigaciones Científicas y S.  
 Dra. María Bernarda Belay  
 Argentina  
 OMI 153/9925



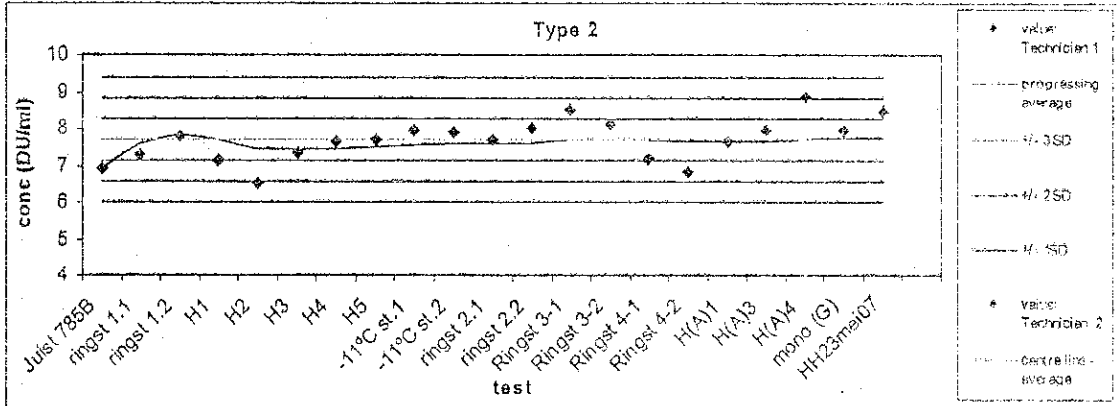


Appendix 4: Trendanalysis of 785B during the validation study

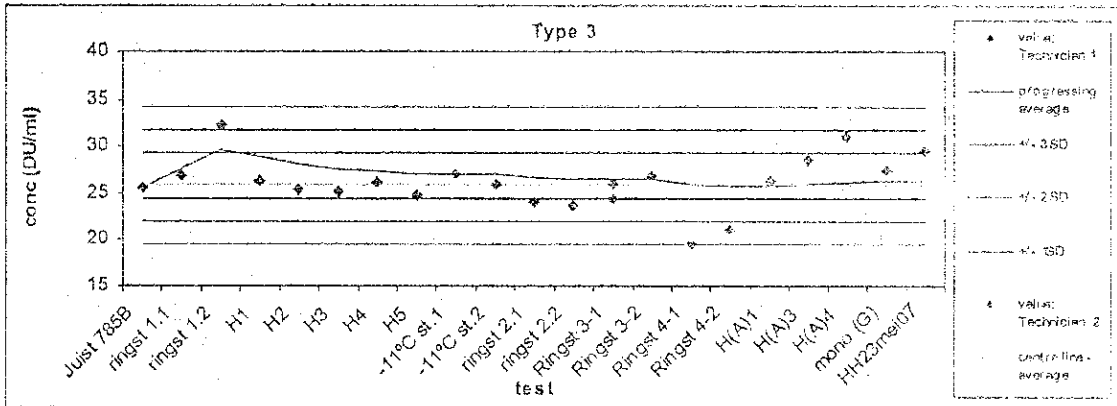
Type 1



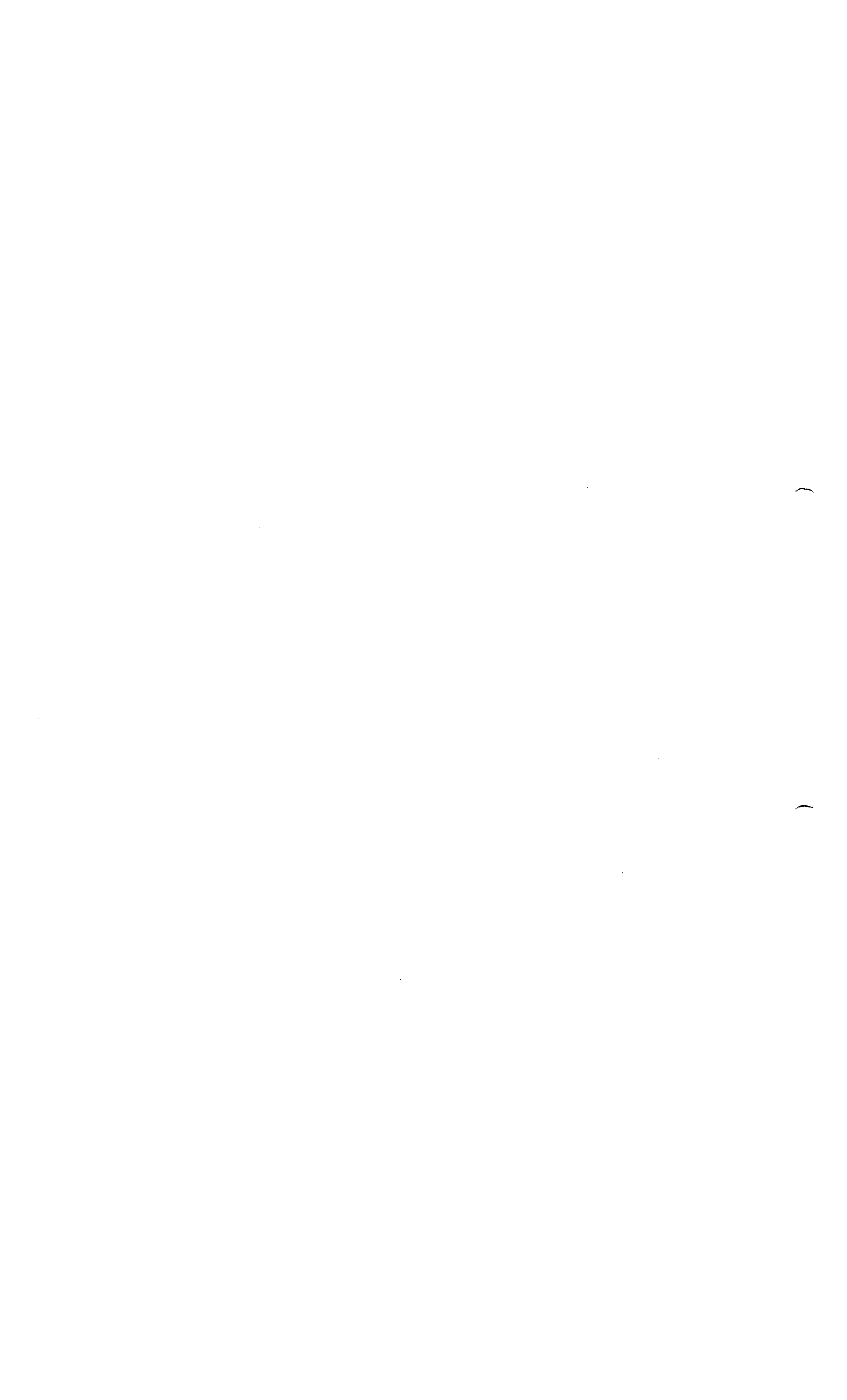
Type 2



Type 3



CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Coordinadora Técnica  
 M.N. 5.148-2/2008  
 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas  
 CONICET  
 Dra. Mónica Belay  
 Dra. Mónica Belay  
 DNI 7.772.235

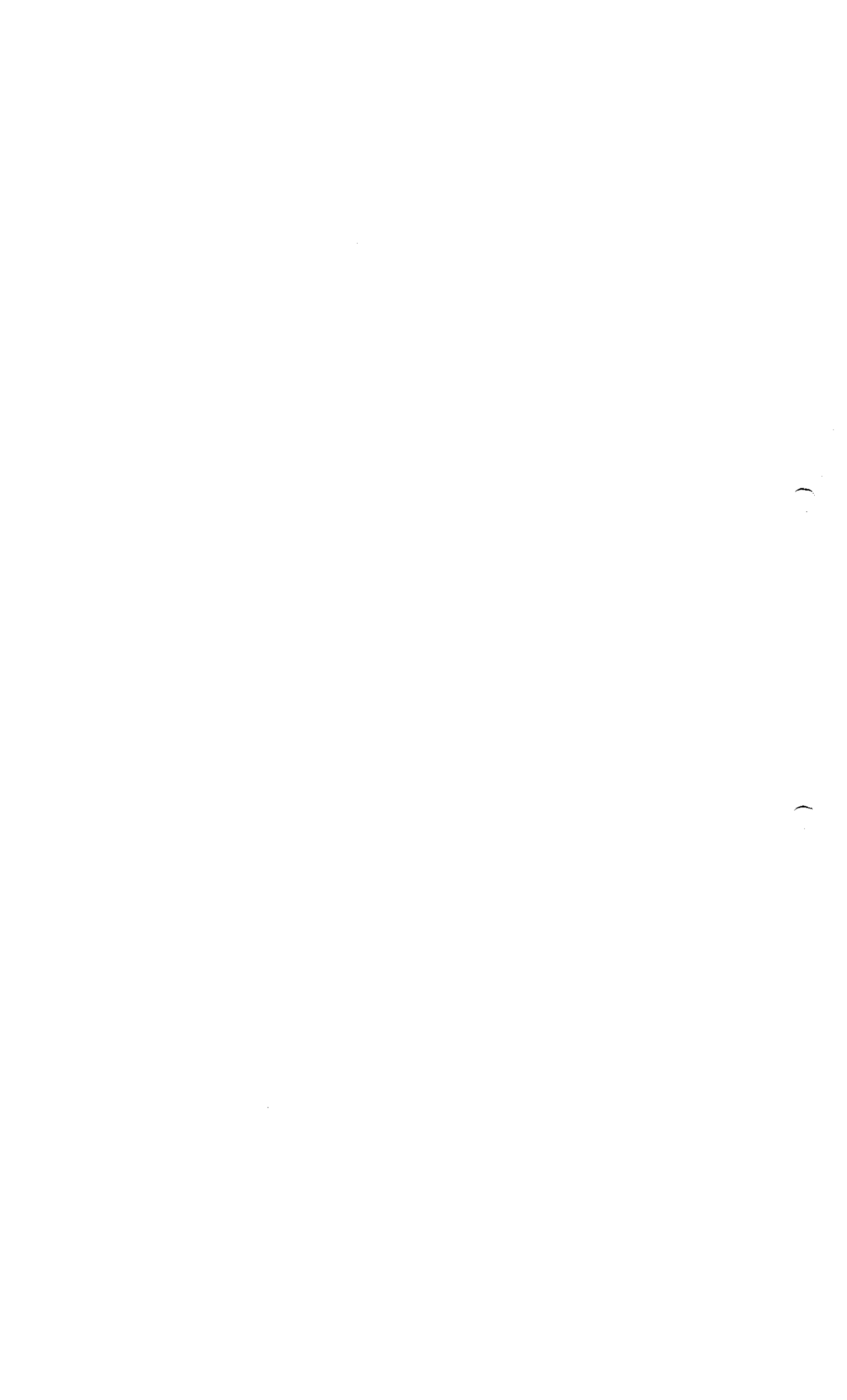




Appendix 5: Internal Standard: Comparison between the new method and the old method (on the basis of the most recent results)

	Type 1		Type 2		Type 3	
	New Method (DU/ml)	Old Method (DU/ml)	New Method (DU/ml)	Old Method (DU/ml)	New Method (DU/ml)	Old Method (DU/ml)
	37.2	37.1	6.9	7.9	25.6	27.2
	35.1	37.2	7.3	8.1	26.9	27.8
	35.8	36.4	7.8	8.2	32.3	26.5
	37.8	37.6	7.1	8.1	26.4	26.0
	35.1	37.9	6.5	7.7	25.4	25.8
	36.4	37.3	7.3	8.0	25.1	28.9
	38.1	36.7	7.7	8.3	26.1	25.2
	33.6	36.5	7.7	7.5	24.7	23.5
	33.4	36.8	7.9	8.0	27.0	23.9
	35.4	36.1	7.9	8.5	25.9	26.7
	35.8	34.2	7.7	7.9	24.0	25.4
	37.8	34.5	8.0	8.0	23.7	24.0
	37.2	37.0	8.5	7.7	25.9	24.5
	35.9	37.9	8.1	8.2	26.8	25.6
	32.0	36.2	7.2	8.0	19.5	26.1
	30.4	35.9	6.8	8.1	21.1	23.9
	40.4	36.3	7.7	8.3	26.2	25.6
	37.3	35.3	8.0	8.0	28.5	25.3
	39.2	36.8	8.9	8.0	31.1	25.6
	39.0	34.7	8.0	8.1	27.4	25.3
	44.0	36.6	8.5	8.3	29.6	25.8
Average	36.5	36.4	7.7	8.0	26.2	25.7
VC%	8.1	2.8	7.6	2.9	11.0	5.1
F-Test	0.00		0.00		0.00	
T-Test	0.91		0.06		0.49	

CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Co-Directora Técnica  
 M.A. 13-148  
 CAIF SA  
 Companhia Análises de  
 Investigaciones Farmacológicas S.A.  
 Dra. María Bernarda Belay  
 Analista  
 ONI 25378975





Report	RAP-20563 Version no.: 1
Retrospective validation of the sterility test	Page 1 of 15

**General information**

Old code N/A  
 Expiry period 25 years  
 Management Document management  
 Key words Sterility, retrospective, validation, growth promotion, antimicrobial activity

**Authorisation**

This document has been authorised by the document management system Quality On-line. The authorisation process was carried out according to procedure SOP-20091.

This document was compiled by ABC staff members L. Levels/J. Koopman

	Position	Name	Signature	Date
For consent	Document manager			

Approved by

**Distribution**

Hard copy to

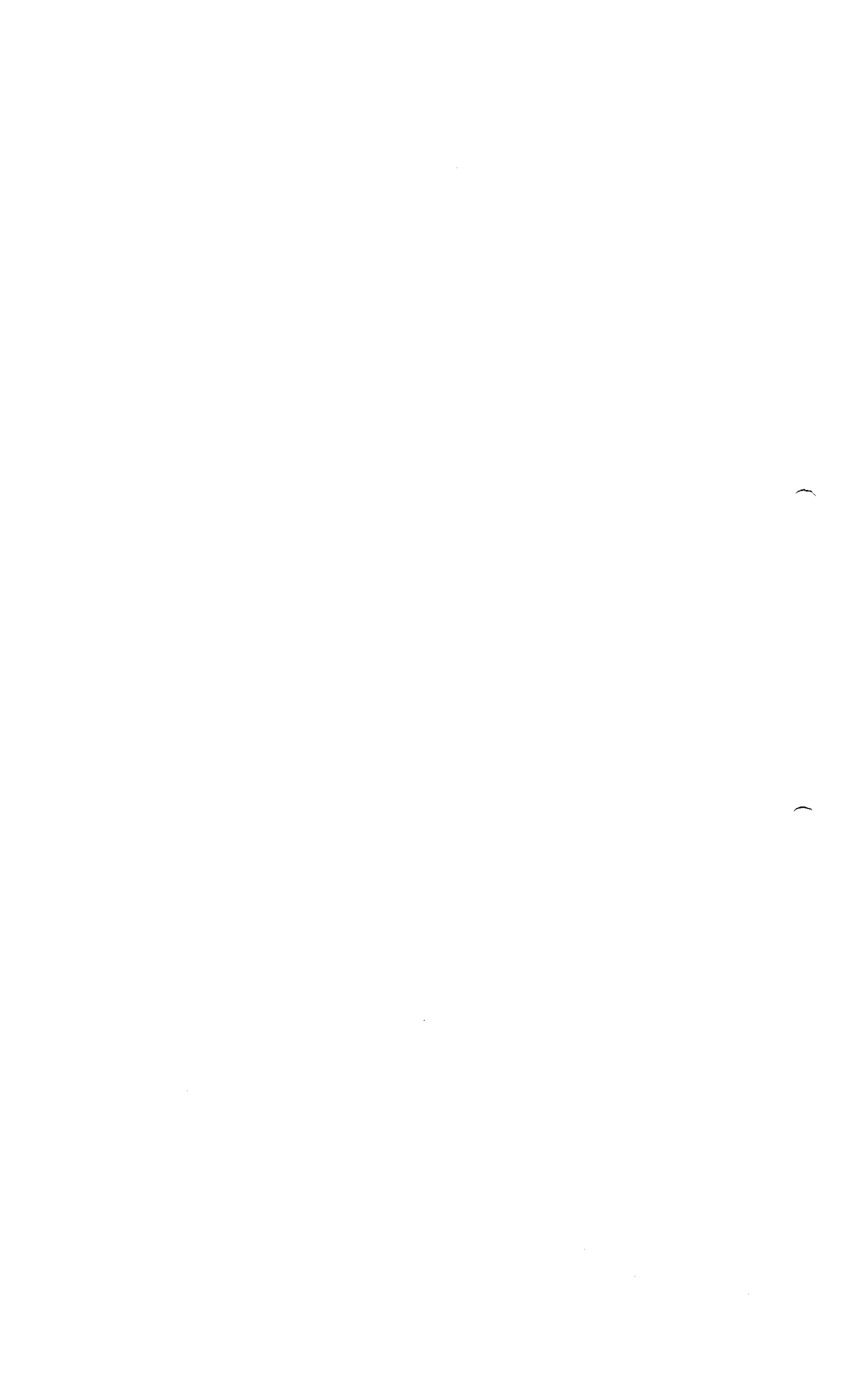
**Amendment history**

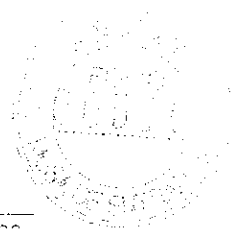
Version	Date	Amended
1		New document

CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Co-Directora Técnica  
 M.N. 15.148

*(Handwritten signature)*

CAIF  
 Compañía Argentina de  
 Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
 Dra. María Bernarda Belay  
 apoderada  
 ONI 213/2025





1 Introduction ..... 3

1.1 Sterility testing ..... 3

1.2 Growth promotion testing ..... 3

1.3 Antimicrobial activity ..... 3

2 Identification ..... 4

2.1 Reference for method/SOP ..... 4

2.2 Recommendation for retrospective validation ..... 4

2.3 Review of methodology content and (current) validity ..... 4

2.4 Requirements and criteria ..... 5

2.5 Abbreviations ..... 5

3 Results ..... 5

3.1 Specificity ..... 5

3.1.1 Media ..... 5

3.1.2 Antimicrobial activity ..... 6

3.1.3 Test strains (control organisms) ..... 6

3.2 Detection limit ..... 6

3.3 Continuity ..... 7

4 Discussion ..... 8

4.1 Specificity ..... 8

4.2 Detection limit and continuity ..... 8

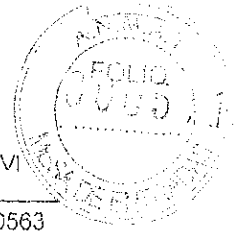
5 Conclusion ..... 8

6 Appendices ..... 8

CAIF SA  
 Dra. Bernarda Balsey  
 Inspectora Técnica  
 M.H. 45.146

CAIF  
 Companhia de Investimentos e Serviços  
 Dra. Maria Beatriz Balsey  
 Inspectora  
 M.H. 45.146





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 3 of 15

## 1 Introduction

The sterility testing carried out within the LCB is described in a number of different documents that are closely related to one another and that form a single entity. For this reason all procedures have been incorporated in a single retrospective validation report.

### 1.1 Sterility testing

The sterility testing can be subdivided into direct inoculation (ANA-10157) and membrane filtration (ANA-10158). A number of controls should be complied with before the tests are declared valid:

- The growth promotion testing should demonstrate that the media are suitable for the growth of aerobic and anaerobic bacteria
- The negative controls should display no growth and be treated in exactly the same manner as the product being tested
- Conditions in the isolator should be controlled and should comply with regulations (ANA-10058)
- The product to be tested should be proven negative for antimicrobial activity.

Should these conditions not be met then the test is declared invalid and a repeat test must be carried out.

### 1.2 Growth promotion testing

The growth promotion test should show that the media used for sterility testing (Tryptone Soya Agar, Thioglycollate, Clausen) are suitable for the growth of aerobic and anaerobic bacteria and fungi. The following EP-prescribed test strains are used:

- Staphylococcus aureus
- Bacillus subtilis
- Pseudomonas aeruginosa
- Clostridium sporogenes
- Candida albicans
- Aspergillus niger

The test strains are prepared according to ANA-10068 and used to inoculate media at a concentration of 10-100 CFU. In practice, the media should comply with the following criteria:

- Visible bacterial growth within a maximum of 3 days
- Visible fungal growth within a maximum of 5 days
- Upper limit on count plates should be 150 CFU maximum
- For a lower limit less than 30 CFU per count plate, the test should be repeated to check for growth in the liquid medium

In practice, the sterility and growth promotion tests are carried out in parallel. Should the growth promotion test not meet all criteria, both tests should be repeated.

### 1.3 Antimicrobial activity

Before being tested for sterility, each product should be tested for antimicrobial activity in the applied media. In some cases, a product can have an effect on the growth promoting properties of the media. A growth-inhibiting effect renders the results of a sterility test unreliable.

Since each new product should be proven negative for antimicrobial activity before testing for sterility, this procedure can itself be considered part of product validation.

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Comisión Argentina de  
Investigaciones Científicas  
Dra. María Bernarda Belay  
APR 1983  
DNI 20.148.23





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 4 of 15

Growth-inhibiting activity is determined at least *once* for each type of product (final lot/ final bulk) and repeated whenever the composition of the product or the composition (volume) of the relevant test media is changed.

## 2 Identification

### 2.1 Reference for method/SOP

The methods are described in the following protocols:

- EP §2.6.1. Sterility
- ANA 10058: Antimicrobial activity in presence of product (AAP)
- ANA 10157: Sterility testing
- ANA 10158: Sterility testing by membrane filtration
- ANA 10086: Growth promotion testing
- ANA 10065: Preparation of test suspensions

### 2.2 Recommendation for retrospective validation

The test method is limiting and compendial and has been carried out within the LCB since the early 1990's. It can be validated retrospectively. Since the validation is retrospective, there is no reference to a plan.

### 2.3 Review of methodology content and (current) validity

Compared to the procedure described in the EP, the applied method differs in three ways:

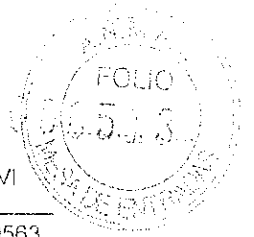
- For practical reasons, a distinction is made between  $<2$  ml and  $\geq 2$  ml samples. This is done so that the well-established sampling regimen within the LCB need not be changed, enabling the use of old validation data for new results. In addition, a larger sample volume aids visibility of the samples during the procedures in the isolator. Use of a larger sample volume has no effect on the test result.
- Clausen medium is used instead of TSB when Merthiolate is present in the product.
- A maximum of 150 CFU is maintained when using the test strains. Given the range in results obtained, this limit is more easily maintained than the EP recommendation of 10-100 CFU. A 20-50% range in results is acceptable for microbiological culture methods.

The EP does allow some deviation from the recommended procedure, certainly if this results in direct improvements and therefore in (further) improvement in the reliability of the results. N.B. Authorisation of the relevant ANA's implies inherent approval of this deviation from EP recommendations.

CAIF SA  
Dra. Bernyda Belay  
Directora Técnica  
M.S. 15.146

CAIF  
Compañía Colombiana de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. Bernyda Belay  
Asesorada  
del MINSUB





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 5 of 15

## 2.4 Requirements and criteria

Since the sterility testing within the LCB is described in a number of different documents, all these procedures are to be included in a single validation. The test analysis follows the procedures described in the European Pharmacopoeia, meaning that the tests are compendial, that they are limiting and that they can be validated retrospectively. The aim of a retrospective test is to guarantee the continuity of a testing method and thereby its consistency. In addition, data are presented that show that the analysis also complies with the ICH parameters for a limiting test regarding specificity and detection limit

## 2.5 Abbreviations

LCB	- Laboratory for the Control of Biological products
ICH	- International Conference on Harmonisation
EP	- European Pharmacopoeia
TSB	- Tryptone Soya Broth
Thio	- Thioglycollate
ATCC	- American Type Culture Collection
AAP	- Antimicrobial activity in presence of product
CFU	- colony-forming unit
m.o.	- microorganisms
RIA	- request for amendment

## 3 Results

### 3.1 Specificity

The specificity of the analysis can be separated into three components:

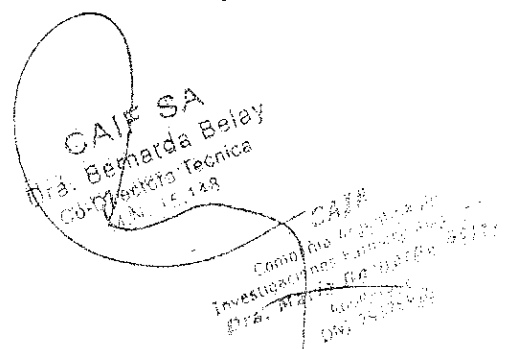
- specificity of the applied media
- specificity/identity of the test strains
- the presence during analysis of antimicrobial activity from the vaccine itself, which might influence the specificity of the media/m.o.

N.B. The specificity (composition) of the applied media and the test strains is registered in the European Pharmacopoeia.

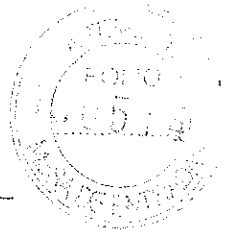
#### 3.1.1 Media

The applied media have a standard composition in accordance with the EP. The specificity of the media used in the sterility testing implies that the media are chosen to allow the isolation of a broad range of aerobic and anaerobic m.o. The descriptions of the applied media demonstrate that this is the case:

- Tryptone Soya Broth (TSB) – a general medium containing two peptones that promotes the growth of a wide range of microorganisms (m.o.). Primarily suitable for the culture of aerobic m.o., but also suitable for the culture of anaerobic m.o. when used under anaerobic conditions.
- Thioglycollate (Thio) – primarily suitable for the culture of anaerobic m.o., but aerobic m.o. will also grow in this medium.
- Clausen – a medium containing neutralising components and essential metals for the recovery of anaerobic spore-forming bacteria; specially developed for products containing Merthiolate.







Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 6 of 15

## 3.1.2 Antimicrobial activity

Before a product can be tested for sterility, it should first be shown to contain no antimicrobial activity. The products shown in table 1 are some of those which have undergone testing for antimicrobial activity and for which the test specificity has been analysed.

Table 1: results of AAP testing

Culture temp.	20 - 25 °C										30 - 35°C			
	A					B					C	D	E	F
Strain	TSB		Claus		TSB		Thio		Claus		Thio			
Culture days	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3			
DTP	0		*	*	0		*	*	*	*	C	0	0	0
DKTP	0		*	*	0		*	*	*	*	0	0	0	0
BMR	0		*	*	0		*	*	*	*	0	0	0	0
Polio	0		*	*	0		*	*	*	*	0	0	0	0
BCG	0		*	*	0		*	*	*	*	0	0	0	0
Acell. pertussis		0	*	*	0		*	*	*	*	0	0	0	0
Tetanus	S		0		S		S	S	S	S	0	0	0	C

A - Candida albicans  
 B - Aspergillus niger  
 C - Staphylococcus aureus  
 D - Clostridium sporogenes  
 E - Pseudomonas aeruginosa  
 F - Bacillus subtilis  
 O - no inhibition  
 M - growth inhibited  
 S - growth strongly inhibited  
 \* - N/A

## 3.1.3 Test strains (control organisms)

Six different test strains are used as positive controls within the AAP and growth promotion tests. Use of these strains guarantees test-specificity for a wide range of m.o.

All six strains are EP-approved and have an ATCC number (see table 2).

Before routine use in analysis, test suspensions are made according to ANA-10065. As an extra control, these suspensions are checked for their identity to verify that the correct strains are in use. See appendices 1 to 6 for the results obtained.

Table 2: Control organisms for sterility testing

Microorganism	ATCC no.	Description
Candida albicans	10231	Yeast
Aspergillus niger	16404	Fungus
Staphylococcus aureus	6538	Aerobic gram-positive bacteria
Clostridium sporogenes	19404	Anaerobic spore-forming, gram-positive bacteria
Pseudomonas aeruginosa	9027	Aerobic gram-negative bacteria
Bacillus subtilis	6633	Aerobic spore-forming, gram-positive bacteria

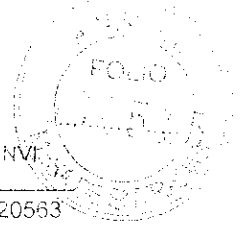
## 3.2 Detection limit

For a limiting test, the detection limit should be validated. During sterility testing, the detection limit of each separate test is determined using a growth promotion test. This demonstrates that the applied media are able to detect bacteria in the range of 10 - 150 CFU. Should the growth promotion test not fall within this range, then the whole test is declared invalid and a repeat test carried out using a different batch of medium.

CAIF SA  
 Dra. Bernárdia Belay  
 Co-Directora Técnica  
 M.º 15.146

CAIF  
 Comp. de Argentina de  
 Investigaciones Farmacológicas S.A.  
 Dra. Bernárdia Belay  
 Productora  
 M.º 20.180.05





3.3 Continuity

Continuity can be demonstrated using results obtained with the test strains in growth promotion tests (in the period Jan. 2002 - Sept. 2003). At the start of the growth promotion test, two count plates are inoculated in order to confirm the number of microbes in the test suspensions. The average count from the count plates is shown in figures 1 to 6 for each strain.

Figure 1: Counts for Staphylococcus aureus

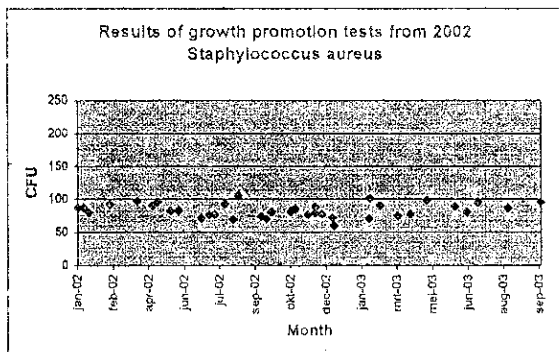


Figure 2: Counts for Bacillus subtilis

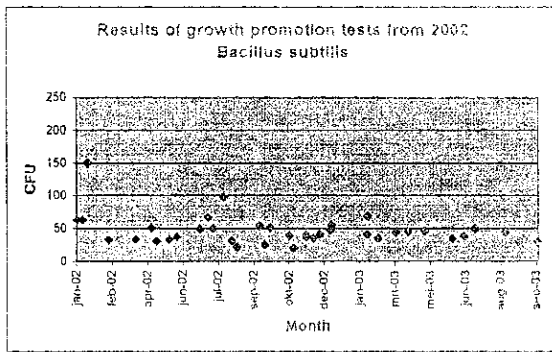


Figure 3: Counts for Candida albicans

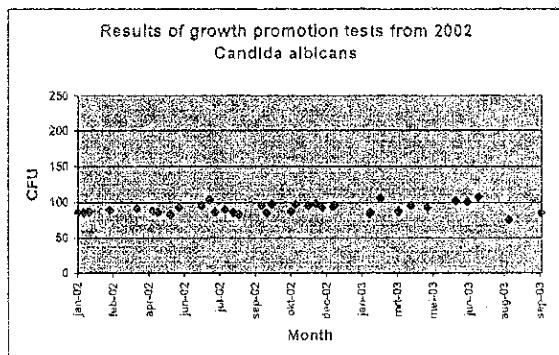


Figure 4: Counts for Clostridium sporogenes

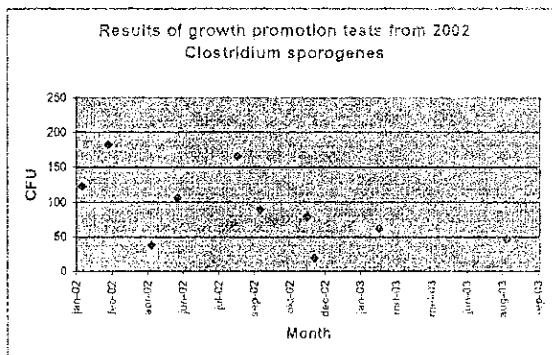


Figure 5: Counts for Pseudomonas aeruginosa

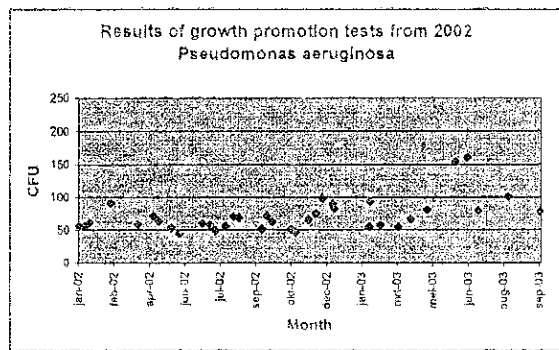
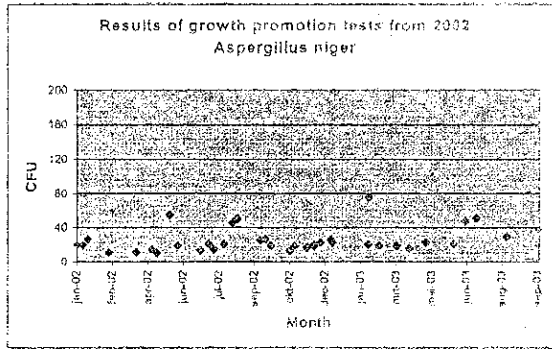


Figure 6: Counts for Aspergillus niger



CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 16.146

CAIF  
Comisión Asesora de  
Investigación Científica y  
Dra. María Mercedes de  
la Cruz  
16/09/2003





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 8 of 15

## 4 Discussion

### 4.1 Specificity

All six of the test strains demonstrated abundant growth in the presence of products with preservatives (DKTP, DTP, Polio, Acellular pertussis) and products without preservatives (BCG, BMR), in all tests. This growth was visually no different to the incorporated controls both in TSB at 20-25°C and in Thio at 30-35°C. The controls consist of the test strains grown in TSB and Thio in the absence of product.

In the Tetanus vaccine, however, the presence of Merthiolate leads to growth inhibition in two of the six test strains: *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. Clausen medium can be used to replace TSB at 20-25°C to solve this problem since it has a neutralising effect on Merthiolate. Using this medium for sterility tests of Tetanus vaccines solves the problem of growth inhibition in *Candida albicans*; the growth of *Aspergillus niger* is however still inhibited. Despite further analysis of other media and the addition of Na-Thioglycollate to TSB medium at 20-25°C in an attempt to neutralize Merthiolate, a solution has not been found. For this reason, a request for amendment (RfA) has been instigated that states that the growth of *Aspergillus niger* may be left out of the results of AAP testing in the presence of Merthiolate.

Since this relates to only one of the six control organisms, and this microorganism is known to have tricky growth properties, we have no doubts as to the validity of the test. The addition of Merthiolate as a preservative for the Tetanus vaccine certainly reduces the chances of growth and presence of contaminating m.o. in the product. In an earlier version of the AAP test where Clausen medium was also applied, this problem did not present itself since at that time *Aspergillus niger* was not a test strain required by the EP.

### 4.2 Detection limit and continuity

For each separate test, the detection limit is determined in the growth promotion tests of the applied media. The use of the six test strains forms a basis for evidence of the continuity of the analysis. Figures 1 to 6 demonstrate the stability of the test strains during the period shown. In the graphs of the *Bacillus subtilis* trend line (one point) and the *Pseudomonas aeruginosa* trend line (two points), there are three points that deviate from the rest. In these tests, a double amount of test suspension was added by accident; they were however declared valid since the remaining controls were satisfactory.

The trend line for *Clostridium sporogenes*, cultured in an anaerobic medium, is more scattered. This strain spreads unevenly on the plate, making it difficult to count/estimate and therefore giving a wide range of results.

## 5 Conclusion

Based on the results of this retrospective validation of testing for the presence of contaminating microorganisms, as carried out within the LCB since the early 1990's, we can conclude that we have shown continuity of the analysis and have also shown a guaranteed consistency.

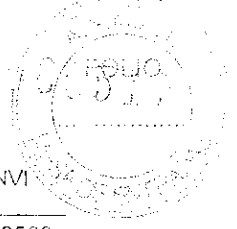
## 6 Appendices

Appendices 1 - 6: Identity of test strains

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. Bernarda Belay  
Montevideo  
Uruguay





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 9 of 15

## Appendix 1: Staphylococcus aureus



RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU  
 Laboratorium Infectieziektendiagnostiek en Screening  
 afdeling Bijzondere Bacteriële Determinaties

Laboratorium-administratie (uitslagen)  
 Afdeling : Bijzondere Bacteriële Determinaties  
 Hoofd : Dr. F.A.G. Reubsæet

tel.adm. 030 - 274 2169  
 tel.lab. 030 - 274 2014  
 tel.hfd. 030 - 274 2012

R.I.V.M.  
 LCB H023, Pb 97  
 J. Koopman  
 Postbus 1  
 3720 BA BILTHOVEN

naam aanvrager:

Bilthoven, 09.09.1999

Omschrijving : Kwal. controle vaccins

RIVM-monstercode: 1079900404  
 RIVM projectnr. : 101000  
 Datum ontvangst : 04.08.1999  
 Datum afname : 30.07.1999  
 Uw monsternummer: DET 99-190  
 Uw referentie :  
 Aard materiaal : cultuur uit onbekend materiaal

UITSLAG ONDERZOEK:

Staphylococcus aureus

Afgegeven door: Dr. F.A.G. Reubsæet

Telefonisch opvragen van uitslagen:  
 uitsluitend tussen 8.30 en 9.30 uur en tussen 15.30 en 16.30 uur.

CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Co-Directora Tecnica  
 M.N. 15.148

OBD-F001a

CAIF  
 Compañia Asociada de  
 Investigaciones Científicas S.A.  
 Dra. Bernarda Belay  
 Apdo. 15  
 001 240003









Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 11 of 15

## Appendix 3: Pseudomonas aeruginosa



RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU  
Laboratorium Infectieziektendiagnostiek en Screening  
afdeling Bijzondere Bacteriële Determinaties

Laboratorium-administratie (uitslagen)  
Afdeling : Bijzondere Bacteriële Determinaties  
Hoofd : Dr. F.A.G. Reubsæet

tel.adm. 030 - 274 2169  
tel.lab. 030 - 274 2614  
tel.hfd. 030 - 274 2012

R.I.V.M.  
LCB H023, Pb 97  
J. Koopman  
Postbus 1  
3720 BA BILTHOVEN

naam aanvrager:

Bilthoven, 09.09.1999

Omschrijving : Kwal. controle vaccins

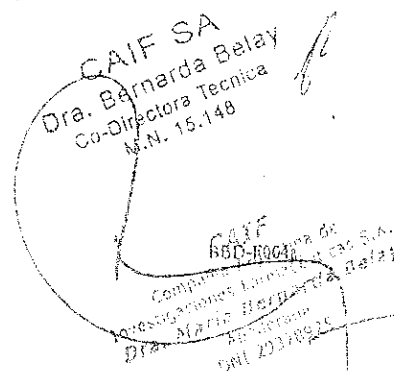
RIVM-monstercode: 1079900406  
RIVM projectnr. : 101000  
Datum ontvangst : 04.08.1999  
Datum afname : 30.07.1999  
Uw monsternummer: DET 99-192  
Uw referentie :  
Aard materiaal : cultuur uit onbekend materiaal

UITSLAG ONDERZOEK:

**Pseudomonas aeruginosa**

Afgegeven door: Dr. F.A.G. Reubsæet

Telefonisch opvragen van uitslagen:  
uitsluitend tussen 8.30 en 9.30 uur en tussen 15.30 en 16.30 uur.



11

12



Report

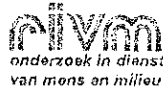
RAP-20563

Version no: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 12 of 15

## Appendix 4: Clostridium sporogenes



RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU  
Laboratorium Infectieziektendiagnostiek en Screening  
afdeling Bijzondere Bacteriële Determinaties

Laboratorium-administratie (uitslagen) tel. adm. 030 - 274 2169  
Afdeling : Bijzondere Bacteriële Determinaties tel. lab. 030 - 274 2014  
Hoofd : Dr. F.A.G. Reubsact tel. hfd. 030 - 274 2012

N.V.I. - LCD (3688)  
Pb 97

Naam aanvrager:  
J. Koopman

Postbus 1  
3720 BA BILTHOVEN

Bilthoven, 27.11.2003

Omschrijving :

RIVM-monstercode: 1070300566

RIVM projectnr. : 230064  
Datum ontvangst : 07.11.2003  
Datum afname :

Uw monsternummer: W95-3  
Uw referentie :  
Aard materiaal : cultuur uit onbekende bron

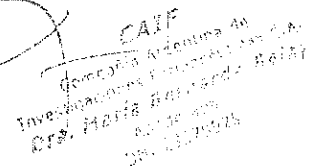
Resultaat laboratorium-onderzoek

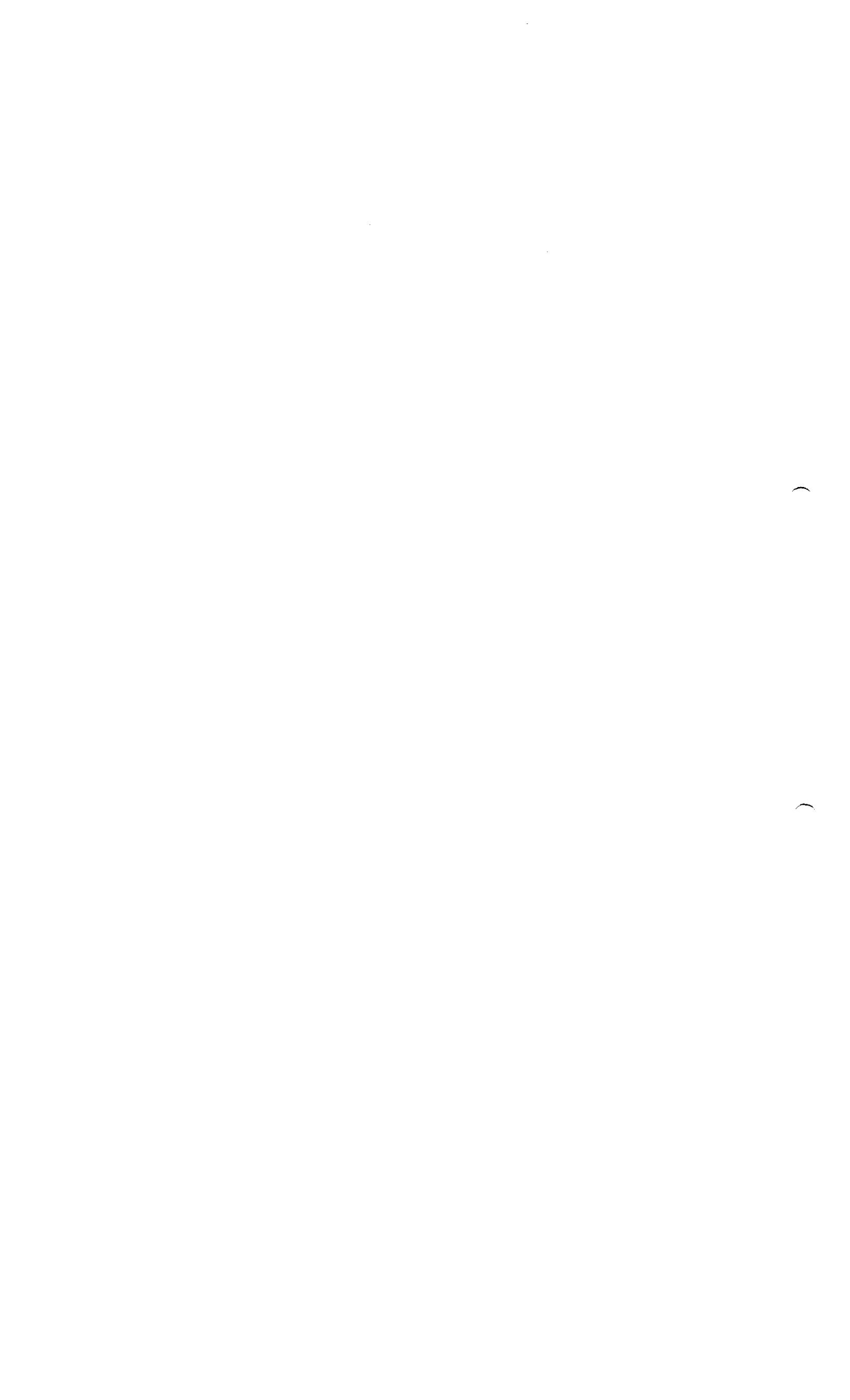
*Clostridium sporogenes*

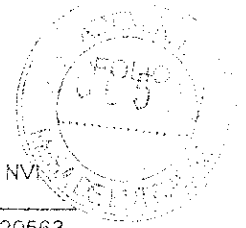
Afgegeven door: Dr. F.A.G. Reubsact

Telefonisch opvragen van uitslagen:  
uitsluitend tussen 8.30 en 9.30 uur en tussen 13.30 en 14.30 uur.

Het IIS werkt onder een kwaliteitssysteem dat is geaccrediteerd  
door de Stichting CCKL.







Report


RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 13 of 15

Appendix 5: *Candida albicans*



**Centraalbureau voor Schimmelcultures**  
Fungal Biodiversity Centre  
Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences (KNAW)

G03-76                      De heer J. Koopman, s.s.t.t.  
   NVI / LCB  
   Postbus 457  
   3720 AL Bilthoven

Utrecht december 5, 2003.

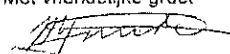
Geachte heer Koopman,

Hierbij zenden wij u onderstaande determinatie uitslag:

W 99-05            *Candida albicans* (Robin) Berkhout

De kenmerken in onze routine determinatie procedure bepaald en op basis waarvan de identiteit werd vastgesteld, zijn op bijgesloten formulier opgesomd. Tevens is de rekening voor 1 routine identificatie bijgevoegd.

Met vriendelijke groet



(Maudy Th. Smith)  
biol. drs.  
Centraalbureau voor Schimmelcultures  
Yeast Identification Service  
Uppsalalaan 8  
3584 CT Utrecht, The Netherlands  
Tel. : +31 (0) 30 2122666  
Fax. : +31 (0) 30 2512097  
Email: [Smith@cbs.knaw.nl](mailto:Smith@cbs.knaw.nl)  
<http://www.cbs.knaw.nl>

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Bernarda Belay

18/12/03 10:07  
CBS identpage at: <http://www.cbs.knaw.nl>

---

Postal address: P.O. Box 85167, 3508 AD Utrecht, The Netherlands.      Telephone: + 31 (0)30 2122666  
Visiting address: Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, The Netherlands.      Telefax: + 31 (0)30 2512097





Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 14 of 15

Appendix 6: *Aspergillus niger*

CENTRAALBUREAU VOOR SCHIMMELCULTURES  
 Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences

**Identification report carried out by**

Centraalbureau voor Schimmelcultures, P.O. Box 273, 3740 AG BAARN

Identity of the strain: *Aspergillus niger* van Tieghem

Your reference number: order number 304334

Our reference number: det. 301, 1999

**Description of the identification method:**

-media used: Czapek agar, Malt Extract agar (Oxoid)

-temperature of incubation: 25 °C

-incubation: 7-14 days in darkness

-scientist who carried out the identification : E.S. Hoekstra

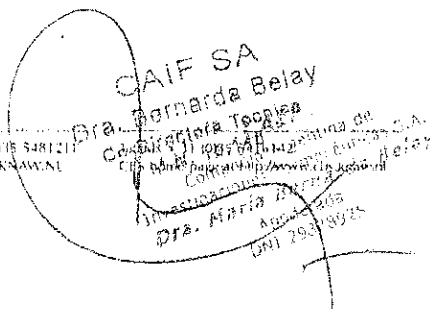
- (main) reference/description used for identification:

Raper, K.B. and Fennell, D.I.(1965) The Genus *Aspergillus*. Baltimore, Maryland; Williams and Wilkins**Identification criteria:**

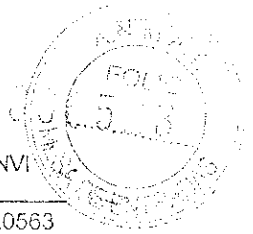
Identification was based on colony morphology and microscopical examination using light microscopy.

Postal address: P.O. Box 273, 3740 AG BAARN, The Netherlands  
 Visiting address: Oosterstraat 1, 3742 SK BAARN, The Netherlands

Telephone + 31 (0)85 5481211  
 Email INFO@CBS.KNAW.NL







Report

RAP-20563

Version no.: 1

Retrospective validation of the sterility test

Page 15 of 15


**Short description of the isolate.**

Colonies on Czapek agar attaining a diameter of 5-6 cm diameter in 10 days at 25 °C, consisting of a blackish-brown felt due to sporulating heads.

Colonies on Malt extract agar, attaining a diameter of 4,5-5 cm after 10 days, consisting of a blackish-brown felt due to sporulating heads and also whitish aerial mycelium could be observed.

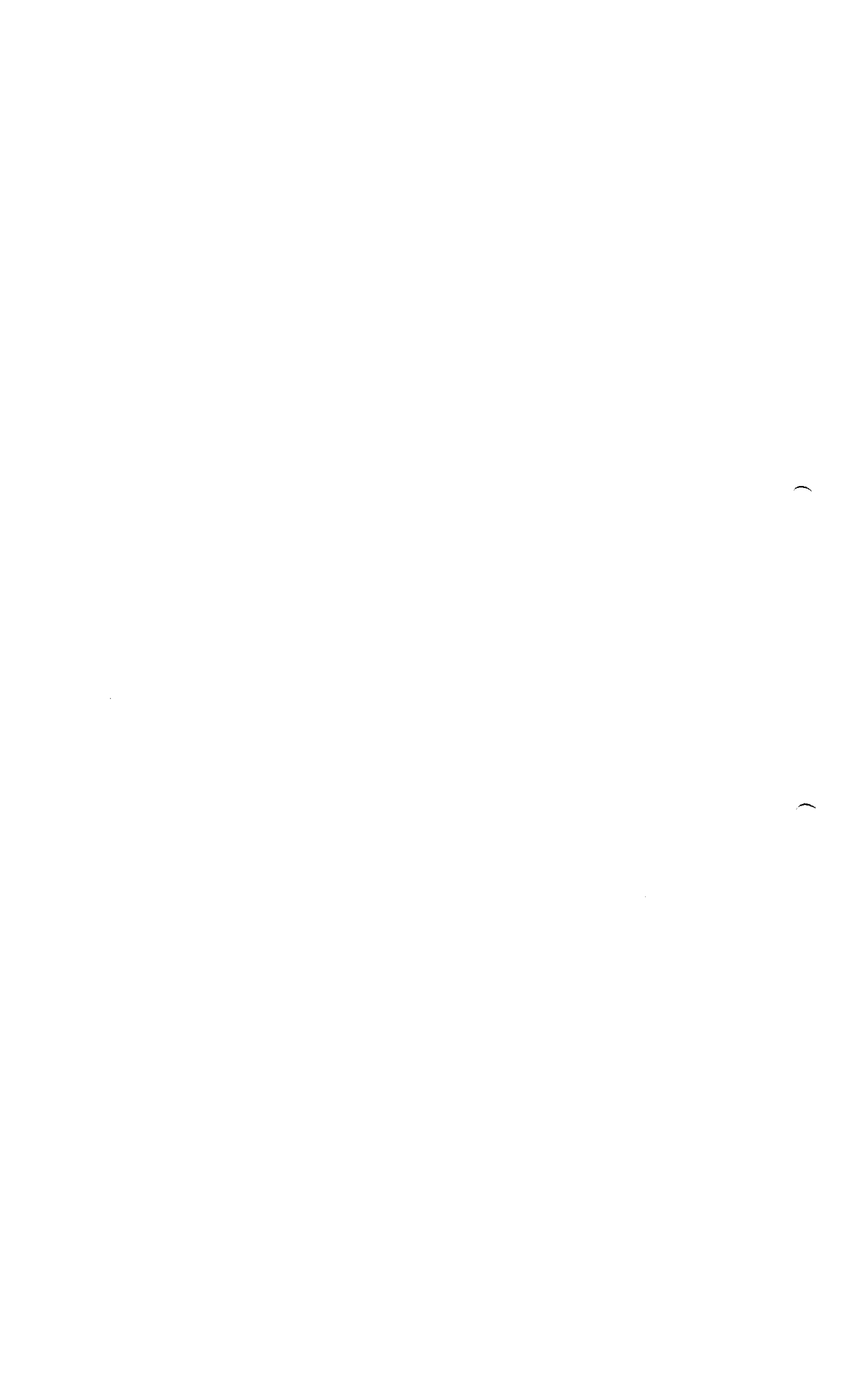
**Microscopical observation:** Conidial heads, biserial, blackish-brown, radiate and splitting into columns with age. Conidiophore stipe, smooth-walled, hyaline often brownish towards the vesicle. Vesicles (sub)globose, mostly 30-50 µm in diam. Conidia (sub)globose, blackish, commonly 5 µm in diam, spiny,

Baarn, 26 August 1999

  
Drs. E.S. Hoekstra

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF SA  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. M. Belay  
Apdo. 100  
DNI 2142815





### 10.3 Estudios de Estabilidad

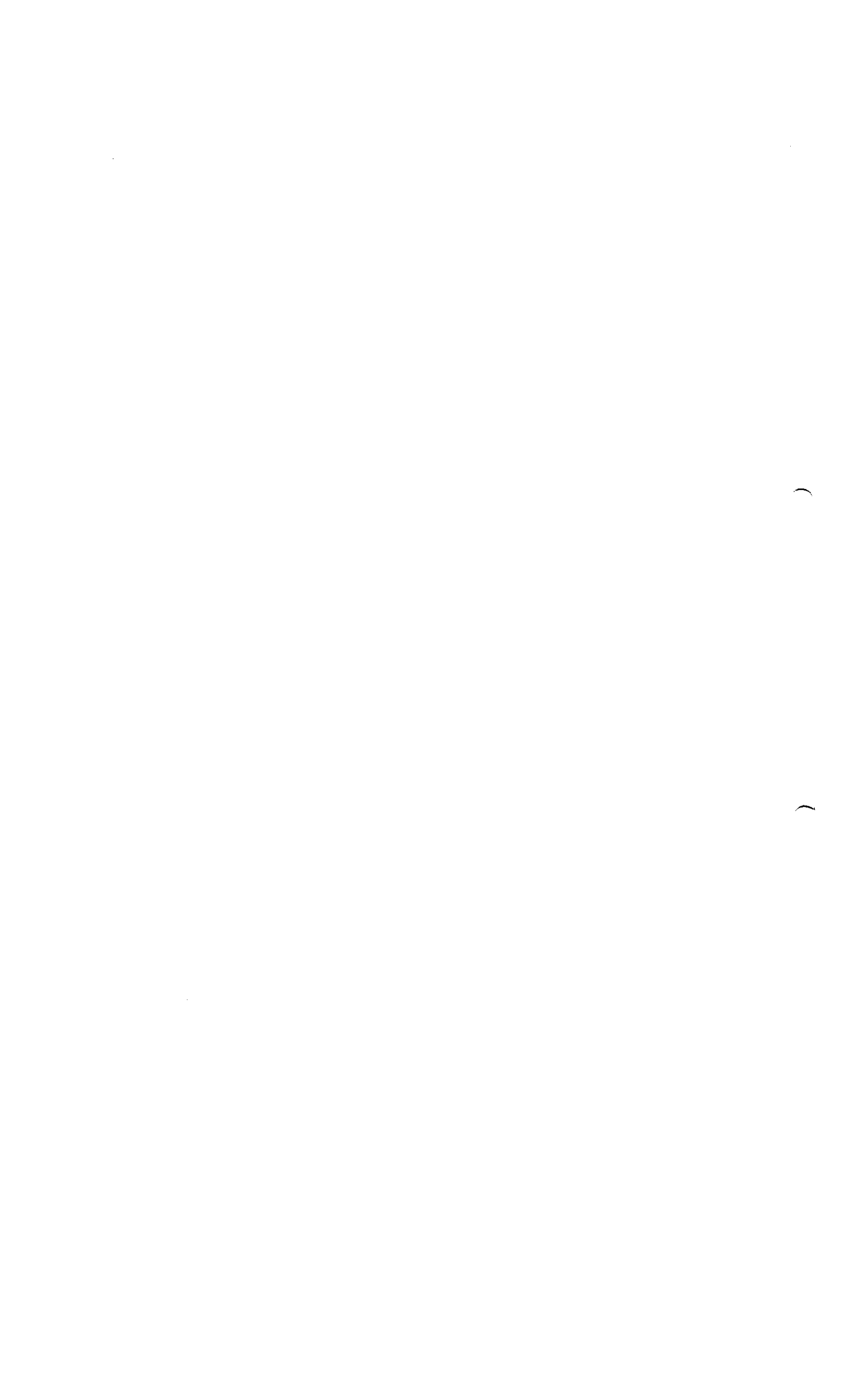


COMPAÑIA ARGENTINA DE INVESTIGACIONES FARMACEUTICAS S.A.

CAIF SA  
M<sup>te</sup> Bergrda Belay  
Especialista Técnica  
M.N. 15.148



CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. ~~M<sup>te</sup> Bergrda Belay~~  
Asesorada  
DNI 29178925



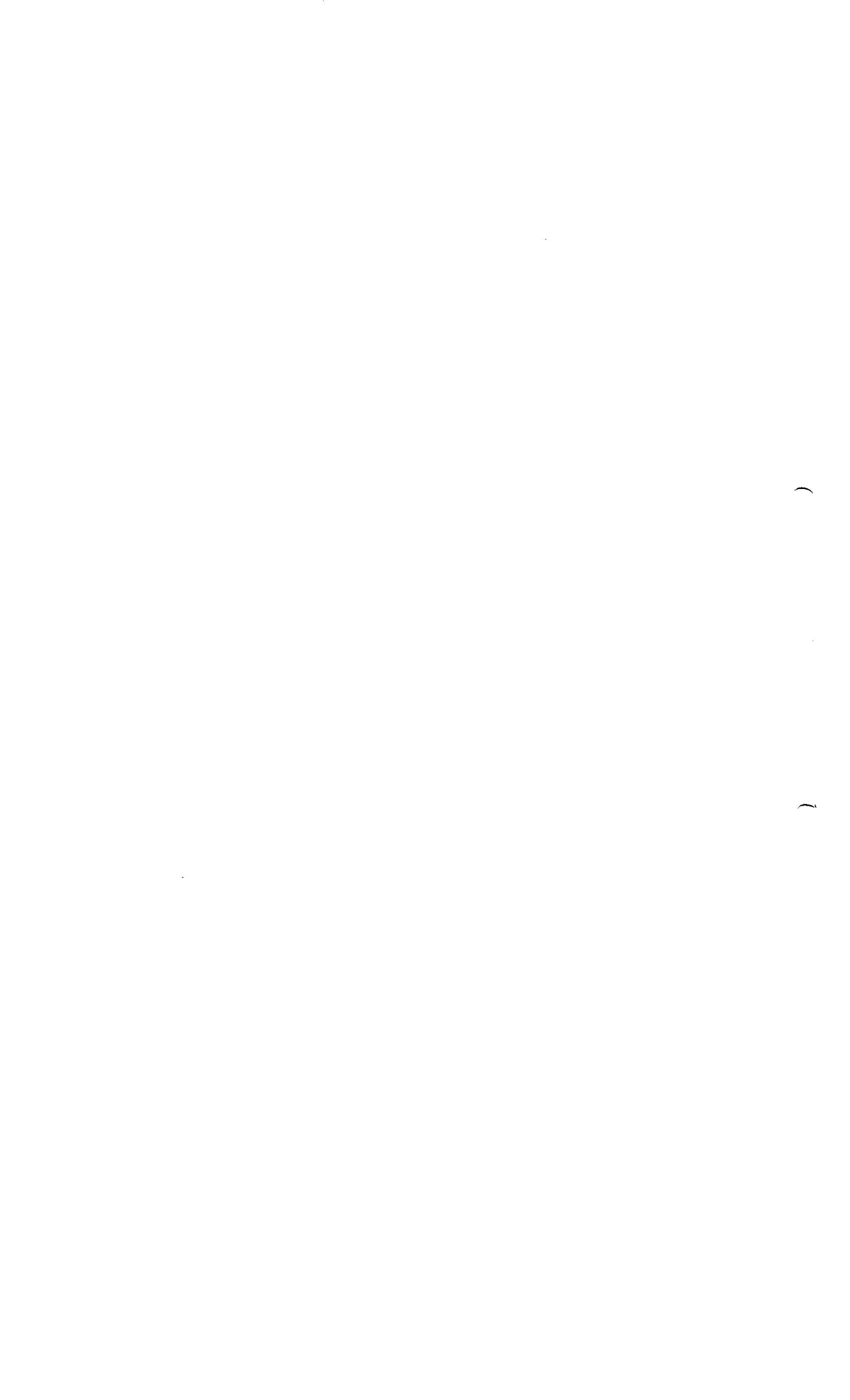
FOLIO  
0005

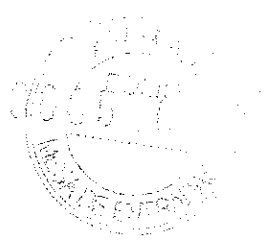
PRODUCTO TERMINADO




CAIF SA  
Dra. Bernarda Beley  
Ed: Directora Técnica  
M. N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. Bernarda Beley  
Ed: Directora  
M. N. 15.148





	Vacuna antipoliomielítica inactivada, suspensión inyectable, Bilthoven Biologicals B.V.	IPV/NC/AR/09-12 Página 8 de 8
Control de calidad y datos de estabilidad		

Datos de estabilidad

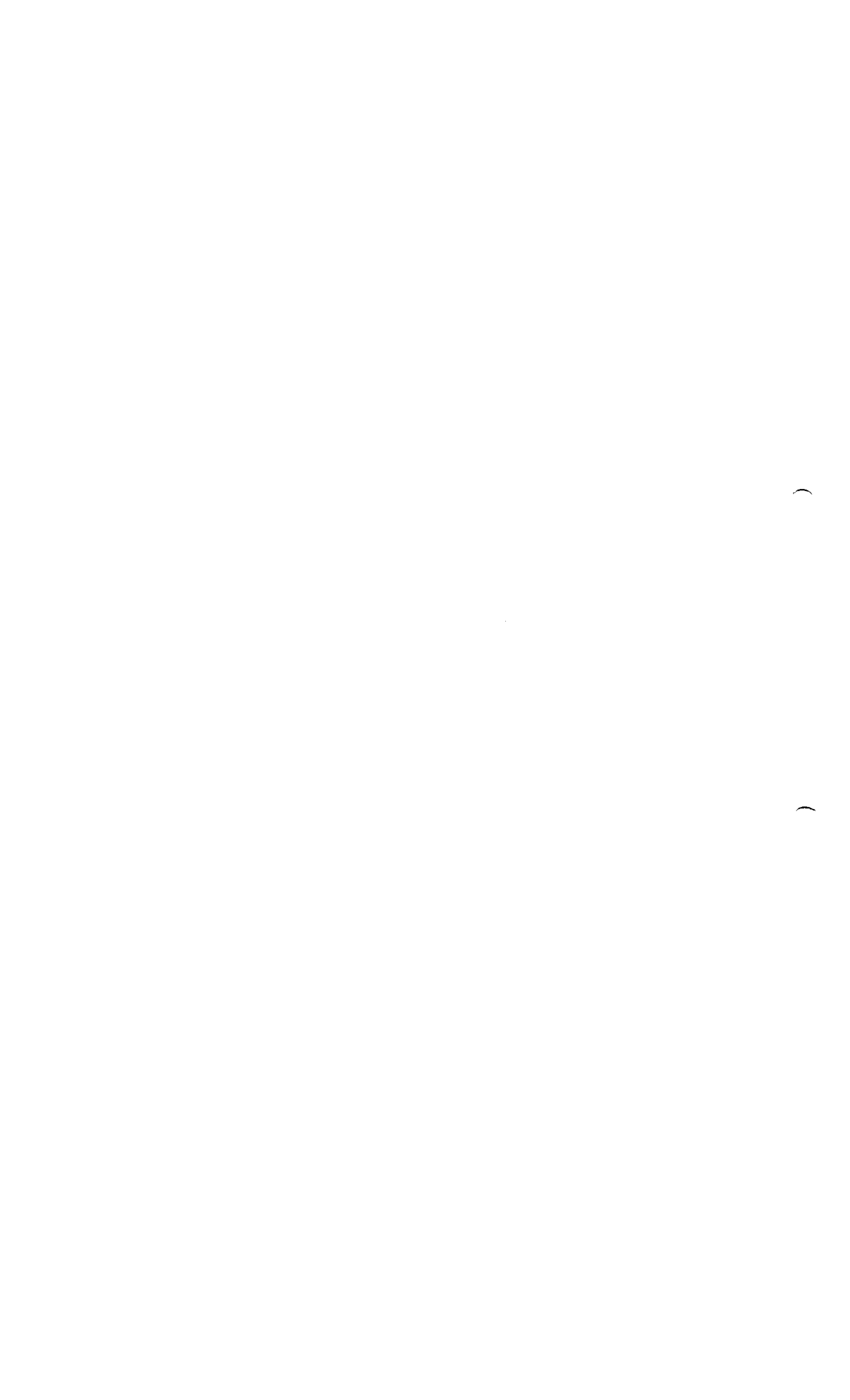
Producto farmacéutico de la VPI

Resultados de estabilidad de la VPI a escala de producción:

En este momento, existe un estudio de estabilidad en curso, en el que se investiga la estabilidad del lote final de la VPI, fabricado a escala de producción y presentado en viales con tapones de goma FM457. Los resultados se describen en los apéndices: [Stability report IPV in vials with FM457 stopper.01.pdf](#).

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. María Bernarda Belay  
Ayudante  
DNI 2338325





Informe de estabilidad

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6 meses)

Prefijo: RAP  
ID de registro: 58807  
Versión: 1  
Página 1 de 7

Código(s) del viejo documento: N/D  
Historial de cambios

Versión	Fecha de liberación	Cambios
1		Nuevo documento

Índice:

1      Introducción ..... 2

2      Objetivo ..... 2

3      Referencia ..... 3

4      Materiales ..... 3

4.1    Materiales de prueba ..... 3

4.2    Método de prueba ..... 4

4.3    Condiciones de almacenamiento ..... 4

5      Desviaciones del plan ..... 4

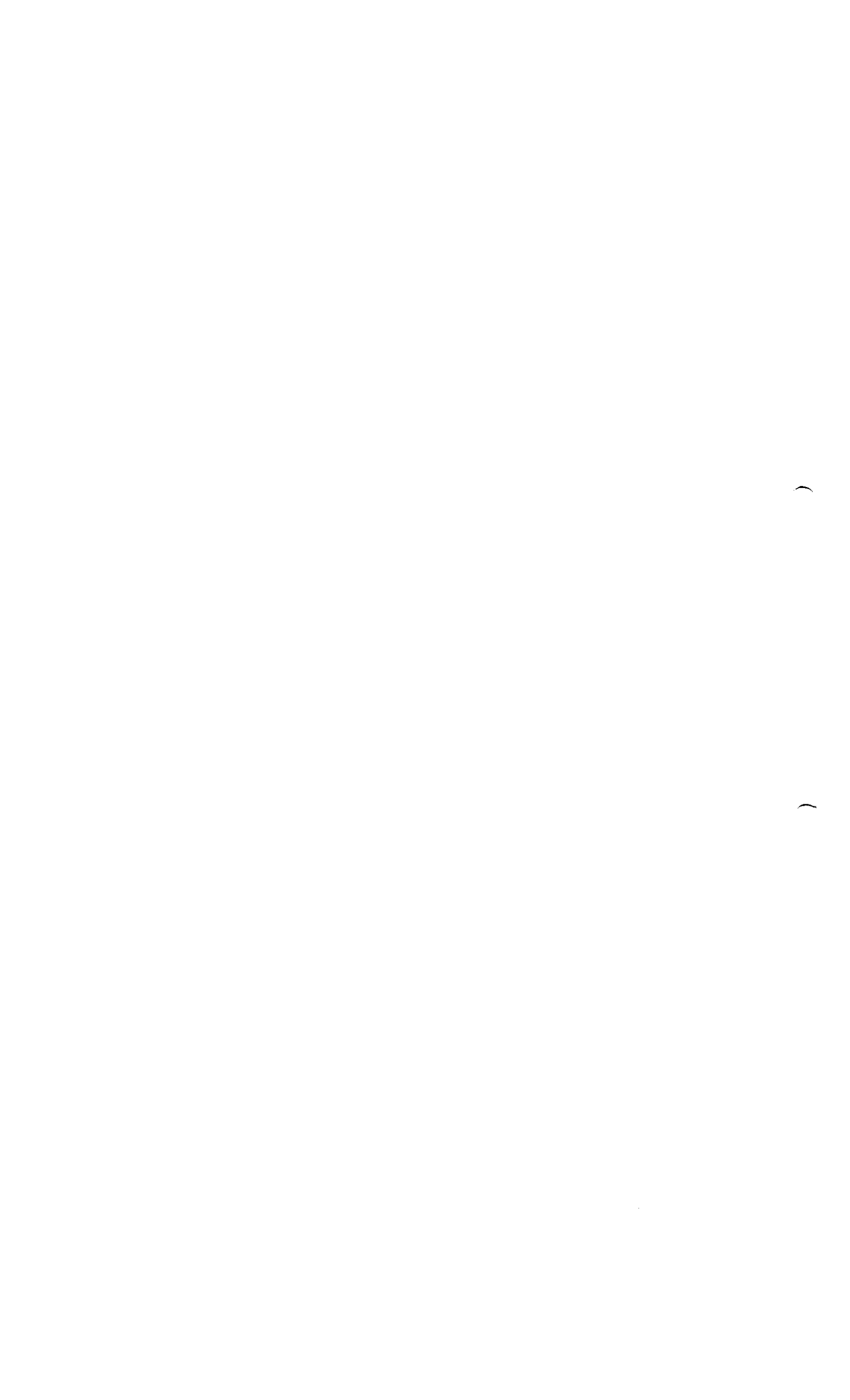
6      Resultados y discusión ..... 4

7      Conclusión ..... 7

8      Datos de archivo ..... 7

Effectief CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Co. Directora Técnica  
 M.N. 15.148

CAIF  
 Comisión Argentina de  
 Investigaciones Farmacológicas S.A.  
 Dra. María Bernarda Belay  
 Amadora  
 DNI 23379226





## Informe de estabilidad

Prefijo: RAP

ID de registro:

## Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6 meses)

58807

Versión: 1

Página 2 de 7

## 1 Introducción

Se ha realizado un cambio en el tapón de goma, un material de envasado primario para la VPI. Anteriormente, el tapón que se utilizaba para la VPI era de goma tipo FM-157. En la actualidad, se encuentra disponible un nuevo compuesto de bromobutilo, el FM-457, con muy alta pureza química. La goma cumple los requisitos correspondientes de la Farmacopea Europea (Ph. Eur.) y de la Farmacopea de Estados Unidos (USP). La goma FM-457 es adecuada para todas las aplicaciones parenterales, incluidos los émbolos para jeringas precargables. El empleo del FM-457 permitirá utilizar el mismo tipo de goma en los viales y las jeringas, mientras que el FM-157 no servía para los émbolos.

El estudio de estabilidad realizado debe confirmar que la estabilidad de la VPI no se vea afectada. Ya se ha realizado un estudio de estabilidad en jeringas llenas de VPI con FM-457 (PLN-40394, RAP-46645). En este estudio, los viales se llenaron con el lote final de la VPI en el Instituto Holandés de Vacunas (NVI) y se cerrarán con tapones de goma tipo FM-457. Se hará un seguimiento de los viales llenos durante tres años, para confirmar la vida útil de dos años. Los resultados de este estudio se informarán a la Junta de Evaluación de Medicamentos de los Países Bajos y a la Organización Mundial de la Salud (OMS). Este estudio se realiza de acuerdo con el PLN-56369 del NVI. En este informe provisorio, se incluyen datos de hasta 6 meses.

Hasta el momento, el estudio se ha llevado a cabo de acuerdo con el PLN-56369. Todas las desviaciones del plan se incluyen en el párrafo 5.

Tabla 1: Descripción general del programa de pruebas y tiempo de muestreo

Prueba	Cantidad de viales	Tiempo (meses)								
		0 <sup>3</sup>	3	6	9	12	18	24 <sup>5</sup>	30	36
2-fenoxietanol	30	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Antígeno D	4	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Formaldehído	25	X <sup>1</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Potencia <sup>2</sup>	30	X <sup>1</sup>	-	X	-	X	-	X	X	X
Endotoxina (LAL)	2	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Esterilidad	41	X <sup>4</sup>	-	-	-	-	-	X	X	X
pH	5	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Apariencia	1	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Muestras de repuesto	61	X <sup>4</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X
Cantidad total de viales por punto temporal		1491	133	163	133	163	133	204	204	204

<sup>1</sup> Los resultados del granel final se utilizan para el formaldehído y la potencia para el punto temporal de 0 meses.

<sup>2</sup> A fin de utilizar menos animales, no se hacen pruebas de potencia en los puntos temporales de 3, 9 y 18 meses.

<sup>3</sup> T = 0 es el momento en que comienza la prueba de potencia.

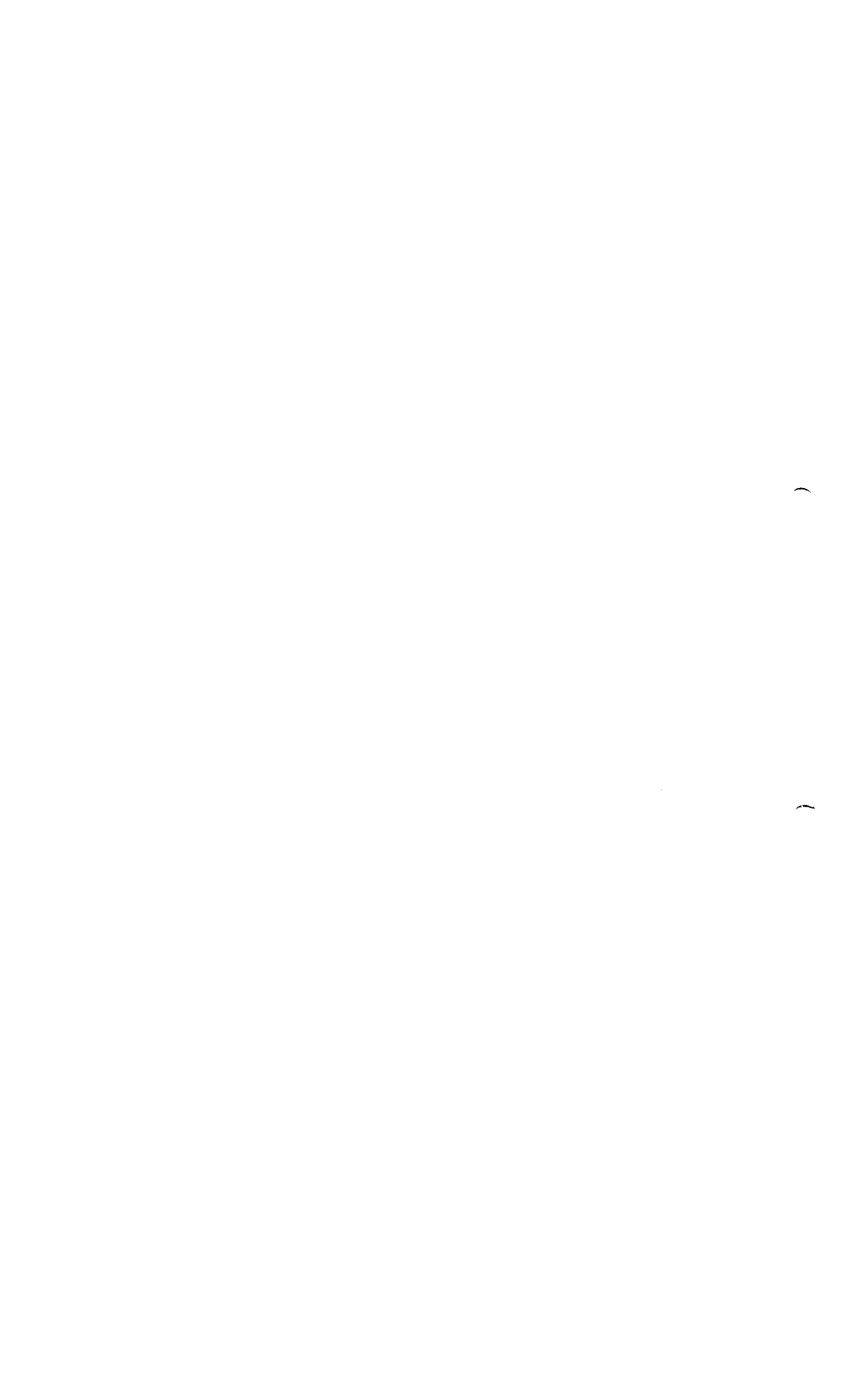
<sup>4</sup> Los datos de liberación del lote final se utilizan como T = 0 datos.

<sup>5</sup> En T = 24, se hará una evaluación para determinar si se continuará con el estudio.

## 2 Objetivo

El objetivo de este estudio es confirmar la estabilidad de la vacuna antipoliomielítica inactivada (VPI) en viales envasados con tapón de goma tipo FM-457, a 2-8 °C a humedad ambiente, hasta 24 meses como mínimo.

CAIF SA  
Bernarda Belay  
Ingeniera Técnica  
19/02/2015  
CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. María Bernarda Belay  
101 1376470





## Informe de estabilidad

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6 meses)

Proyecto: RAP  
ID de registro:  
58807  
Versión: 1  
Página 3 de 7

## 3 Referencia


ID de registro	Título del documento	Código anterior
PLN-56369	Stability plan for IPV filled in vials with rubber stopper type FM-457	N/D
ANA-32090	Fotometrische bepaling van 2-phenoxyethanol in DTP en IPV m.b.v UV-Vis	ANA-22070
ANA-31228	Bepaling van het D-antigeen gehalte van geïnactiveerd poliomyelitiscomponent bevattende vaccins m.b.v. Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	ANA-10102
ANA-31497	Fotometrische bepaling van Formaldehyde in vaccins	ANA-21745
ANA-31238	Werkzaamheidstest in ratten voor poliomyelitisbevattende vaccins volgens de EP-methode	ANA-10100
ANA-31771	Bepaling van het endotoxinegehalte m.b.v. de chromogene kinetische methode (LAL) volgens Ph.Eur., afdeling QCM	ANA-20082
ANA-31087	Steriliteitscontrole dmv membraanfiltratie volgens pH. Eur	ANA-10158
ANA-31715	Het bepalen van de pH met behulp van de pH meters Knick 763, 764, 765 en de Mettler Toledo MPC227	ANA-20103
PLN-40394	Stability study of IPV Vero with and without 2-phenoxyethanol in ampoules and syringes (0.5 ml)	PLN-20797
SPC-43727	Eisenblad IPV-vero, final bulk en final lot	SPC-20660
SOP-48429	Aseptisch afvullen van steriele farmaceutische producten bij SFP	SOP-20197
SOP-49077	Stabiliteitsonderzoek farmaceutische producten van het NVI	SOP-10046
Ph. Eur. 0214	Monograph 0214: Poliomyelitis vaccine (inactivated)	N/D
CPMP/ICH/138/95	Stability Testing of Existing Active Ingredients and Related Finished Products	N/D
CPMP/ICH/138/95	Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products	N/D

## 4 Materiales

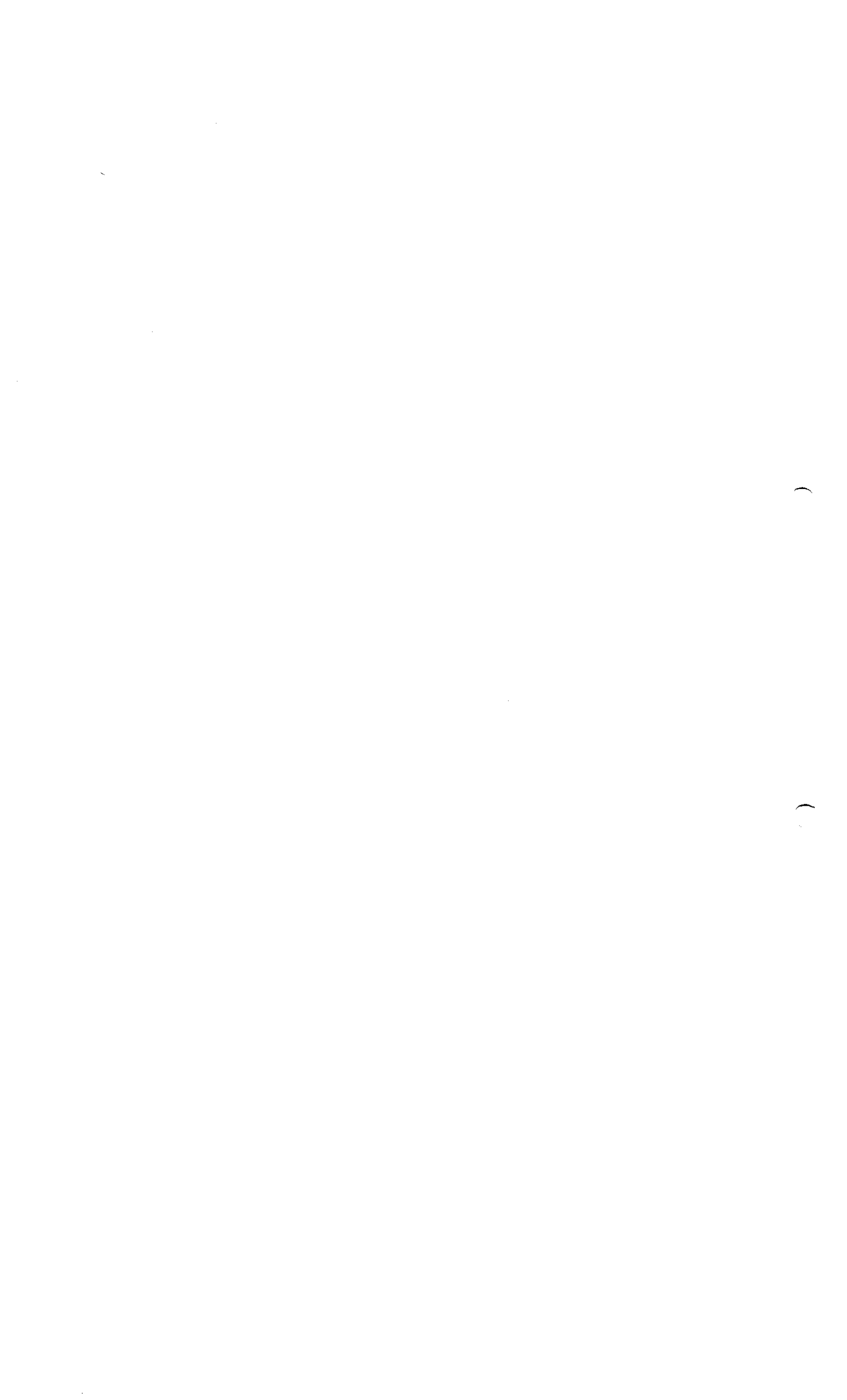
## 4.1 Materiales de prueba

Hasta el momento, para este estudio de estabilidad se han utilizado dos lotes de VPI en viales con tapón de goma tipo FM-457, que se llenaron en el NVI (814A y 815A).

A continuación, se incluyen los materiales utilizados, con una referencia a su especificación.

 Effectief

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 75.148  
CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigación Farmacéutica S.A.  
Dra. María Bernarda Belay  
DNI 71.1025





## Informe de estabilidad

Prefijo: RAP

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6 meses)

ID de registro:

58807

Versión: 1

Página 4 de 7

Descripción	N.º de	Material
vial de 3 ml	10231	Vidrio hidrolítico tipo I, siliconado
tapón de goma	15365	Goma de bromobutilo FM457, siliconada
tapa a presión, de 13 mm,	10268	Precinto de aluminio con tapa de polipropileno a presión
VPI en vial de 3 ml	18859	Lote final de vacuna antipoliomielítica + 2PE en viales

## 4.2 Método de prueba

Las pruebas a continuación se llevan a cabo en el granel final y en el lote final de la VPI presentado en viales, de acuerdo con las especificaciones de liberación del NVI para la vacuna antipoliomielítica inactivada (SPC-43727, versión 05). Los métodos de prueba se describen en las instrucciones analíticas del NVI.

Tabla 2: Descripción general de los métodos utilizados y especificaciones relevantes

Prueba	Método	Especificaciones
2-fenoxietanol	ANA-32090	31-42 mmol/L
Antígeno D, tipo 1	ANA-31228	≥ 60 UD/ml
Antígeno D, tipo 2		≥ 12 UD/ml
Antígeno D, tipo 3		≥ 48 UD/ml
Formaldehído	ANA-31497	0,7-1,0 mmol/L
Potencia, tipo 1	ANA-31238	El límite inferior de la potencia relativa de una vacuna en comparación con la vacuna de referencia ≥ 0,25.
Potencia, tipo 2		
Potencia, tipo 3		
Endotoxina (LAL)	ANA-31771	≤ 10 UI/ml
Esterilidad	ANA-31087	Ningún crecimiento
pH	ANA-31715	6,8-7,4
Apariencia	Visual	Transparente, rojo anaranjado

## 4.3 Condiciones de almacenamiento

Durante el estudio, las muestras se almacenaron en posición invertida (con la tapa hacia abajo) a 2-8 °C y a humedad ambiente en las instalaciones del NVI. Las muestras de repuesto se han almacenado en posición normal (no invertida).

## 5 Desviaciones del plan

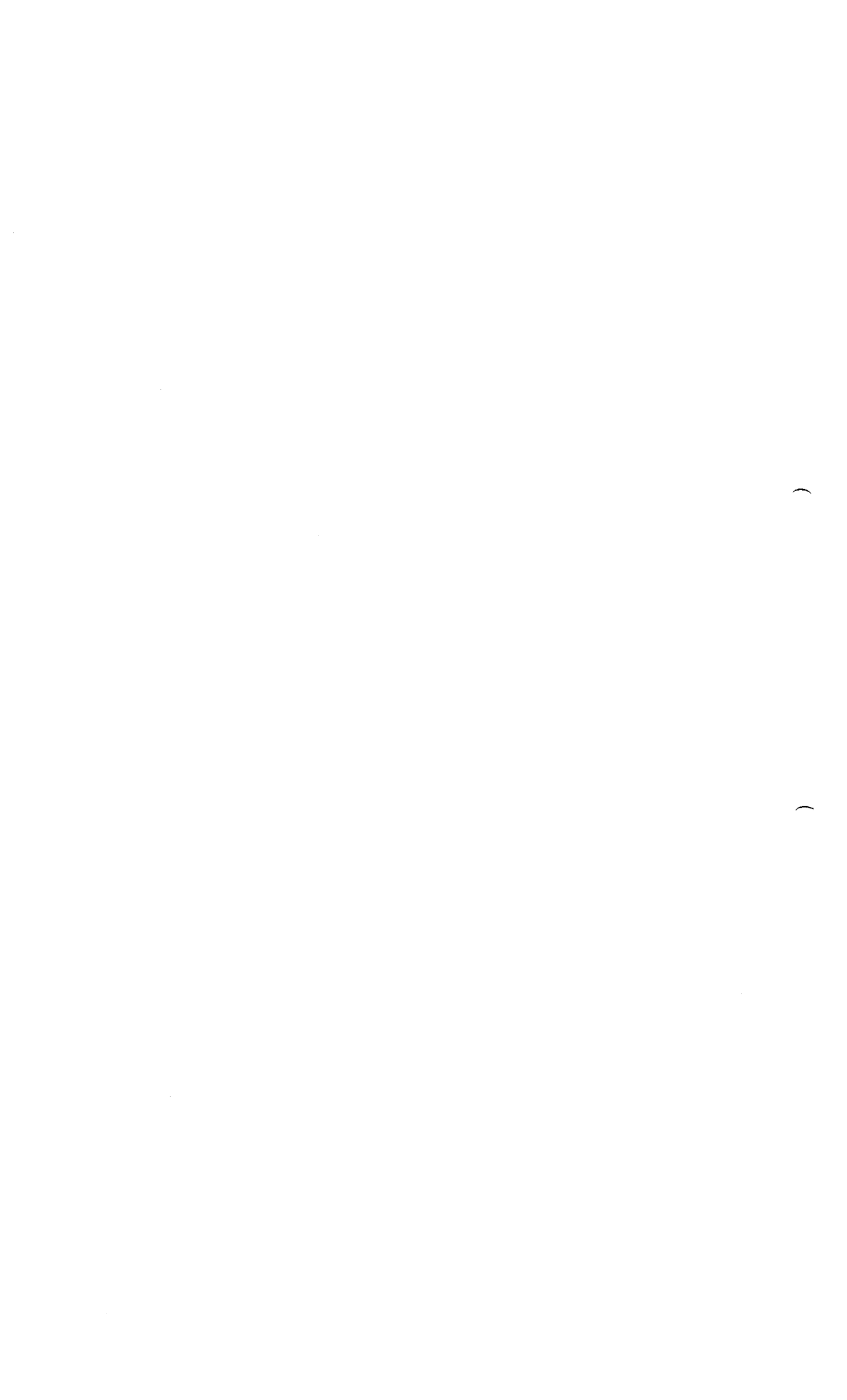
Hasta el momento, no se han informado desviaciones o incumplimientos de las especificaciones.

## 6 Resultados y discusión

Los viales llenos con el lote final de la VPI y cerrados con tapón de goma tipo FM-457 se han investigado en un estudio de estabilidad realizado por el NVI en las instalaciones de Bilthoven (Países Bajos). Las pruebas mencionadas en la tabla 2 fueron realizadas por el NVI. Los resultados de las pruebas se incluyen en la tabla 3.

Effectief

CAIF SA  
 Dra. Bernarda Belay  
 Co-Directora Técnica  
 M.N. 15.148  
 CAIF  
 Compañía Argentina de  
 Investigaciones Farmacológicas S.A.  
 Dra. María Bernarda Belay  
 011 4781 1111





## Informe de estabilidad

Prefijo: RAP

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado  
en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6  
meses)

ID de registro:

58807

Versión: 1

Página 5 de 7

Tabla 3: Resultados de las pruebas de estabilidad del lote final de la VPI en viales con tapones de goma FM-457 después de 6 meses

Prueba	Especificaciones	Tiempo (meses)	Resultados de 814A	Resultados de 815A	Resultados del lote 3
2-fenoxietanol	31-42 mmol/L	0	35	34	
		3	34	33	
		6	37	36	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Antígeno D, tipo 1	≥ 60 UD/ml	0	84	83	
		3	81	86	
		6	88	88	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Antígeno D, tipo 2	≥ 12 UD/ml	0	16	15	
		3	16	16	
		6	17	16	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Antígeno D, tipo 3	≥ 48 UD/ml	0	65	70	
		3	60	75	
		6	68	79	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Formaldehído	0,7-1,0 mmol/L	0	0,8	0,8	
		3	0,9	0,8	
		6	1,0	0,8	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.146

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacológicas S.A.  
Dra. Bernarda Belay  
Asesorada  
DNI 20.175.15





## Informe de estabilidad

Prefijo: RAP

ID de registro:

58367

Versión: 1

Página 6 de 7

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado  
en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6  
meses)

Prueba	Especificaciones	Tiempo (meses)	Resultados de 814A	Resultados de 815A	Resultados del lote 3
Potencia, tipo 1	El límite inferior de la potencia relativa de una vacuna en comparación con la vacuna de referencia $\geq 0,25$ .	0	1,02 (0,61-1,69)	2,44 (1,24-6,26)	
		3	N/D	N/D	
		6	1,04 (0,60-1,80)	1,24 (0,77-2,04)	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Potencia, tipo 2	El límite inferior de la potencia relativa de una vacuna en comparación con la vacuna de referencia $\geq 0,25$ .	0	1,01 (0,57-1,73)	1,37 (0,79-2,48)	
		3	N/D	N/D	
		6	1,16 (0,80-1,66)	1,14 (0,76-1,71)	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Potencia, tipo 3	El límite inferior de la potencia relativa de una vacuna en comparación con la vacuna de referencia $\geq 0,25$ .	0	1,37 (0,78-2,60)	1,67 (0,98-3,24)	
		3	N/D	N/D	
		6	1,01 (0,68-1,52)	1,19 (0,90-1,60)	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Endotoxina (LAL)	$\leq 10$ UI/ml	0	< 0,50	< 0,50	
		3	< 0,50	< 0,50	
		6	< 0,50	< 0,50	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Esterilidad	Ningún crecimiento	0	Ningún crecimiento	Ningún crecimiento	
		3	N/D	N/D	
		6	N/D	N/D	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			

CAMEISA  
 Dra. Bernhards Betek  
 Co-Directora Técnica  
 M.N. 15.148  
 Comisión Asesora de  
 Inocuidad y Eficacia de Vacunas  
 Dra. María Bernhards Betek





## Informe de estabilidad

Prefijo: RAP

ID de registro:

Informe de estabilidad para el lote final de la VPI presentado  
en viales con tapón de goma tipo FM-457 (resultados de 6  
meses)

58807

Versión: 1

Página 7 de 7

Prueba	Especificaciones	Tiempo (meses)	Resultados de 814A	Resultados de 815A	Resultados del lote 3
pH	6,3-7,4	0	7,2	7,2	
		3	7,2	7,2	
		6	7,2	7,2	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			
Apariencia	Transparente, rojo anaranjado	0	Cumple	Cumple	
		3	Cumple	Cumple	
		6	Cumple	Cumple	
		9			
		12			
		24			
		30			
		36			

N/D = Como se describe en PLN-56369, esta prueba no se realizó en este punto temporal.

## 7 Conclusión

Se puede concluir que el lote final de la VPI presentado en viales cerrados con tapón de goma FM-457 y llenados por el NVI en Bilthoven (Países Bajos) cumplen las especificaciones hasta los 6 meses. El estudio continuará como se describe en PLN-56369. Se realizarán pruebas en un lote adicional en cuanto se produzca dicho lote.

## 8 Datos de archivo

Los datos se han archivado en el NVI (Bilthoven, Países Bajos), en el Departamento de Control de Calidad.

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacológicas S.A.  
Dra. María Bernarda Belay  
Apost. 100  
DNI 29.121.925



ESTADO  
FOLIO  
001534  
DEPARTAMENTO DE ENTRADA

*IFA*



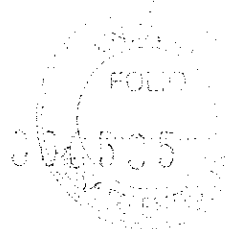
CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Ct-Directora Técnica  
M.N. 15.148



CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Bernarda Belay

Dj/





	<p>Módulo 3. Calidad</p> <p>3.2.S PRINCIPIO ACTIVO</p> <p>Mezclas monovalentes de la vacuna antipoliomielítica inactivada, Bilthoven Biologicals B.V.</p>	<p>IPV/NC/AR/09-12</p> <p>Página 1 de 2</p>
<p>3.2.S.7.1. Resumen de estabilidad y conclusiones</p>		

1 Resumen y discusión de los estudios de estabilidad sobre las mezclas monovalentes tipo 1, 2 y 3 de la vacuna antipoliomielítica inactivada (VPI)

1.1 VPI producida con células Vero

Cada mezcla monovalente debe cumplir con las especificaciones de liberación que se describen en el Módulo 3.2.S.4.1: Especificación. Los métodos de prueba de control se describen en el Módulo 3.2.S.4.2: Procedimientos analíticos.

El contenido de antígeno D se midió como principal factor para indicar la estabilidad.

La estabilidad de las mezclas monovalentes fabricadas con células Vero a escala piloto (150 litros) se analizó después del almacenamiento entre 2 y 8 °C durante hasta 52 meses para el poliovirus tipo 1 y hasta 100 meses para el poliovirus tipo 2 y 3. Para estos lotes a escala piloto, principalmente se analizó un solo punto temporal después de este largo tiempo de almacenamiento. Los niveles de antígeno D no siempre cumplieron las especificaciones en estos puntos de valoración. No es posible sacar conclusiones definitivas a partir de estos lotes.

Las pruebas de estabilidad se llevaron a cabo en puntos temporales más intermedios para los lotes a escala de producción de las mezclas monovalentes de virus poliomiéltico inactivado fabricadas con células Vero. Se encuentran disponibles los resultados de estabilidad de hasta 36 meses para las mezclas monovalentes a escala de 700 litros de un mínimo de tres lotes de cada tipo de poliovirus. Para algunos lotes, incluso se encuentran disponibles datos de hasta 44 meses. El contenido de antígeno D y la esterilidad cumplieron con las especificaciones para todos los puntos temporales analizados. Los valores del pH varían entre 6,7 y 7.

Se inició y se encuentra en curso un estudio de estabilidad de lotes de mezclas monovalentes fabricadas con células Vero y producidas a una escala de 1500 litros. Hasta el momento, los resultados cumplen con las especificaciones.

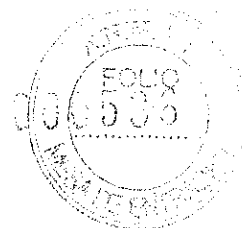
1.2 VPI producida con CRM

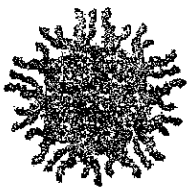
Las mezclas monovalentes fabricadas con células de riñón de mono (CRM) se analizaron hasta los 48 meses de almacenamiento. El contenido de antígeno D del poliovirus tipo 1, 2 y 3 se encontraba dentro

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.142

CAIF  
Comisión Argentina de  
Investigaciones Científicas  
Dra. Bernarda Belay  
Directora





	<p>Módulo 3. Calidad</p> <p>3.2.S PRINCIPIO ACTIVO</p> <p>Mezclas monovalentes de la vacuna antipoliomielítica inactivada, Bilthoven Biologicals B.V.</p>	<p>IPV/NC/AR/09-12</p> <p>Página 2 de 2</p>
<p>3.2.S.7.1. Resumen de estabilidad y conclusiones</p>		

de los límites de especificación después de estos 48 meses de almacenamiento. Durante el almacenamiento, los valores del pH de las mezclas monovalentes se encontraban entre 6,7 y 7. Todas las mezclas monovalentes analizadas cumplieron con el requisito de esterilidad.

### 1.3 Pruebas de resistencia

Los resultados de las pruebas de resistencia del producto farmacéutico demuestran una menor termoestabilidad para las mezclas monovalentes del virus tipo 1 fabricadas con células Vero en comparación con las de CRM. Sin embargo, los datos de estudios de estabilidad a largo plazo y en tiempo real sobre las mezclas monovalentes tipo 1 no confirman estas conclusiones. Consulte el módulo 3.2.S.7.3: Datos de estabilidad. Por lo tanto, el significado de los resultados de los estudios de termoestabilidad no parece indicar la estabilidad en tiempo real de la mezcla monovalente.

## 2 Conclusiones

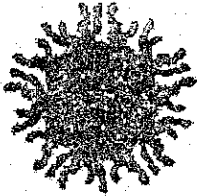
En general, los resultados avalan una vida útil de 36 meses para las mezclas monovalentes de la VPI entre 2 y 8 °C, que se puede extender un año si el contenido de antígeno D aún cumple la especificación.

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. María Belay  
Apdo. 100  
Cm. 75 10315





	<p>Módulo 3. Calidad</p> <p>3.2.S PRINCIPIO ACTIVO</p> <p>Mezclas monovalentes de la vacuna antipoliomielítica inactivada, Bilthoven Biologicals B.V.</p>	<p>IPV/NC/AR/09-12</p> <p>Página 1 de 2</p>
<p>3.2.S.7.2. Protocolo de estabilidad después de la autorización y compromiso de estabilidad</p>		

I Protocolo del estudio de estabilidad en tiempo real para las mezclas monovalentes tipo 1, 2 y 3 de la vacuna antipoliomielítica inactivada (VPI)

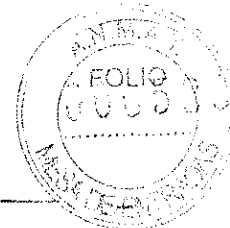
Las mezclas monovalentes de la VPI constituyen la sustancia activa de la vacuna VPI. Las mezclas monovalentes se almacenan entre 2 y 8 °C. Cada mezcla monovalente cumple con las especificaciones de liberación descritas en el Módulo 3.2.S.4.1: Especificación. La prueba de control para el contenido de antígeno D y la esterilidad se describen en 3.2.S.4.2: Procedimientos analíticos. La prueba de control para el pH se describe en 3.2.S.7.3: Datos de estabilidad.

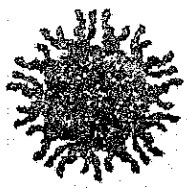
CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.143



CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacológicas S.A.  
Dra. Bernarda Belay  
ADICIONADO  
DNI 15.143.125





	<b>Módulo 3. Calidad</b> <b>3.2.S PRINCIPIO ACTIVO</b> Mezclas monovalentes de la vacuna antipoliomielítica inactivada, Bilthoven Biologicals B.V.	IPV/NC/AR/09-12 Página 2 de 2
---	--	----------------------------------

### 3.2.S.7.2. Protocolo de estabilidad después de la autorización y compromiso de estabilidad

#### 2 Protocolo del estudio de estabilidad en curso para las mezclas monovalentes tipo 1, 2 y 3 de la VPI

El diseño de los estudios de estabilidad en curso se basa en la directriz de la EMEA (Agencia Europea de Evaluación de Medicamentos) sobre calidad de productos biotecnológicos: Pruebas de estabilidad de productos biotecnológicos/biológicos (CPMP/ICH/13 8/95).

Debido a nuestra larga experiencia con la vacuna VPI, en el intervalo de pruebas se han omitido los puntos temporales de 3 y 9 meses.

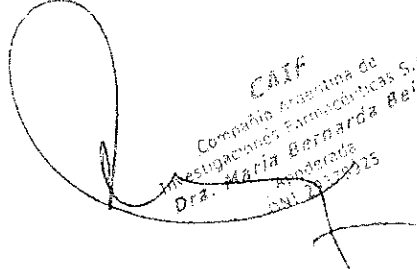
Después del comienzo del nuevo programa de estabilidad, los tres primeros lotes de cada tipo de VPI monovalente fabricados con células de riñón de mono (CRM) se sometieron a estudios de estabilidad para obtener datos de las mezclas monovalentes en el menor tiempo posible. En los próximos años, para cada uno de los tres tipos de VPI, se utilizará un lote para los estudios de estabilidad.

Los tres primeros lotes a escala de producción de la VPI fabricada con células Vero también se sujetarán al protocolo de estabilidad incluido en la tabla a continuación. En los próximos años, para cada uno de los tres tipos de VPI, se utilizará un lote para los estudios de estabilidad.

Tabla 1: Protocolo del estudio de estabilidad para las mezclas monovalentes tipo 1, 2 y 3 de la VPI

Condiciones de almacenamiento	Puntos temporales (meses)	Prueba	Requisito
2-8 °C	0, 6, 12, 18, 24, 36	Contenido de antígeno D	tipo 1: 1250-3140 UD/ml tipo 2: 430-1480 UD/ml tipo 3: 520-2220 UD/ml
	0, 6, 12, 18, 24, 36	pH	-
	0, 36	esterilidad	sin microorganismos contaminantes

CAIF SA  
Dra. Bernarda Belay  
Co-Directora Técnica  
M.N. 15.148

  
CAIF  
Compañía Argentina de  
Investigaciones Farmacéuticas S.A.  
Dra. María Bernarda Belay  
M.N. 25.12215

