



U8129866776
CLIENTE 748
BOGADIA 221778

6^o CUERPO

22767-111





2.6.2.2 Pruebas de IPC, control de calidad, adicionales y de caracterización

En la tabla 35 se presentan los resultados de las pruebas de IPC, de control de calidad, adicionales y de caracterización realizadas desde la cosecha cruda hasta la suspensión viral purificada y concentrada.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.



Tabla 35: Resultados de las pruebas de control de calidad, adicionales y de caracterización durante el paso de purificación

Etapa	Pruebas	Prueba de CC	IPC	Criterios de aceptación	FA360797 (tipo 1)	FA357166 (tipo 2)	FA357183 (tipo 2)	FA362541 (tipo 2)	FA360853 (tipo 3)
Cosecha cruda	Concentración de poliovirus (DICC ₅₀ /mL)		X	$\geq 10^7$	$10^{8.70}$	$10^{8.96}$	$10^{9.17}$	$10^{8.93}$	$10^{8.47}$
	Contenido de proteínas ($\mu\text{g}/\text{mL}$).	Prueba adicional.		148 - 419	290,13	314,54	318,71	323,07	286,52
	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para calcular la recuperación.	No se aplica.			288	56,8	66,8	66,1	156
	Contenido de BSA (ng/mL)				3 813 390	3 731 000	2 303 920	2 361 290	4 732 670
	Contenido de ADN por el método de qPCR (pg/mL)	Prueba de caracterización		No se aplica.	44 900	46 400	44 100	42 900	47 000
	Carga biológica (UFC/10 mL)	Prueba adicional.		≤ 10	0	0	0	0	0
	Identificación del poliovirus (tipo 1, 2 ó 3)	X		Positiva.	Positiva.	Positiva.	Positiva.	Positiva.	Positiva.
	Concentración de poliovirus (tipo 1, 2 ó 3) (DICC ₅₀ /mL)	X		$\geq 10^7$	$10^{8.73}$	$10^{8.83}$	$10^{8.97}$	$10^{8.93}$	$10^{8.43}$
	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	X		No se observa crecimiento microbiano.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo	X		Sin crecimiento de <i>Mycoplasma</i> .	Cumple.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Prueba de detección de <i>Mycobacteria</i> in vitro	Prueba adicional.		Sin crecimiento de <i>Mycobacteria</i> .	Cumple.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	
Contenido de antígeno D (UD/mL). Para calcular la recuperación.	No se aplica.			241	47,5	63,4	60,2	111	

RA 0302316

Información confidencial/proprietaria
Página 89 de 132

ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
ENCUERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

sanofi pasteur

Granel de vacuna antipoliomielítica trivalente inactivada en células Vero

Sección 3.2.S.2.5
Validación y/o evaluación del proceso

Etapa	Pruebas	Prueba de CC	IPC	Criterios de aceptación	FA360797 (tipo 1)	FA357166 (tipo 2)	FA357183 (tipo 2)	FA362541 (tipo 2)	FA360853 (tipo 3)
Concentrado 1	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		68 - 112	84	84	95	86	71
	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para el cálculo de la recuperación.	No se aplica.			8422	NA*	1949	1710	4032
	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		Para información.	98	NA	86	80	102
	Contenido de proteínas (µg/mL).			Para información.	5495,78	NA	5808,68	5929,22	5544,06
Suspensión purificada, GM	Contenido de proteínas (µg/mL)	Prueba adicional.		Para información.	331,59	398,01	360,37	459,06	325,64
	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para el cálculo de la recuperación.	No se aplica.			3929	646	738	732	1747
	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		Para información.	94	NA	82	73	92
	Contenido de ADN por el método de qPCR (pg/mL)	Prueba de caracterización		No se aplica.	<0,50	<0,50	17400**	<0,50	<0,50
Concentrado 2	Contenido de BSA (ng/mL)				<13,5	<13,5	<13,5	<13,5	<13,5
	Contenido de proteínas (µg/mL).	Prueba adicional.		Para información.	21 723,01	22 412,3	25 114,35	27 367,52	18 419,35
	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para el cálculo de la recuperación.	No se aplica.			83 252	41 711	53 616	46 266	96 435
	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		Para información.	35	101	111	99	87

ROXANA MONTMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RS 0302316

Información confidencial/proprietaria
Página 96 de 132



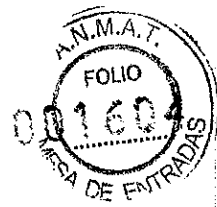
Etapas	Pruebas	Prueba de CC	IPC	Criterios de aceptación	FA360797 (tipo 1)	FA357166 (tipo 2)	FA357183 (tipo 2)	FA362541 (tipo 2)	FA360853 (tipo 3)
Suspensión purificada, Sepharose	Contenido de proteínas (µg/mL).	Prueba adicional.		Para información.	242,13	264,46	305,03	297,85	199,63
	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para el cálculo de la recuperación.	No se aplica.			30 524	7694	7927	8432	16 874
	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		Para información.	191	95	80	82	92
	Contenido de ADN por el método de qPCR (pg/mL)				<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
	Contenido de BSA (ng/mL)	Prueba de caracterización		No se aplica.	<13,5	<13,5	<13,5	<13,5	<13,5
	Contenido de proteínas (µg/mL).	Prueba adicional.		Para información.	159,34	132,23	192,42	148,94	136,74
Suspensión purificada, PM	Contenido de antígeno D (UD/mL) Para el cálculo de la recuperación.	No se aplica.			19 446	3389	5475	5951	11 396
	Recuperación de antígeno D (%)	Prueba adicional.		Para información.	93	86	102	123	99
	Contenido de ADN por el método de qPCR (pg/mL)				<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
	Contenido de BSA (ng/mL)	Prueba de caracterización		No se aplica.	<13,5	<13,5	<13,5	<13,5	<13,5
	Contenido de proteínas (µg/mL)	X	X	Para el cálculo del índice de pureza.	97,83	77,18	104,04	92,30	82,36
	Contenido de antígeno-D (mediante el método sigmoidico) (UD/ml)	X	X	Para el cálculo del índice de pureza.	11 292	2224	3449	3505	5841

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

CA 0802316

Información confidencial/proprietaria
Página 91 de 132



sanofi pasteur
Granel de vacuna antipoliomielítica trivalente inactivada en células Vero

Validación y/o evaluación del proceso

Etapas	Pruebas	Prueba de CC	IPC	Criterios de aceptación	FA360797 (tipo 1)	FA357166 (tipo 2)	FA357183 (tipo 2)	FA362541 (tipo 2)	FA360853 (tipo 3)
	Pureza (actividad específica) (µg/mL)	X	X	Tipo 1 < 0,027 µg de proteína/UD. Tipo 2 < 0,0875 µg de proteína/UD. Tipo 3 < 0,030 µg de proteína/UD.	0,009	0,0347	0,0302	0,0263	0,014
	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	X	X	No se observa crecimiento microbiano.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SDS Page	Prueba de caracterización		No se aplica.	Cumple.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

* ND: no disponible, ya que no se recogió la muestra (error humano).

** Resultado atípico.



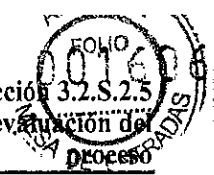
Información confidencial/proprietaria
Página 92 de 132

ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

0302316





- IPC y pruebas de control de calidad:

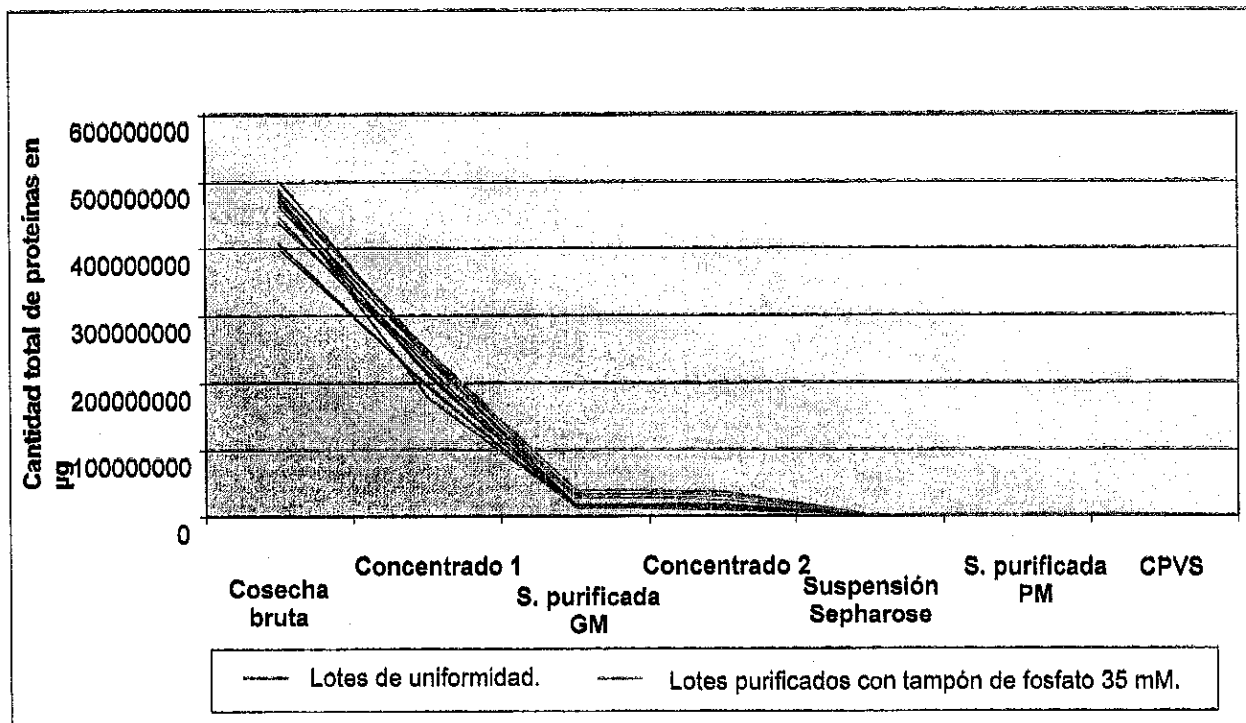
Los resultados de los IPC y de control de calidad realizados en la cosecha cruda, en la cosecha única y en los productos intermedios de la CPVS cumplen los criterios de aceptación para cada lote.

- Pruebas adicionales:

Resultados del contenido de proteínas

Los resultados del contenido de proteínas obtenidos desde la cosecha cruda hasta la CPVS muestran que el perfil de eliminación de proteínas observado para todo el proceso de purificación para los cinco lotes industriales purificados con tampón de fosfato 35 mM es comparable con el perfil de eliminación de proteínas observado para los lotes de uniformidad. La cinética de eliminación de proteínas correspondiente se muestra en la figura 7. Esto demuestra la eliminación de las proteínas, especialmente para las etapas de concentrado 1 y de suspensión purificada GM.

Figura 7: Eliminación de proteínas durante el paso de purificación



Por lo tanto, el uso de tampón de fosfato 35 mM no tiene impacto sobre todo el proceso de purificación en cuanto a la eliminación de proteínas.

Resultados del contenido de antígeno D

Se compararon los resultados del contenido de antígeno D para los 5 lotes purificados con una concentración de tampón de fosfato 35 mM con los resultados del contenido de antígeno D

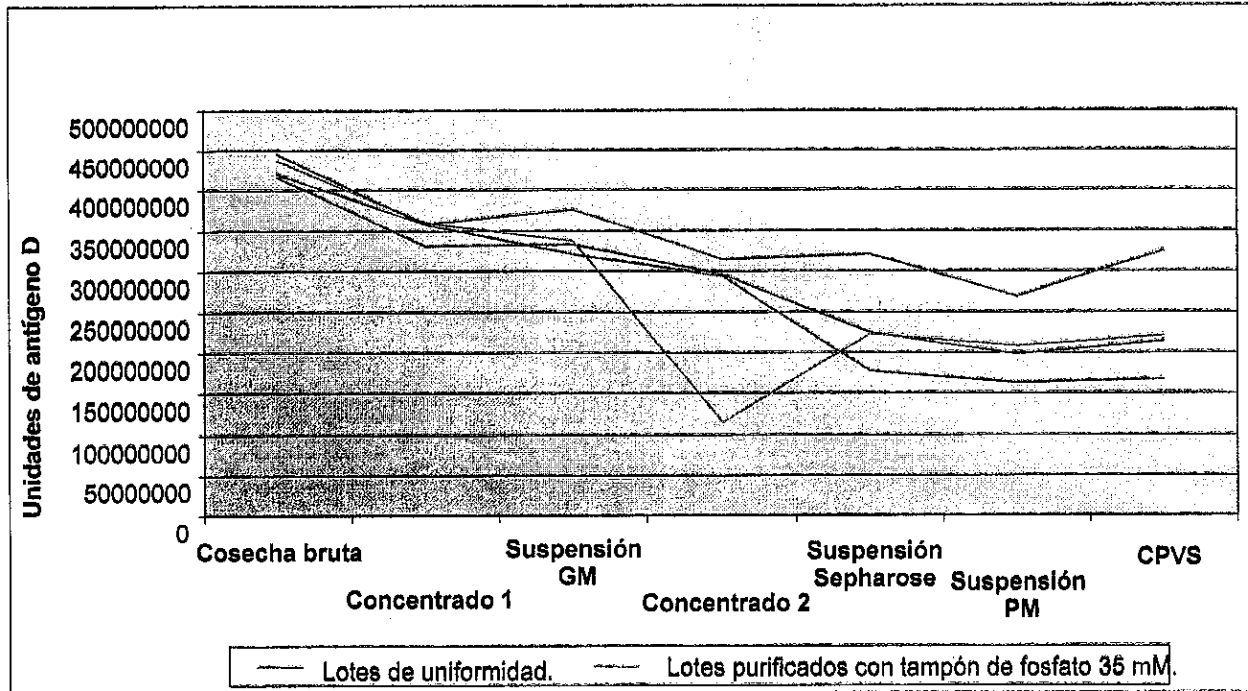




obtenidos en los lotes de uniformidad durante el paso de purificación para cada serotipo. Los resultados se expresan en cantidad total de unidades de antígeno D.

En la figura 8 a la figura 10 se muestra la evolución homogénea del perfil del antígeno D para cada serotipo durante el paso de purificación.

Figura 8: Comparación entre los resultados del antígeno D obtenidos del lote purificado con solución de tampón de fosfato 35 mM y los resultados del antígeno D obtenidos de los lotes de uniformidad: tipo 1



Nota: para el lote FA360797 se observó un resultado atípico de antígeno D en la etapa de concentrado 2. Este resultado no fue confirmado por el resultado obtenido para la etapa siguiente, esto es, la suspensión purificada Sepharose. Se estimó que el resultado del antígeno D en la etapa de concentrado 2 era aceptable para el estudio complementario y se consideró que no tenía impacto sobre la calidad del producto.





Figura 9: Comparación entre los resultados del antígeno D obtenidos de los 3 lotes purificados con solución de tampón de fosfato 35 mM y los resultados del antígeno D obtenidos de los lotes de uniformidad: tipo 2

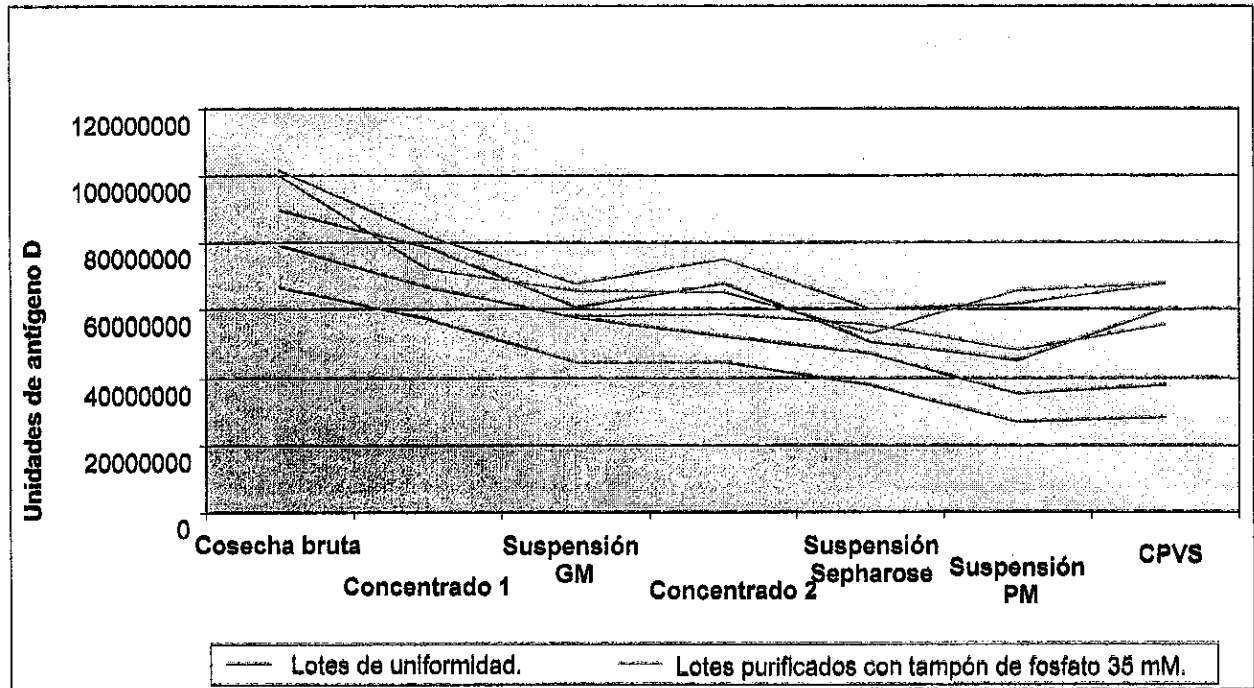
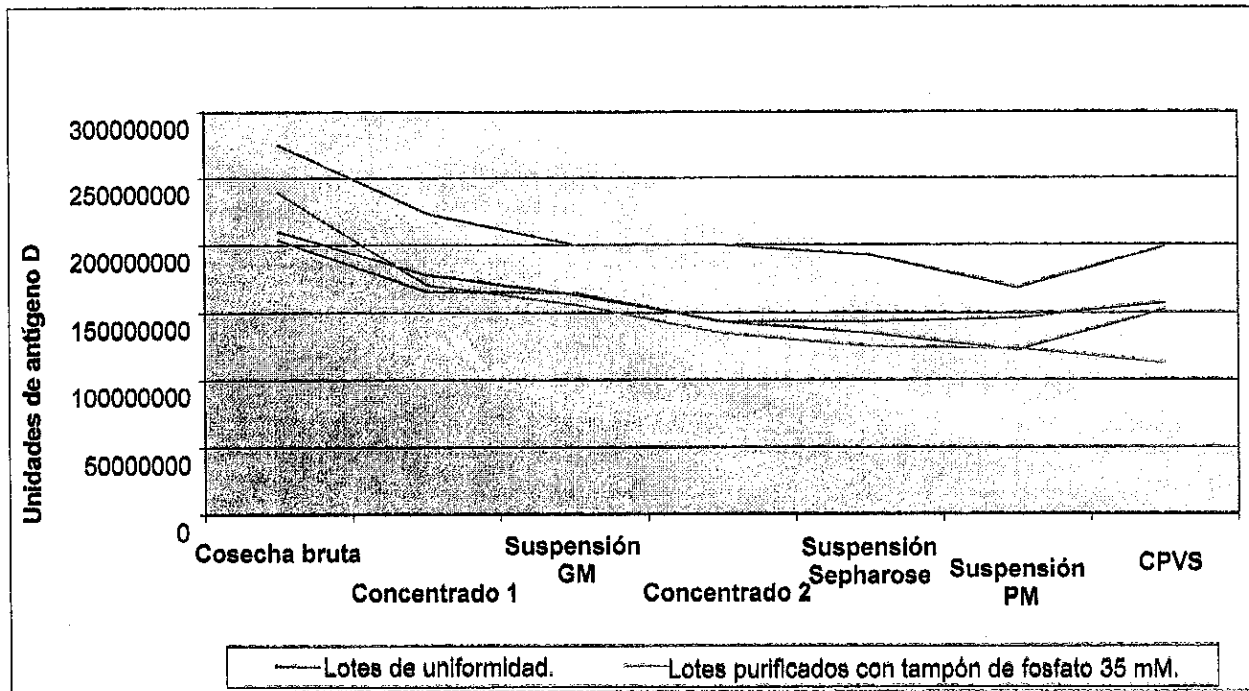




Figura 10: Comparación entre los resultados del antígeno D obtenidos del lote purificado con solución de tampón de fosfato 35 mM y los resultados del antígeno D obtenidos de los lotes de uniformidad: tipo 3



Como quedó demostrado en el estudio complementario y en el estudio de robustez presentados en la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración, el cambio de la concentración del tampón de fosfato tiene impacto sobre el serotipo 2. Los perfiles de antígeno D para el serotipo 2 confirman un ligero aumento de los resultados del antígeno D en la suspensión purificada PM (vea la figura 9).

En la figura 11 se ilustran los resultados de la recuperación de antígeno D para el serotipo 2.

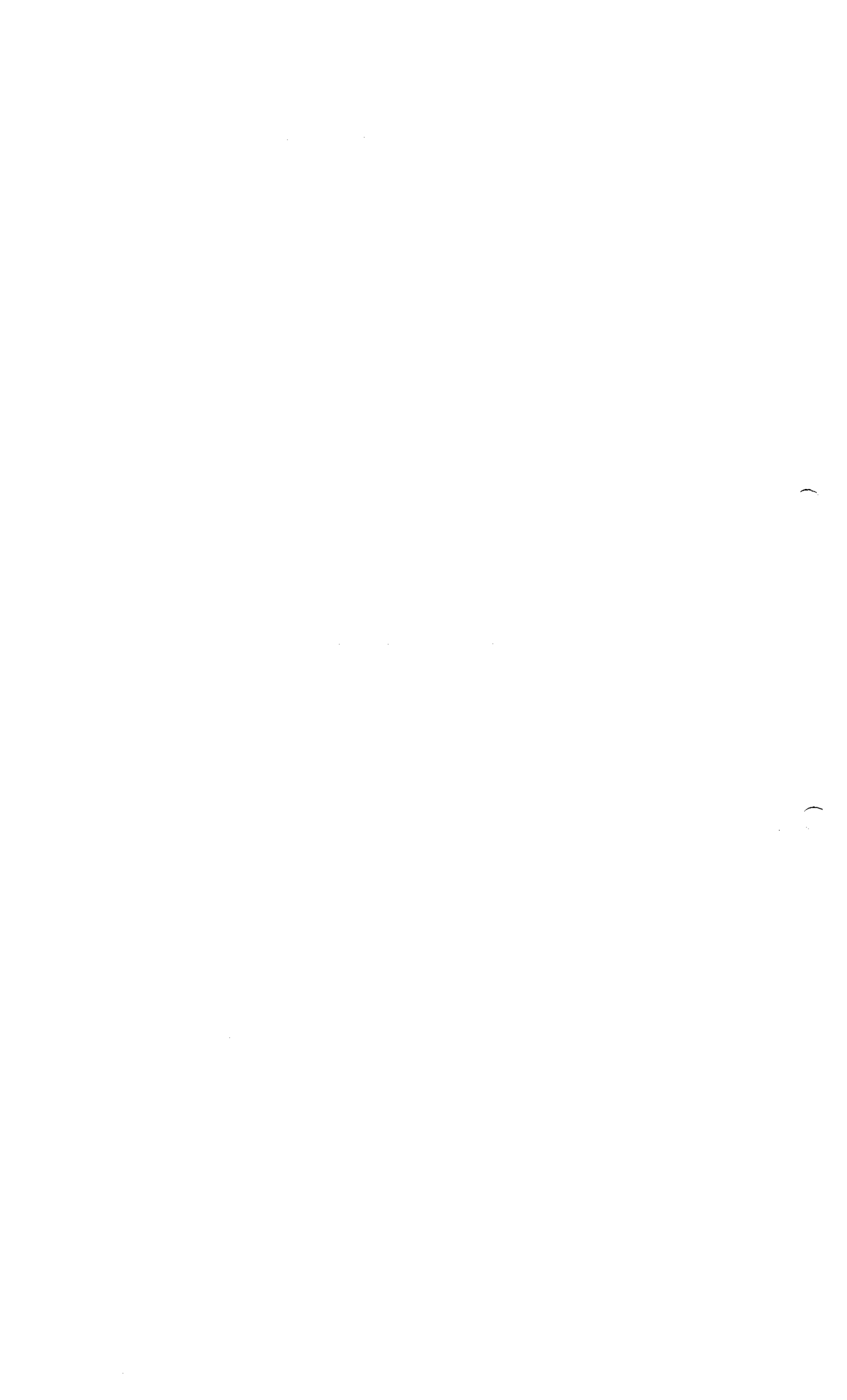
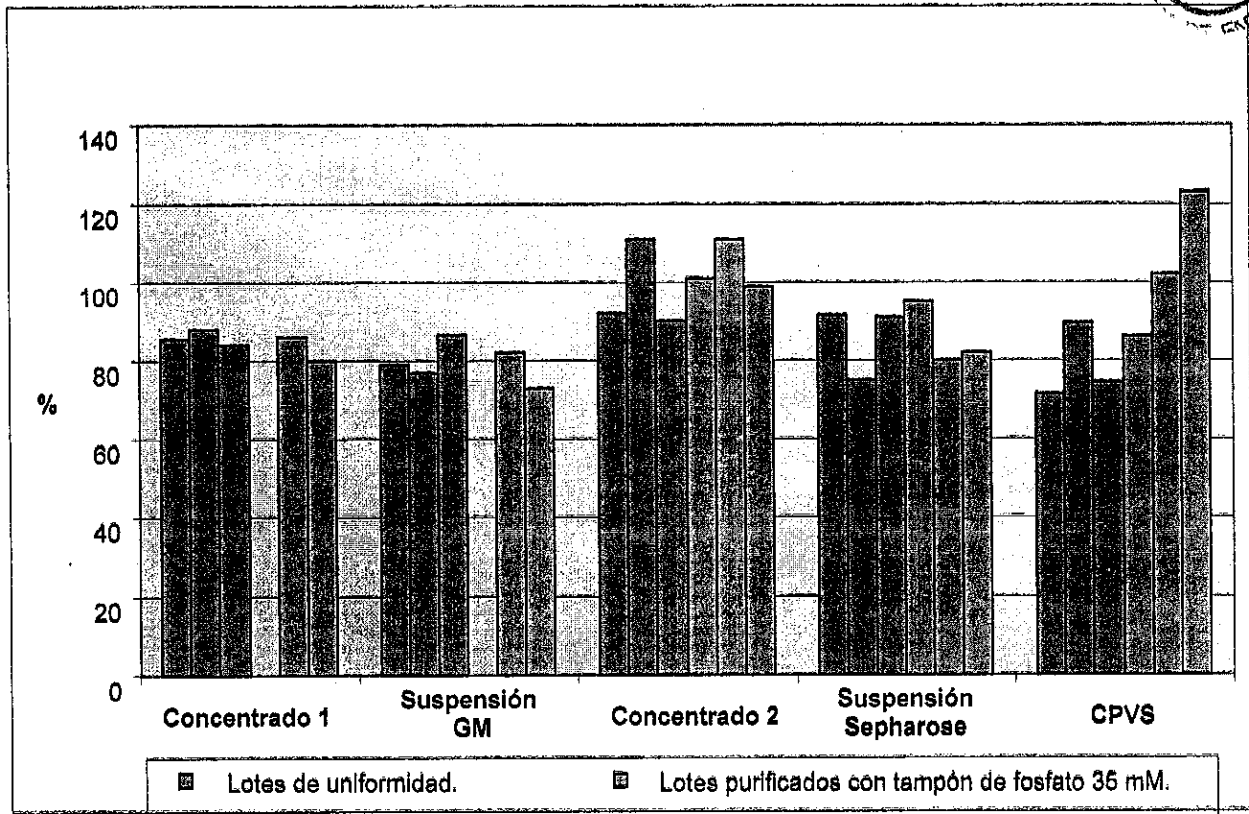




Figura 11: Resultados de la recuperación de antígeno D para el serotipo 2



Los resultados obtenidos para el contenido de antígeno D y la correspondiente recuperación para los tres serotipos durante el paso de purificación demuestran que el cambio de la concentración de tampón de fosfato de 25 mM a 35 mM permite obtener resultados aceptables para el rendimiento del proceso.

- Pruebas de caracterización:

Albúmina bovina residual

El contaminante BSA queda esencialmente eliminado durante la etapa de suspensión purificada GM. El perfil de eliminación de BSA de los cinco lotes industriales purificados con tampón de fosfato 35 mM es comparable con el perfil de eliminación de BSA observado para los lotes de uniformidad (vea la figura 12).



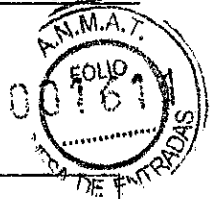
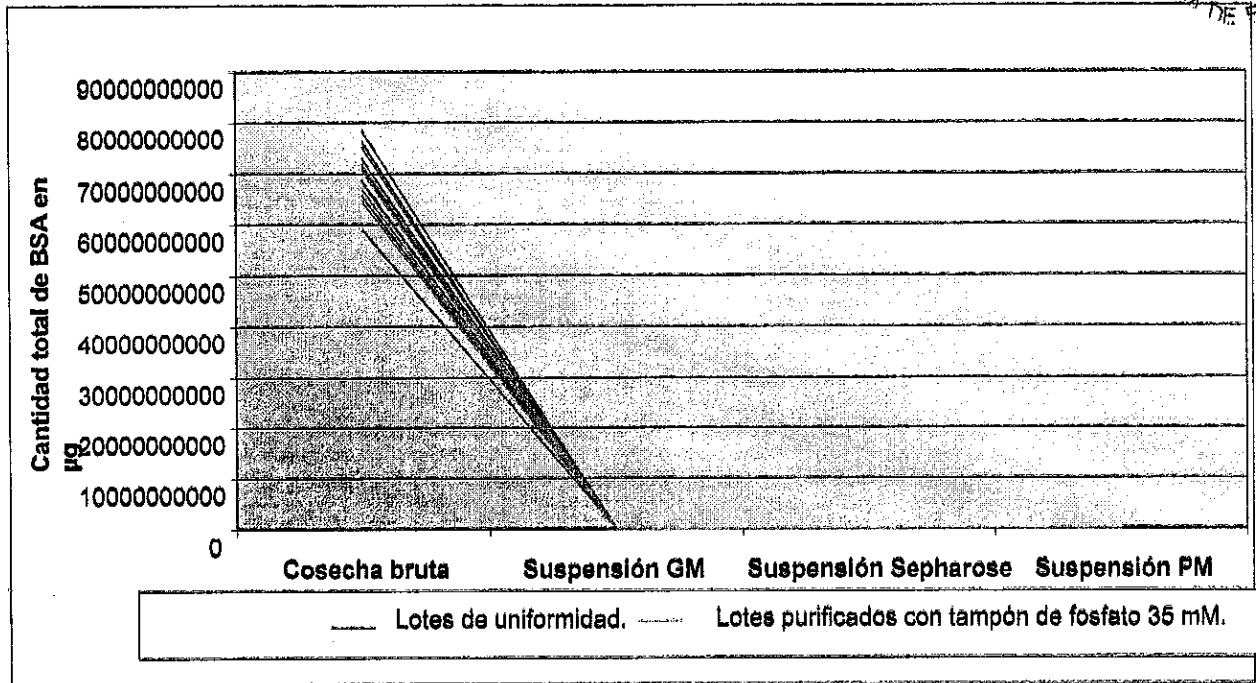


Figura 12: Eliminación de BSA durante el paso de purificación



Ácido desoxirribonucleico celular

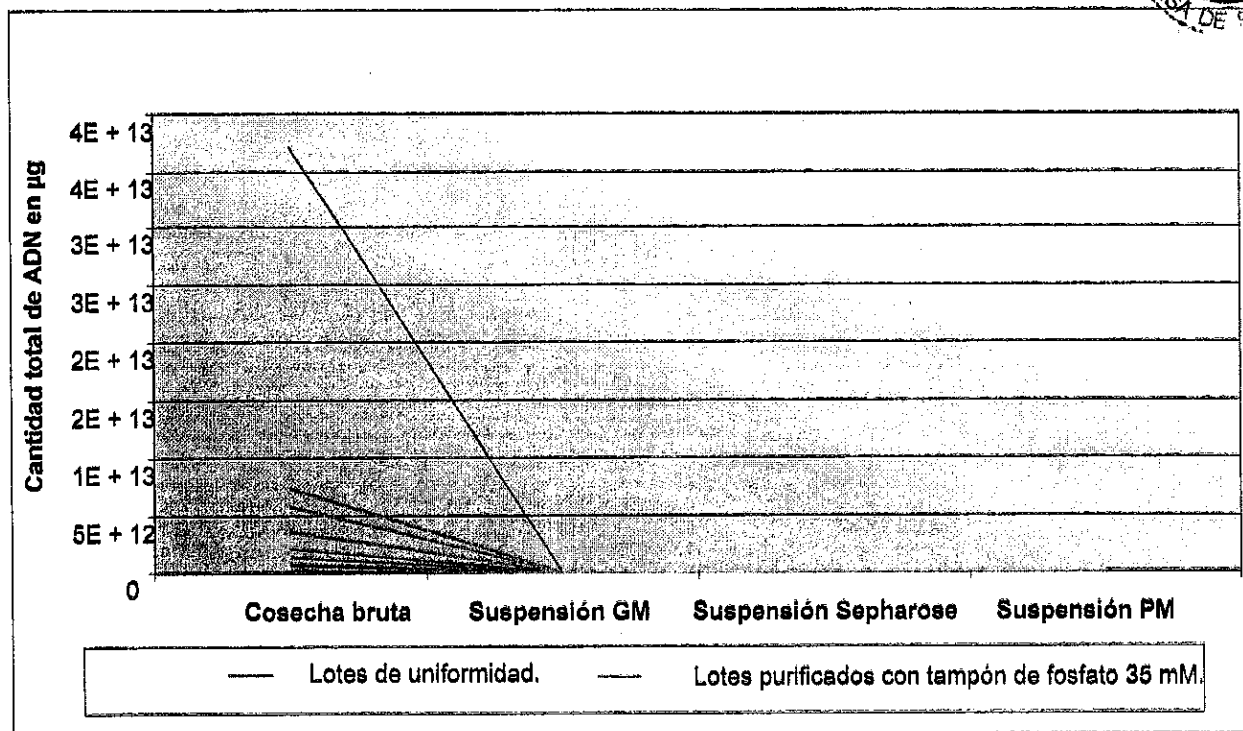
El perfil de eliminación de ADN de los cinco lotes industriales purificados con tampón de fosfato 35 mM es comparable con el perfil de eliminación de ADN observado para los lotes de uniformidad (vea la figura 13) excepto para el lote FA357183 en la etapa de suspensión GM. Se observa un resultado atípico para el contenido de ADN (17 400 pg/mL, vea la tabla 35). Se consideró que este resultado no tenía impacto sobre la calidad del producto ya que los resultados del contenido de ADN para los productos intermedios posteriores demuestran la eliminación del ADN.

[Signature]
 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A

[Signature]
 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 PROSEDERADO
 SANOFI PASTEUR S.A



Figura 13: Eliminación de ADN durante el paso de purificación

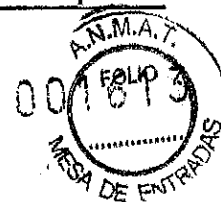


La cinética de eliminación del ADN demuestra la disminución de residuos de ADN, especialmente durante el primer paso cromatográfico.

Los datos obtenidos para las pruebas de caracterización (contenido de BSA y ADN, SDS Page) y los resultados del contenido de proteínas para los 5 lotes confirman la eliminación de impurezas durante el proceso de purificación (vea la figura 7, figura 12, figura 13 para la eliminación de proteínas, BSA y ADN, respectivamente, y los resultados para SDS Page en la tabla 35).

2.6.3 Conclusión

El estudio complementario realizado con 5 lotes industriales de CPVS purificados en condiciones normales con una concentración de tampón de fosfato 35 mM muestra que la eliminación de las impurezas para los cinco lotes industriales es comparable a la observada para los lotes de uniformidad purificados con una concentración de tampón de fosfato 25 mM. Los resultados del contenido de antígeno D y de la recuperación de antígeno D son aceptables en particular para el tipo 2. La calidad del producto, el rendimiento del proceso y la reproducibilidad de los lotes purificados con tampón de fosfato 35 mM son comparables a los obtenidos para los lotes de uniformidad purificados con una concentración de tampón de fosfato 25 mM.



3 Validación de la producción del trivalente concentrado

3.1 Introducción

Para elaborar el trivalente concentrado, se validó el paso de agitación durante la mezcla para comprobar la homogeneidad de la mezcla.

El paso de mezcla del trivalente concentrado se validó para asegurar que el producto elaborado cumple las especificaciones actuales, de forma reproducible y comparable.

3.2 Validación del paso de agitación durante la mezcla

3.2.1 Resumen del protocolo para la validación del paso de agitación durante la mezcla

El objetivo de esta validación es demostrar el control y la reproducibilidad del paso de agitación durante la mezcla del trivalente concentrado.

Durante la validación del paso de agitación se comprobó el siguiente parámetro:

- Homogeneidad del producto después del paso de agitación (al final de la mezcla). Se midió el contenido de sacarosa y la densidad óptica de un elemento marcador (rojo de fenol) antes y después de la mezcla.

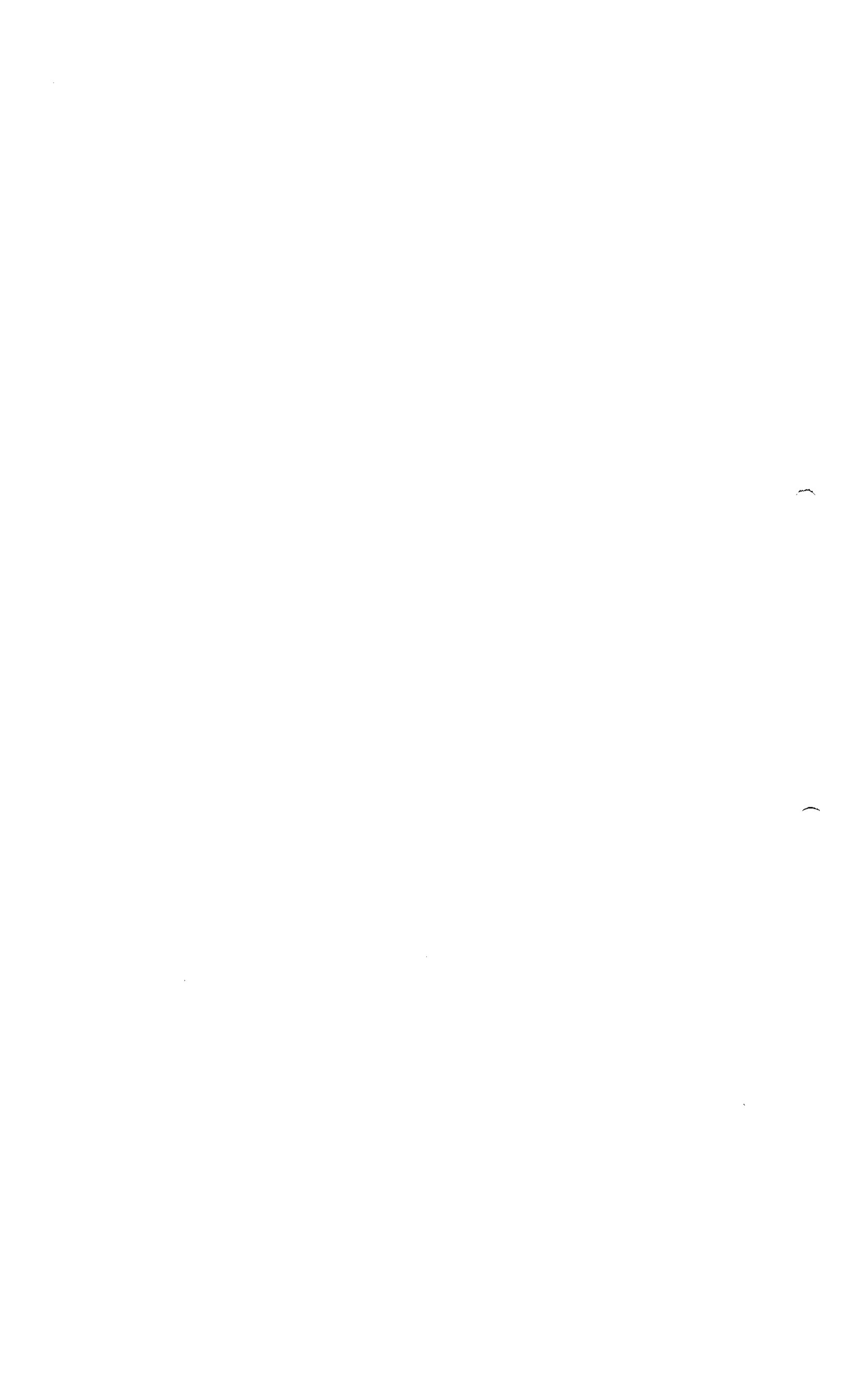
Las condiciones operativas y los lotes utilizados para la validación se resumen a continuación.

Condiciones operativas

La validación del paso de agitación durante la mezcla se llevó a cabo en las peores condiciones para la homogeneidad del producto (máximo tamaño del lote, mínima velocidad de agitación y mínima duración de la agitación). En la tabla 36 se presentan las condiciones operativas utilizadas durante la validación.

Tabla 36: Condiciones operativas para la validación de la agitación durante la mezcla

Volumen de mezcla	Velocidad de agitación	Duración de la agitación
300 L	280 rpm	30 min





Lotes de validación

Se elaboraron tres lotes consecutivos de solución simulada para este estudio de validación (ver la tabla 37).

Tabla 37: Soluciones simuladas finales

Serie	Tamaño del lote	Fecha de elaboración
N.º 1	300 L	23 feb 2001
N.º 2	300 L	01 mar 2001
N.º 3	300 L	07 mar 2001

La solución simulada está compuesta por una solución de sacarosa (al 20 %) y una solución de rojo de fenol (al 0,0004 %) que son representativas de los componentes del trivalente concentrado, en cuanto a sus características fisicoquímicas. La solución simulada final tiene mayor viscosidad que la viscosidad teórica del trivalente concentrado; representa el peor de los casos para la validación de la agitación durante la mezcla.

3.2.2 Datos de validación de la agitación durante la mezcla

Para comprobar la homogeneidad del producto después del paso de agitación (al final de la mezcla), se midió la densidad óptica del rojo de fenol, que es el elemento marcador de la solución simulada final, y el contenido de sacarosa de cinco muestras (fondo del tanque R1, centro izquierdo y derecho junto a las paredes R2, R4, centro de la solución R3 y superficie de la solución R5) antes y después del paso de agitación (a T0 y a T30 min).

Criterios de aceptación

Para el contenido de rojo de fenol: los resultados obtenidos son homogéneos en el tanque si todos se encuentran en el rango "media de los cinco valores $\pm 2\%$ ".

Para el contenido de sacarosa: los resultados obtenidos son homogéneos en el tanque si todos se encuentran en el rango "media de los cinco valores $\pm 10\%$ ".

Antes de añadir la solución de sacarosa a la solución de rojo de fenol se comprueba la homogeneidad de la solución de rojo de fenol midiendo su densidad óptica. La adición de la solución de sacarosa es el T0 del paso de agitación.

Los resultados se presentan en la tabla 38 y en la tabla 39.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
COORDINADOR
SANOFI PASTEUR S.A.



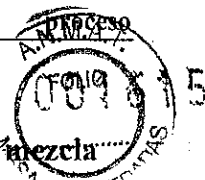


Tabla 38: Resultados de la densidad óptica para comprobar la homogeneidad de la mezcla

	Serie n.º 1		Serie n.º 2		Serie n.º 3	
	Antes de agitar T = 0 min	Después de agitar T = 30 min	Antes de agitar T = 0 min	Después de agitar T = 30 min	Antes de agitar T = 0 min	Después de agitar T = 30 min
DO* (R1-R2-R3-R4-R5)	0,219-0,334- 0,229-0,236-0,451	0,281-0,280- 0,280-0,281- 0,280	0,231-0,235- 0,234-0,234- 0,396	0,275-0,276- 0,277-0,278- 0,275	0,231-0,237- 0,237-0,236- 0,429	0,275-0,274- 0,274-0,274- 0,274
Criterios de aceptación	[0,288 ; 0,299]	[0,275 ; 0,286]	[0,261 ; 0,271]	[0,271 ; 0,281]	[0,269 ; 0,279]	[0,269 ; 0,279]
Conclusión	Heterogeneidad de la solución.	Homogeneidad de la solución.	Heterogeneidad de la solución.	Homogeneidad de la solución.	Heterogeneidad de la solución.	Homogeneidad de la solución.

* DO equivale a densidad óptica.

