

2 Materiales utilizados durante la producción de lotes de siembra de *Clostridium tetani*

Los materiales utilizados en la elaboración de los lotes de siembra de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con las monografías de la Farmacopea Europea se presentan en la tabla 3.

Tabla 3: Materiales utilizados en la elaboración de los lotes de siembra de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Agua purificada	0008	Solución de leche descremada	Liofilización de lotes de siembra maestros y de trabajo
		Caldo de tioglicolato con extracto de carne	Cultivo de lotes de siembra maestros (22.10.91)
		Caldo de tioglicolato y resazurina (sin extracto de carne)	Cultivo de lotes de siembra de trabajo

Los materiales utilizados en la elaboración de los lotes de siembra de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con los procedimientos internos se presentan en la tabla 4.

Tabla 4: Materiales utilizados en la elaboración de los lotes de siembra de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con los procedimientos internos

Material	Utilización	Etapas de producción
Leche descremada*	Solución de leche descremada	Liofilización de lotes de siembra maestros y de trabajo
Caldo de tioglicolato (con extracto de carne)*	Cultivo	Cultivo del MSL†
Caldo de tioglicolato y resazurina (sin extracto de carne)*	Cultivo	Cultivo del MSL† y cultivo del WSL

* Material de origen animal: consulte la sección 3.2.S.2.3 Control de materiales fuente y de inicio de origen biológico

† Los siguientes cultivos de lotes de siembra maestros se prepararán con caldo de tioglicolato y resazurina (sin extracto de carne). Como la proteína tetánica puede provenir del lote de siembra maestro (MSL 22.10.91, elaborado en octubre de 1991) preparado antes del cambio aprobado, en esta tabla se presentan ambos caldos de tioglicolato.





3 Materiales utilizados en la elaboración del granel de polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b concentrado conjugado y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

3.1 Materiales utilizados en la elaboración del *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea


Los materiales utilizados en la elaboración del polisacárido de *Haemophilus* tipo b y analizados de acuerdo con las monografías de la Farmacopea Europea se presentan en la tabla 5 y en la tabla 6.

Tabla 5: Materiales utilizados durante la fermentación de *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Agua purificada	0008	Medio sólido (agar de carbón vegetal)	Etapas 1.1: 1 ^{er} precultivo
Cloruro de calcio (CaCl ₂ , 2H ₂ O)	0015	Medio líquido	Etapas 1.2: 2 ^o precultivo
Fosfato disódico dodecahidrato (12H ₂ O)	0118		Etapas 1.3: 3 ^{er} precultivo
Glucosa anhidra	0177		Etapas 1.4: Cultivo industrial
L-cistina *	0998		
L-Triptófano	1272		
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ , 7H ₂ O)	0044		
Dihidrogenofosfato de sodio dihidratado	0194		
Lactato de sodio (solución al 60 % o 50 %)	1151		
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	0002		
Agua purificada	0008		
Solución de formaldehído	0826	Cosecha de polisacárido	Etapas 1.5a: Tratamiento con formaldehído
Cetrimida	0378†	Precipitación	Etapas 1.6: Extracción

* Desde febrero de 2007, la L-cistina de origen animal se reemplazó por otra de origen sintético.

† Salvo la prueba de identificación mediante cromatografía de capa fina (TLC), reemplazada por infrarrojo (Ph. Eur. 2.2.24)


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.



 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 GERENTE
 SANOFI PASTEUR S.A.





Tabla 6: Materiales utilizados durante la purificación del polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Cloruro de sodio (NaCl)	0193	Preparación de la solución de cloruro de sodio 0,3 M	Etapa 1.7a: Disociación del complejo PRP-cetrimida Etapa 1.7b: Precipitación con etanol al 60 %
Agua purificada	0008		
Ácido acético concentrado	0590	Purificación final (tampón de acetato de sodio)	Etapa 1.8a: Extracción con fenol
Acetato de sodio (3H ₂ O)	0411		
Agua purificada	0008		
Fenol	0631	Purificación final	Etapa 1.8a: Extracción con fenol
Acetona	0872	Precipitación con etanol	Etapa 1.9b: Lavado con etanol absoluto, acetona y éter
Éter anestésico	0367		

3.2 Materiales utilizados en la elaboración de la proteína tetánica concentrada y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Los materiales utilizados en la elaboración de la proteína tetánica concentrada y analizados de acuerdo con las monografías de la Farmacopea Europea se presentan en la tabla 7 y en la tabla 8.

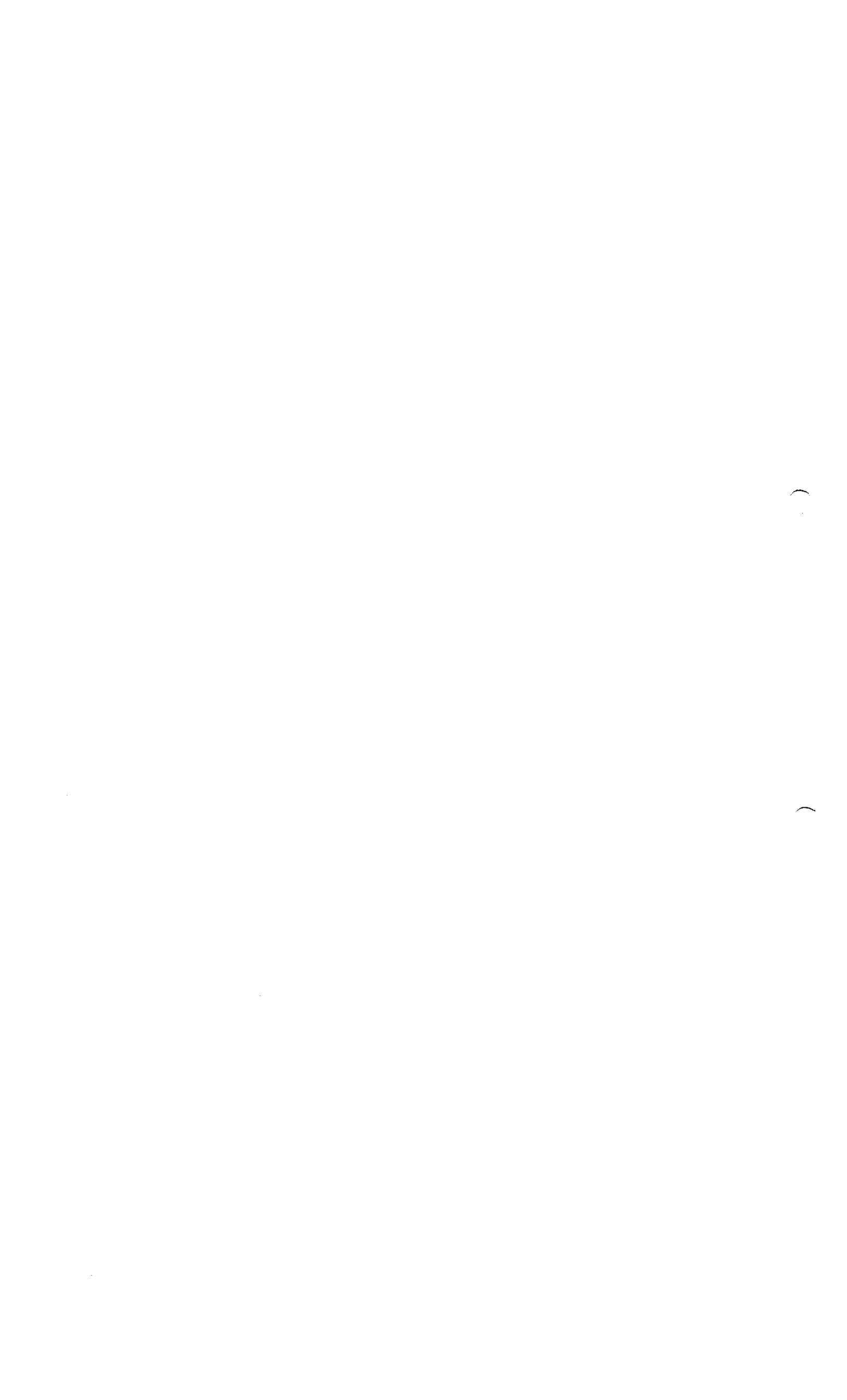




Tabla 7: Materiales utilizados en la fermentación de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Biotina	1073	Medio de Massachusetts	Etapa 2.3: 2º precultivo Etapa 2.4: 3º precultivo Etapa 2.5: Cultivo industrial
Pantotenato de calcio (B5)	0470		
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	0002		
Cianocobalamina	0547		
Fosfato disódico dodecahidrato (12H ₂ O)	0118		
Sulfato ferroso, 7 H ₂ O	0083		
Glucosa anhidra	0177		
L-cistina *	0998		
L-tirosina*	1161		
Sulfato de magnesio, 7H ₂ O	0044		
Fosfato monopotásico	0920		
Agua purificada	0008		
Clorhidrato de piridoxina (B6)	0245		
Riboflavina (B2)	0292		
Cloruro de sodio (NaCl)	0193		
Hidróxido de sodio (NaOH)	0677		
Clorhidrato de tiamina (B1)	0303		
Carbón vegetal	0313†		
Cloruro de sodio (NaCl)	0193	Lisis celular	Etapa 2.6b: Adición de cloruro de sodio y citrato de sodio
Citrato de sodio	0412		
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	0002	Tampón fosfato disódico (0,07 M), pH 8,2	Etapa 2.7c: Diafiltración con tampón de fosfato disódico
Fosfato disódico dodecahidrato (12H ₂ O)	0118		
Agua purificada	0008		

* Desde febrero de 2007, la L-cistina de origen animal se reemplazó por otra de origen sintético.

† Salvo la potencia de adsorción cuyo límite se adapta (≥ 14,5 % p/p)





Tabla 8: Materiales utilizados durante la purificación, detoxificación y concentración de la toxina tetánica y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	0002	Ajuste de volumen de la toxina diafiltrada y concentrada, y precipitación de la toxina tetánica	Etapa 2.8: Ajuste de volumen Etapa 2.9b: Segunda precipitación con sulfato de amonio
Fosfato disódico dodecahidrato (12H ₂ O)	0118		
Agua purificada	0008		
Solución de formaldehído	0826	Inactivación	Etapa 2.10a: Tratamiento con formaldehído
Cloruro de sodio (NaCl)	0193	Diafiltración	Etapa 2.11a: Diafiltración para preparar la proteína tetánica concentrada
Agua purificada	0008		

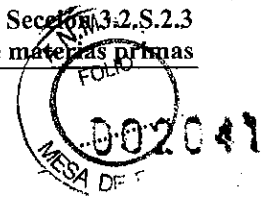
3.3 Materiales utilizados en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Los materiales utilizados en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con las monografías de la Farmacopea Europea se presentan en la tabla 9.

Tabla 9: Materiales utilizados en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con la Farmacopea Europea

Material	Ph. Eur. Monografía	Utilización	Etapas de producción
Ácido clorhídrico concentrado (HCl)	0002	Ajuste del pH	Preparación de PRP-AH Preparación del PRP-T
Hidróxido de sodio (NaOH)	0677		Preparación de PRP-AH Preparación del PRP-T
Agua purificada	0008	Preparación de PRP-AH Dilución del PRP-T	Etapa 1.11a: Disolución del PRP Etapa 1.11d: Purificación
Cloruro de sodio (NaCl)	0193	Preparación de PRP-AH Preparación del PRP-T	Etapa 1.11d: Purificación Etapa 3a: Reacción de unión
Sacarosa	0204	Dilución del PRP-T	Etapa 3b: Purificación
Trometamol	1053		





4 Materiales utilizados en la elaboración del granel de polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b concentrado conjugado y analizados de acuerdo con especificaciones internas

4.1 Materiales utilizados en la elaboración del polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Los materiales utilizados en la elaboración del polisacárido de *Haemophilus* tipo b y analizados de acuerdo con monografías internas se describen en la tabla 10 y en la tabla 11. Las especificaciones internas (pruebas y criterios de aceptación) de estos materiales se presentan en el capítulo 4.4.

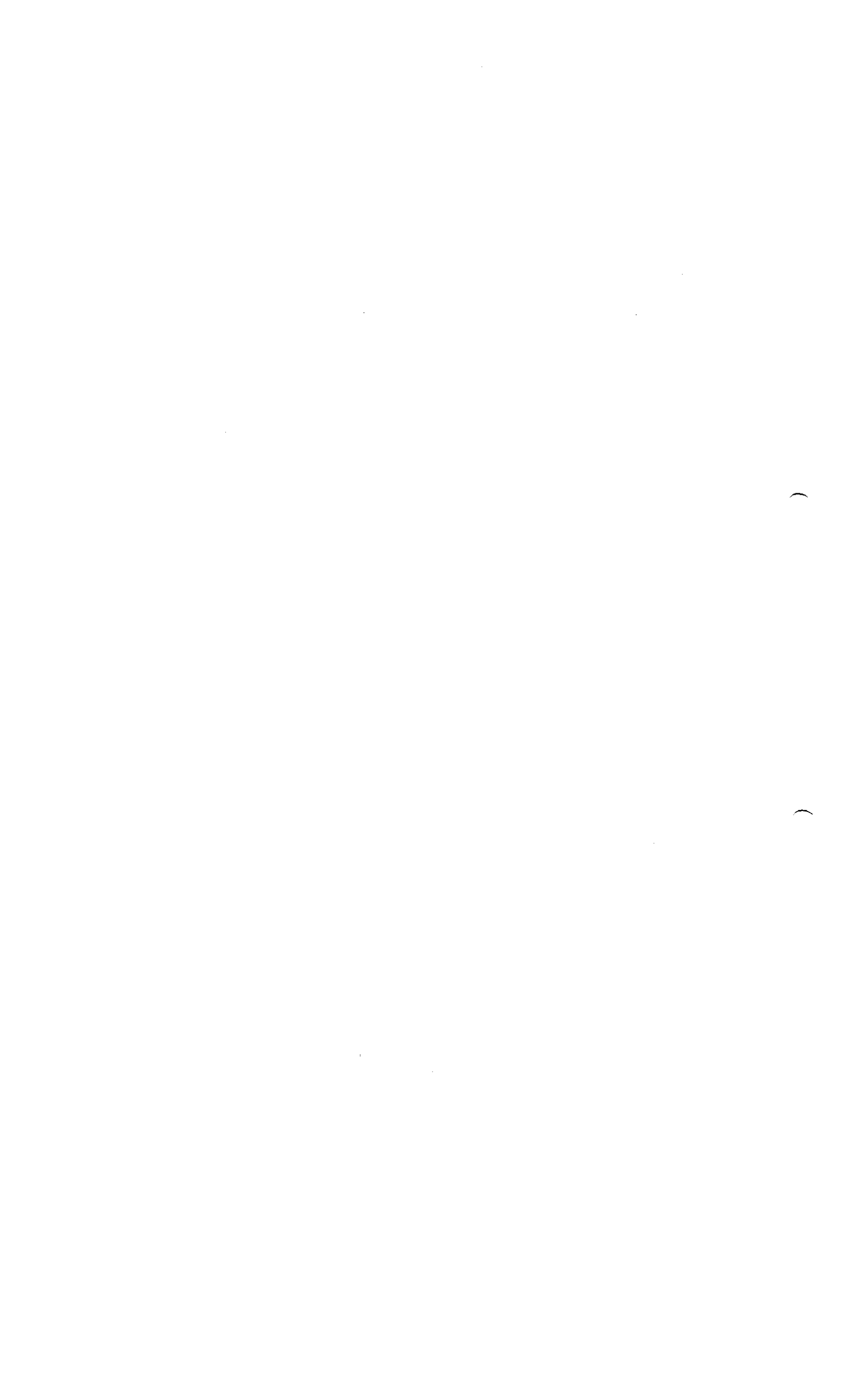
Tabla 10: Materiales utilizados durante la fermentación del *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con especificaciones internas

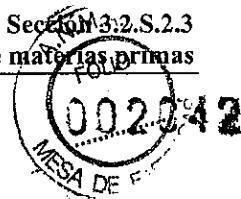
Material	Utilización	Etapas de producción
Leche descremada*	Solución de leche descremada	Liofilización de lotes de siembra de trabajo
Caldo de tripcasa de soja*	Reconstitución	Rehidratación de lotes de siembra de trabajo
Sangre de caballo desfibrinada*	Medio sólido (agar de carbón vegetal)	Producción del WSL
Agar de carbón vegetal*		Etapas 1.1: 1 ^{er} precultivo
Hidrolizado ácido de caseína*	Medio líquido	Etapas 1.2: 2 ^o precultivo
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄		Etapas 1.3: 3 ^{er} precultivo
Sal disódica de protoporfirina IX sintética		Etapas 1.4: Cultivo industrial
Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)		
Extracto de levadura		
Antiespumante		

* Material de origen animal: consulte la sección 3.2.S.2.3 Control de materiales fuente y de inicio de origen biológico

Tabla 11: Materiales utilizados durante la purificación del polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Material	Utilización	Etapas de producción
Etanol anhidro	Precipitación del polisacárido capsular	Etapas 1.7b: Precipitación con etanol al 60 % Etapas 1.9a: Precipitación con etanol al 60 % en presencia de NaCl
	Lavado del polisacárido capsular	Etapas 1.7c: Lavado (precipitación preliminar) Etapas 1.9b: Lavado (precipitación de PRP)





4.2 Materiales utilizados en la elaboración de la proteína tetánica concentrada y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Los materiales utilizados en la elaboración del toxoide tetánico concentrado y analizados según las monografías internas se describen en la tabla 12 y en la tabla 13. Las especificaciones internas (pruebas y criterios de aceptación) para estos materiales se presentan en el capítulo 4.4.

Tabla 12: Materiales utilizados en la fermentación de *Clostridium tetani* y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Material	Utilización	Etapas de producción
Medio de tioglicolato y resazurina*	Medio de tioglicolato y resazurina	Etapa 2.1: Preparación del inóculo y de los subcultivos Etapa 2.2: 1 ^{er} precultivo
Triptona V*	Medio de Massachusetts	Etapa 2.3: 2 ^o precultivo Etapa 2.4: 3 ^{er} precultivo Etapa 2.5: Cultivo industrial
Infusión de corazón de buey*		
Uracilo		
Péptidos N3		
Ácido pirídico 2,6-dicarboxílico		
Etanol anhidro		

* Material de origen animal: consulte la sección 3.2.S.2.3 Control de materiales fuente y de inicio de origen biológico

Tabla 13: Materiales utilizados durante la purificación, detoxificación y concentración de la toxina tetánica y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Material	Utilización	Etapas de producción
Sulfato de amonio	Precipitación de la toxina tetánica	Etapa 2.9a: Primera precipitación Etapa 2.9b: Segunda precipitación





4.3 Materiales utilizados en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con especificaciones internas

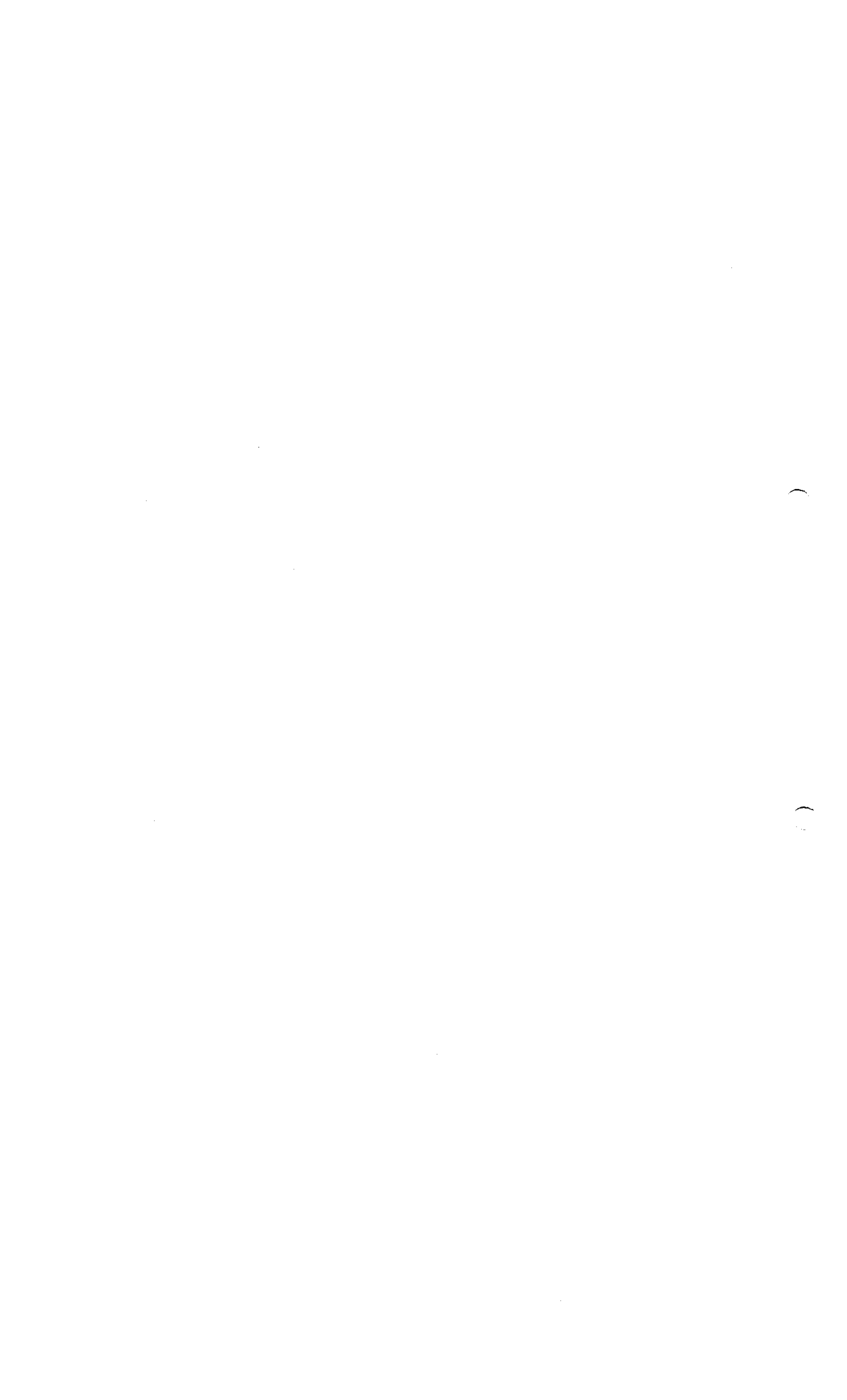
Los materiales utilizados en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con monografías internas se presentan en la tabla 14. Las especificaciones internas (pruebas y criterios de aceptación) de estos materiales se presentan en el capítulo 4.4.

Tabla 14: Materias primas utilizadas en el proceso de conjugación y analizados de acuerdo con especificaciones internas

Material	Utilización	Etapas de producción
Bromuro de cianógeno (CNBr)	Activación	Etapas 1.11b: Activación del PRP
Dihidrazida del ácido adípico (ADH)	Activación	Etapas 1.11c: Unión con dihidrazida de ácido adípico
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil carbodiimida): EDAC	Etapas de conjugación	Etapas 3a: Reacción de unión

4.4 Especificaciones internas para los materiales utilizados en la elaboración del granel de polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b concentrado conjugado

Para las materias primas que se controlan con especificaciones internas, las pruebas y los criterios de aceptación se presentan a continuación (tabla 15 a tabla 24). Las materias primas de origen animal se comentan en la sección 3.2.S.2.3. Control de los materiales fuente y de inicio de origen biológico





4.4.1 Sulfato de amonio

Las especificaciones internas para el sulfato de amonio se presentan en la tabla 15.

Tabla 15: Especificaciones internas para el sulfato de amonio

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Cristales incoloros de gránulos blancos/casi blancos Agua: muy soluble Alcohol: prácticamente insoluble
Identificación: - Reacción de sales de amonio - Reacción de sulfatos	Positivo Positivo
Pruebas: - pH (solución acuosa al 5 % p/v) - Cenizas sulfatadas - Cloruros - Fosfatos - Hierro - Metales pesados - Materia insoluble - Nitratos - Arsénico	4,5 a 6,0 ≤ 0,1% (p/p) ≤ 5 ppm ≤ 5 ppm ≤ 5 ppm ≤ 5 ppm ≤ 0,005% (p/p) ≤ 0,001% (p/p) ≤ 0,2 ppm
Contenido de (NH₄)₂SO₄	≥ 99,0% (p/p)



4.4.2 Nicotinamida adenina dinucleótido

Las especificaciones internas referidas a la nicotinamida adenina dinucleótido se presentan en la tabla 16.

Tabla 16: Especificaciones internas referidas a la nicotinamida adenina dinucleótido

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco Agua: Soluble Alcohol: Insoluble
Identificación (A o B/C): - A: Espectro IR - B: Espectro UV - C: pH de solución al 1 % p/v	Cumple con el espectro de referencia Aprobado (A: máximo a 258 nm y mínimo a 234 nm en solución en agua. B: en presencia de hidróxido de sodio e hidrogenosulfito de sodio: máximo a 260 nm) 2,6 a 3,0
Pruebas: - Pérdida en el secado - Cenizas	$\leq 10,0\%$ p/p $\leq 10,0\%$ p/p

4.4.3 Antiespumante

Las especificaciones internas para el antiespumante se presentan en la tabla 17.

Tabla 17: Especificaciones internas para el antiespumante

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Suspensión gris blanqueza Agua: insoluble (emulsión) Cloroformo: soluble
Identificación: - Reacción de silicato	Positivo
Pruebas: - Sustancias volátiles - Metales pesados - Toxicidad anormal	$\leq 1,0\%$ (p/p) ≤ 10 ppm Cumple con la Ph. Eur. 2.6.9







4.4.4 Extracto de levadura

Las especificaciones internas para el extracto de levadura se presentan en la tabla 18.

Tabla 18: Especificaciones internas para el extracto de levadura

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad - 1g de extracto de levadura / 5 mL de agua - 1g de extracto de levadura / 2 mL de agua - Reacción con ninhidrina	Polvo beige transparente Solución amarilla transparente Solución turbia Positivo
Pruebas: - pH de solución al 5 % p/v en agua purificada - Pérdida en el secado - Cenizas sulfatadas - Proteína coagulada - Cloruros, expresados como NaCl - Contaminación microbiana	6,0-7,5 ≤ 5% p/p ≤ 15% p/p Ausencia ≤ 5% p/p ≤ 10 ³ UFC/g
Contenido de nitrógeno total	9,0-12,0 % de nitrógeno, en producto seco


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 GERENTE
 SANOFI PASTEUR S.A.





4.4.5 Etanol anhidro

Las especificaciones internas para el etanol anhidro se presentan en la tabla 19.

Tabla 19: Especificaciones internas para el etanol anhidro

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Líquido incoloro, transparente y volátil Agua: Miscible Cloruro de metileno: Miscible
Identificación: - Densidad - Espectro IR - Reacción con KMnO_4 y H_2SO_4 - Reacción con yodo	0,790-0,793 Cumple con el espectro de referencia Color azul Precipitado amarillo
Pruebas: - Aspecto - Aspecto luego de una dilución al 5 % v/v - Acidez-alkalinidad - Densidad relativa - Absorbancia - Benceno - Impurezas volátiles - Residuo por evaporación	Transparente e incoloro Transparente Aprobado 0,790-0,793 Aprobado Aprobado Aprobado Aprobado ≤ 25 ppm (p/v)
Contenido de $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ (a 20 °C)	$\geq 99,5$ % v/v (99,2 % p/p)



4.4.6 Ácido pirídico 2,6-dicarboxílico

Las especificaciones internas para el ácido pirídico 2,6-dicarboxílico se presentan en la tabla 20.

Tabla 20: Especificaciones internas para el ácido pirídico 2,6-dicarboxílico

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco Agua: Levemente soluble Alcohol: Soluble a alta temperatura
Identificación: - Reacción con CuSO ₄ - Espectro IR	Precipitado azul Cumple con el espectro de referencia
Pruebas: - Pérdida en el secado - Cenizas sulfatadas - Metales pesados - pH (solución acuosa a 2 razón de g/litro)	≤ 0,5% p/p ≤ 0,2 % p/p Sin color marrón < 2,5
Contenido de C₇H₅NO₄	≥ 98,0% p/p

4.4.7 Uracilo

Las especificaciones internas para el uracilo se presentan en la tabla 21.

Tabla 21: Especificaciones internas para el uracilo

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco a blanco cremoso Agua fría: Levemente soluble Agua caliente: Soluble Alcohol: Prácticamente insoluble
Identificación: - Punto de fusión - Espectro IR - Espectro UV	> 300 °C Cumple con el espectro de referencia Máximo a 202,5 y 259,5 nm
Pruebas: - Pérdida en el secado - Residuo de ignición	≤ 2,0 % p/p ≤ 0,25 p/p
Contenido de nitrógeno total	24,5-25,5 % p/p en producto desecado



4.4.8 Bromuro de cianógeno

Las especificaciones internas para el bromuro de cianógeno se presentan en la tabla 22.

Tabla 22: Especificaciones internas referidas al bromuro de cianógeno

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto	Cristales incoloros
Identificación: - Reacción de bromuro - Reacción de piridina-ácido barbitúrico	Precipitado amarillo pálido Color rojo
Contenido de BrCN	≥ 90,0 % (p/p)

4.4.9 Dihidrazida del ácido adípico

Las especificaciones internas para la dihidrazida del ácido adípico se presentan en la tabla 23.

Tabla 23: Especificaciones internas para la dihidrazida del ácido adípico

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco fino Agua: Soluble
Identificación - Punto de fusión - Espectro IR	+180 °C a +183 °C Cumple con el espectro de referencia
Pruebas: - Pérdida en el secado - Cenizas sulfatadas	≤ 2,0% (p/p) ≤ 0,5 % (p/p)
Contenido de C₆H₁₄O₂N₄	≥ 94,0 % p/p



4.4.10 1-etil-3-(3-dimetil aminopropil carbodiimida)/EDAC

Las especificaciones internas para la EDAC se presentan en la tabla 24.

Tabla 24: Especificaciones internas para la 1-etil-3-(3-dimetil aminopropil carbodiimida)

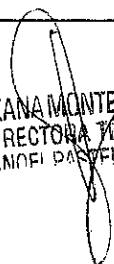

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco Agua: Soluble
Identificación: - Punto de fusión - Espectro IR	+109 °C a +113 °C Cumple con el espectro de referencia
Pruebas: - Pérdida en el secado - Cenizas sulfatadas - Contenido de arsénico - Contenido de metales pesados	≤ 0,5 % (p/p) ≤ 0,5 % (p/p) ≤ 2 ppm ≤ 20 ppm
Contenido de cloruros	18,0-19,0 % p/p

4.4.11 Sal disódica de protoporfirina IX sintética

Las especificaciones internas para la sal disódica de protoporfirina IX sintética se presentan en la tabla 25.

Tabla 25: Especificaciones internas para la sal disódica de protoporfirina IX sintética

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto	Polvo oscuro con reflejos de rojos a cafés
Identificación: - Espectro IR	Cumple con el espectro de referencia
Pureza	≤ 90,0 % p/p en materia seca


 ROXANA MONTEMILOME
 DIRECTORA GENERAL
 SANOFI PASTEUR S.A.

 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 GERENTE
 SANOFI PASTEUR S.A.

