

3.9 Péptidos N3

Las especificaciones internas para los péptidos N3 se presentan en la tabla 11.

Tabla 11: Especificaciones internas para los péptidos N3

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo blanco o casi blanco Agua: Libremente soluble (puede mostrar turbidez) Etanol: Prácticamente insoluble
Identificación: - Cromatografía de capa fina - Reacción con carbonato de sodio y CuSO ₄ - Precipitación con ácido fosfotúngstico	Aprobado Aparición de un color rosa violáceo que cambia a azul violáceo Formación de un precipitado
Pruebas: - Medición del pH (solución acuosa al 10 % (p/v)) - Grado de digestión - Caseína no hidrolizada - Proteasa - Triptófano - Cloruros, expresados como NaCl - Histamina - Indol - Pérdida en el secado - Cenizas sulfatadas - Recuento microbiano - Recuento total de bacterias aerobias viables - <i>Escherichia Coli</i> - <i>Salmonella</i>	5,0 a 6,5 Ausencia Presencia Ausencia ≤ 1,0% p/p ≤ 100 µg/g Ausencia ≤ 6,0% p/p ≤ 3,0% p/p ≤ 5,10 ³ UFC/g Ausencia Ausencia
Análisis: - Contenido total de nitrógeno - Contenido de aminonitrógeno	13,5 a 16,0 % p/p en el producto desecado 2,5 a 4,5 % p/p en el producto desecado
Origen (bovino) Cumplimiento con las ediciones vigentes de la Ph. Eur. 1483 y Ph. Eur. 5.2.8 con base en la revisión de la documentación del proveedor.	Cumple





3.10 Medio de tioglicolato (con extracto de carne)

Las especificaciones internas para el medio de tioglicolato (con extracto de carne) se presentan en la tabla 12.

Tabla 12: Especificaciones internas para el medio de tioglicolato (con extracto de carne)

Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo fino de color crema para el medio. Agua: Soluble
Identificación: - Reacción con ácido fosfotúngstico - Reacción con ninhidrina	Precipitado blanquecino Coloración púrpura
Medición del pH	6,9 a 7,3
Origen (bovino) Cumplimiento con las ediciones vigentes de la Ph. Eur. 1483; Ph. Eur. 5.2.8 y con la edición vigente de la CEP, con base en la revisión de la documentación del proveedor	Cumple

3.11 Medio o caldo de tioglicolato y resazurina (sin extracto de carne)

Las especificaciones internas para el medio o caldo de tioglicolato y resazurina se presentan en la tabla 13 (en polvo) y en la tabla 14 (en forma líquida).

Tabla 13: Especificaciones internas para el caldo de tioglicolato y resazurina (en polvo)

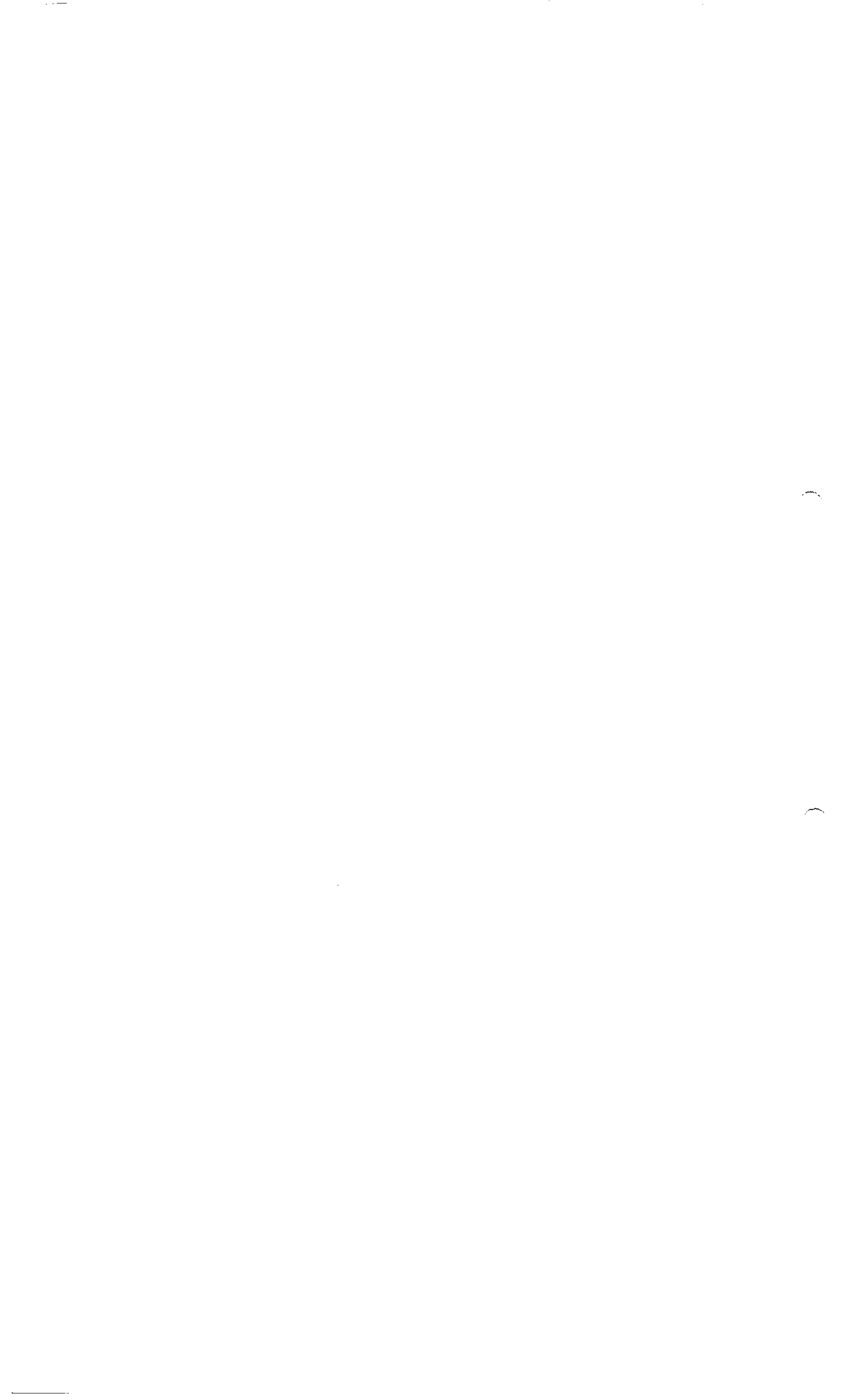
Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Polvo fino de color crema para el medio. Agua: Soluble
Identificación - Reacción con ácido fosfotúngstico - Reacción con ninhidrina - Aspecto en solución	Precipitado blanquecino Coloración púrpura Líquido ligeramente viscoso en cuya superficie podría aparecer un anillo malva rosáceo.
Medición del pH	6,9 a 7,3
Origen (bovino) Cumplimiento con las ediciones vigentes de la Ph. Eur. 1483 y Ph. Eur. 5.2.8 con base en la revisión de la documentación del proveedor.	Cumple





Tabla 14: Especificaciones internas para el medio de tioglicolato y resazurina (en forma líquida)


Pruebas	Criterios de aceptación
Características: - Aspecto - Solubilidad	Líquido ligeramente viscoso en cuya superficie podría aparecer un anillo malva rosáceo. Agua: Soluble
Identificación - Reacción con ácido fosfotúngstico - Reacción con ninhidrina	Precipitado blanquecino Coloración púrpura
Medición del pH	6,9 a 7,3
Origen (bovino) Cumplimiento con las ediciones vigentes de la Ph. Eur. 1483 y Ph. Eur. 5.2.8 con base en la revisión de la documentación del proveedor.	Cumple






3.2.S.2.3

Sistema de Lotes de Siembra, Caracterización y Pruebas - PRP-T


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANGRE PASTEUR S.A


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANGRE PASTEUR S.A





Sección 3.2.S.2.3 - Control de materiales

Sistema de lotes de siembra, caracterización y pruebas

Índice

Lista de tablas	3
Lista de figuras	4
1 Panorama del sistema de lotes de siembra.....	5
1.1 Sistema de lotes de siembra de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	5
1.1.1 Preparación del lote de siembra premaestro	7
1.1.2 Preparación del lote de siembra maestro	7
1.1.3 Preparación de los lotes de siembra de trabajo.....	8
1.2 Sistema de lotes de siembra de <i>Clostridium tetani</i>	8
1.2.1 Preparación del lote de siembra maestro	10
1.2.2 Preparación de los lotes de siembra de trabajo.....	10
2 Medios de cultivo y soluciones utilizadas para la elaboración de los lotes de siembra	12
2.1 Medios de cultivo y soluciones utilizadas durante la elaboración de los lotes de siembra de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	12
2.1.1 Caldo de tripCasa de soja	12
2.1.2 Agar de carbón vegetal (medio sólido).....	12
2.1.3 Solución de leche descremada.....	12
2.2 Medios de cultivo y soluciones utilizadas para la elaboración de los lotes de siembra de <i>Clostridium tetani</i>	12
2.2.1 Solución de leche descremada.....	12
2.2.2 Caldo de tioglicolato con extracto de carne	12
2.2.3 Medio o caldo de tioglicolato y resazurina (sin extracto de carne).....	13
3 Pruebas de control de calidad para los lotes de siembra	14
3.1 Pruebas de control de calidad para los lotes de siembra de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b.....	14
3.2 Pruebas de control de calidad para los lotes de siembra de <i>Clostridium tetani</i>	15
3.3 Procedimientos analíticos	16
3.3.1 Prueba de pureza.....	16
3.3.2 Prueba de identidad	17
3.3.3 Prueba de caracterización adicional: Prueba de inmunogenicidad en ratones	20



4 Datos de control de calidad para los lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b y de *Clostridium tetani*.....

4.1 Análisis de lote de los lotes de siembra maestro y de trabajo de *Haemophilus influenzae* tipo b21

4.2 Análisis de lote de los lotes de siembra maestro y de trabajo de *Clostridium tetani*.....23





Lista de figuras

Figura 1: Panorama del sistema de lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b5
Figura 2: Preparación del lote de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b6
Figura 3: Panorama del sistema de lotes de siembra de *Clostridium tetani*8
Figura 4: Preparación del lote de siembra de *Clostridium tetani*9





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

1 Panorama del sistema de lotes de siembra

La producción del principio activo se basa en 2 sistemas de lotes de siembra:

- Lotes de siembra premaestro, maestro y de trabajo de *Haemophilus influenzae* tipo b. La evolución e historia del sistema de lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* se proporcionan en la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración
- Lotes de siembra maestro y de trabajo de *Clostridium tetani*.

1.1 Sistema de lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b

En la figura 1 se proporciona un panorama del sistema de lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b.

Figura 1: Panorama del sistema de lotes de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b

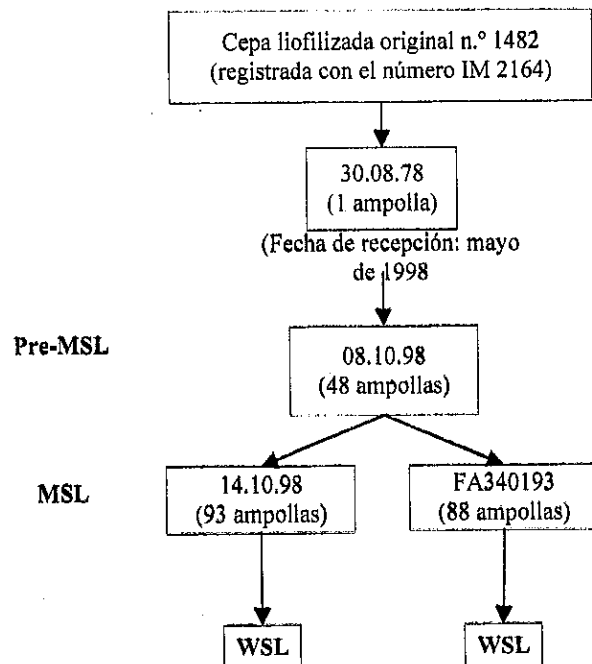
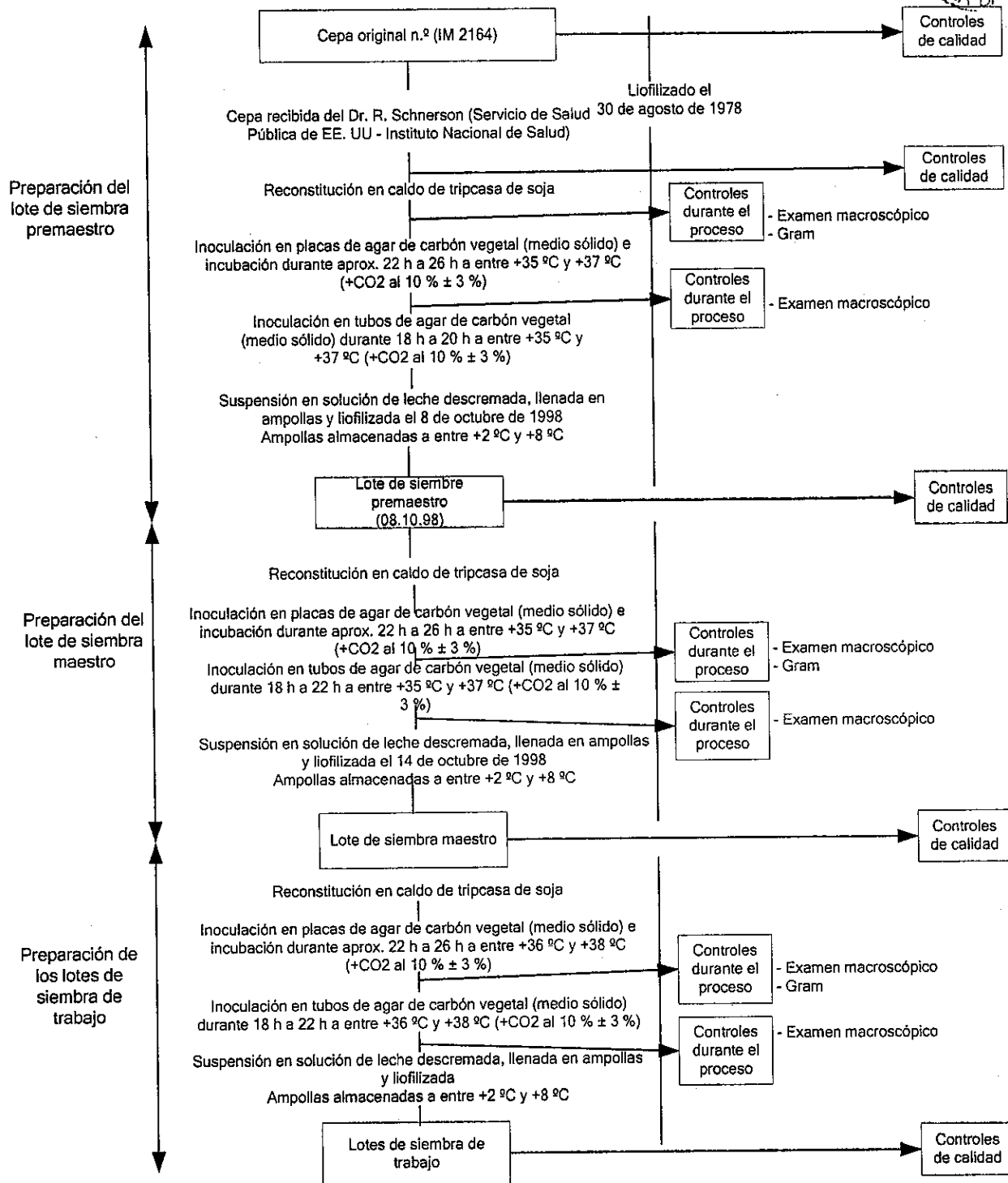


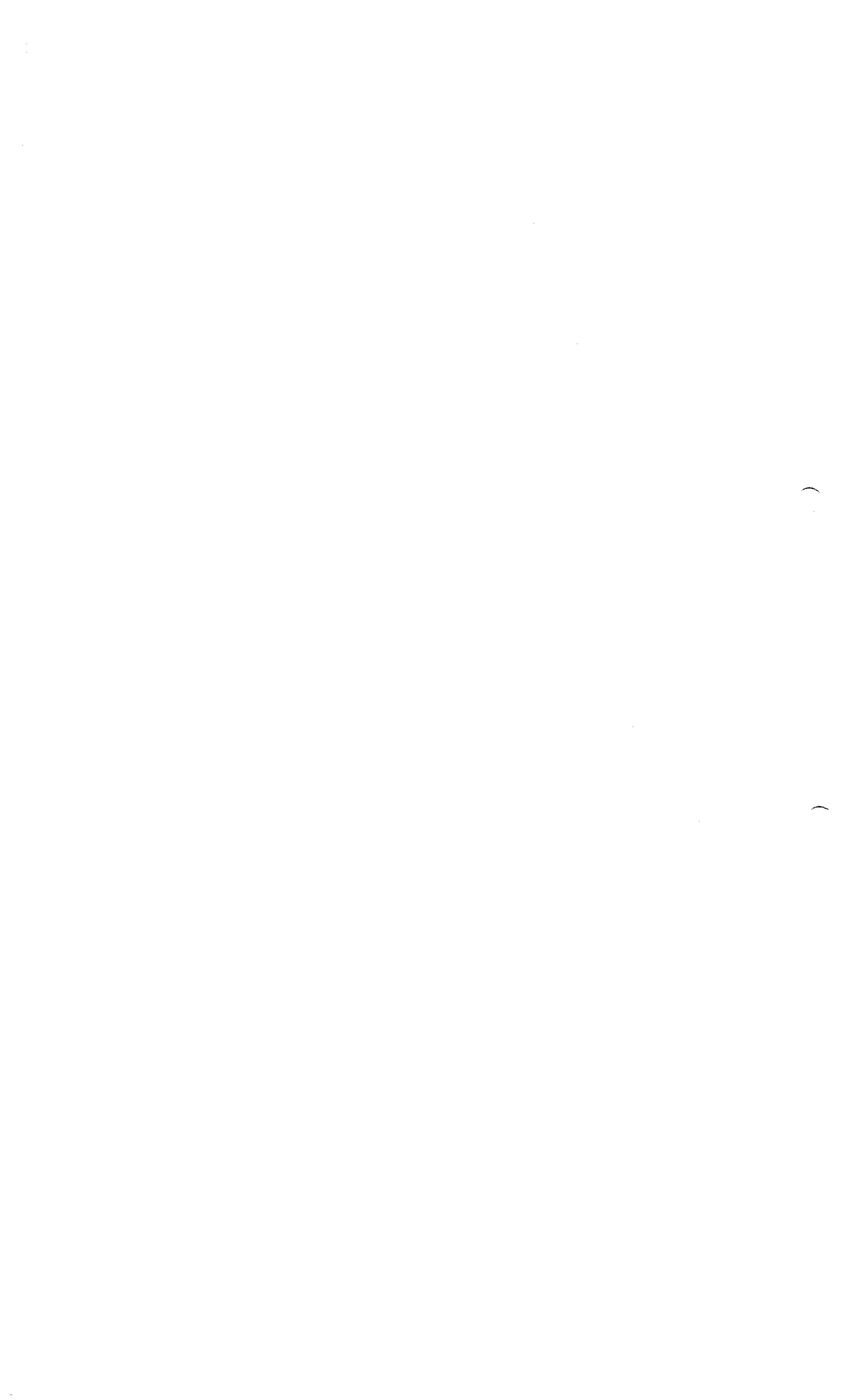




Figura 2: Preparación del lote de siembra de *Haemophilus influenzae* tipo b



OXANA MONTMILONE DIRECTORA TÉCNICA
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
SANOFI PASTEUR S.A.





1.1.1 Preparación del lote de siembra premaestro

El Dr. R. Schnerson, Servicio de Salud Pública de Estados Unidos del Instituto Nacional de Salud, proporcionó una cepa liofilizada de *Haemophilus influenzae* tipo b identificada con el n.º 1482, en mayo de 1978.

Se recibió esta ampolla y se registró con el n.º IM2164 después de la verificación de la identidad bacteriológica y de la pureza (identificación del género y de las especies, aspecto típico de la colonia y características de crecimiento en un medio que contiene sangre).

Se rehidrató la ampolla liofilizada (primera ampolla liofilizada el 30 de agosto de 1978) en caldo de trip casa de soja y se inoculó en bandejas que contenían medio sólido de agar de carbón vegetal (vea los capítulos 2.1.1 y 2.1.2). Se incubaron las células durante aproximadamente 22 a 26 horas a entre +35 °C y +37 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Los controles durante el proceso realizados al final de este cultivo incluyen un examen macroscópico y una tinción de Gram (realizada cuando el cultivo presenta un aspecto macroscópico atípico).

Se volvió a inocular el cultivo en tubos con medio sólido de agar de carbón vegetal durante 18 a 20 horas a entre +35 °C y +37 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Se realizó un examen macroscópico como control durante el proceso.

Se suspendió el cultivo en una solución de leche descremada estéril (vea el capítulo 2.1.3), se trasvasó a ampollas bajo flujo de aire laminar vertical (0,2 mL por ampolla), se liofilizaron, se sellaron al vacío, se etiquetaron y almacenaron a entre +2 °C y +8 °C. Se retiran ampollas para realizar pruebas de control de calidad (vea el capítulo 3.1).

La liofilización se realizó el 8 de octubre de 1998 (lote 08.10.98).

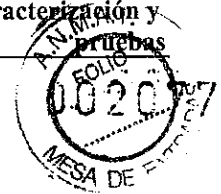
1.1.2 Preparación del lote de siembra maestro

Se rehidrató una ampolla de células liofilizadas de *Haemophilus influenzae* tipo b correspondientes al lote de siembra premaestro (lote 08.10.98) en caldo de trip casa de soja y se inoculó en bandejas que contenían medio sólido de agar de carbón vegetal (vea los capítulos 2.1.1 y 2.1.2). Se incubaron las células durante aproximadamente 22 a 26 horas a entre +35 °C y +37 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Los controles durante el proceso realizados al final de este cultivo incluyen un examen macroscópico y una tinción de Gram (realizada cuando el cultivo presenta un aspecto macroscópico atípico).

Se volvió a inocular el cultivo en tubos con medio sólido de agar de carbón vegetal durante 18 a 22 horas a entre +35 °C y +37 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Se realiza un examen macroscópico como control durante el proceso.

Se suspendió el cultivo en una solución de leche descremada estéril (vea el capítulo 2.1.3), se trasvasó a ampollas bajo flujo de aire laminar vertical (0,2 mL por ampolla), se liofilizaron, se sellaron al vacío, se etiquetaron y almacenaron a entre +2 °C y +8 °C. Se retiran ampollas para realizar pruebas de control de calidad (vea el capítulo 3.1).

La liofilización se llevó a cabo el 14 de octubre de 1998 (lote 14.10.98) y el 12 de febrero de 2009 (FA340193).



1.1.3 Preparación de los lotes de siembra de trabajo

Se rehidrató una ampolla de células liofilizadas de *Haemophilus influenzae* tipo b correspondientes al lote de siembra maestro en caldo de trip casa de soja y se inoculó en bandejas que contenían medio sólido de agar de carbón vegetal (vea 2.1.1 y 2.1.2). Se incuban las células durante 22 a 26 horas a entre +36 °C y +38 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Los controles durante el proceso realizados al final de este cultivo incluyen un examen macroscópico y una tinción de Gram (realizada cuando el cultivo presenta un aspecto macroscópico atípico).

Se vuelve a inocular el cultivo en tubos con medio sólido de agar de carbón vegetal durante 18 a 22 horas a entre +36 °C y +38 °C (+CO₂ 10 % ± 3 %). Se realiza un examen macroscópico como control durante el proceso.

Se suspende el cultivo en una solución de leche descremada estéril (vea el capítulo 2.1.3), se trasvasó en ampollas bajo flujo de aire laminar vertical (0,2 mL por ampolla), se liofilizaron, se sellaron al vacío, se etiquetaron y almacenaron a entre +2 °C y +8 °C. Se retiran ampollas para realizar pruebas de control de calidad (vea el capítulo 3.1).

1.2 Sistema de lotes de siembra de *Clostridium tetani*

Se proporciona un panorama del sistema de lotes de siembra de *Clostridium tetani* en la figura 3.

Figura 3: Panorama del sistema de lotes de siembra de *Clostridium tetani*

