

8^o CUERPO

22707-11-1







Tabla 19: Especificación del estudio de estabilidad

| Prueba | | Criterios de aceptación |
|-----------------------|--|--|
| Pureza microbiológica | Contaminación bacteriana | Ausente en 10^5 células de levadura sembradas |
| | Contaminación con mohos y levaduras con colonias macroscópicamente distintas de <i>H. polymorpha</i> | Menos de 1 UFC en 10^2 células de levadura sembradas |
| Viabilidad | | Mínimo de $5,0 \cdot 10^4$ UFC/vial o ampolla |

7.5 Resultados y discusión

Los resultados del estudio de estabilidad se presentan en la Tabla 20 y la Tabla 21.

Los resultados de pureza microbiológica y viabilidad obtenidos para el MSL y el WSL cumplen con la especificación tras 10 años de almacenamiento a $\leq -70^\circ \text{C}$.


7.6 Conclusión


El estudio de estabilidad del WSL está completo luego de 10 años, mientras que con el MSL el estudio de estabilidad sigue en curso.

Los resultados de estabilidad obtenidos con el MSL y el WSL cumplen con las especificaciones después de 10 años de almacenamiento a $\leq -70^\circ \text{C}$, lo cual demuestra la estabilidad del sistema de lotes de siembra de *Hansenula polymorpha* utilizado por sanofi pasteur a lo largo del tiempo.

Tabla 20: Resultados de las pruebas de estabilidad del almacenamiento a $\leq -70^{\circ}\text{C}$ del lote MSL n.º MCB 160600BA

| Estudio | Criterios de aceptación | Tiempo en meses y fecha de las pruebas | | | | | |
|-----------------------|--|--|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 0 | 3 | 90 | 100 | 112 | 124 |
| Viabilidad | Mínimo de $5,0 \cdot 10^4$ UFC/ampolla | Junio de 2000 | Septiembre de 2000 | Febrero de 2008 | Diciembre de 2008 | Diciembre de 2009 | Diciembre de 2010 |
| Pureza microbiológica | Ausente en 10^5 células de levadura sembradas | 115 10^7 | 111 10^7 | 690 10^7 | 98 10^7 | 99 10^7 | 90 10^7 |
| | Menos de 1 UFC en 10^2 células de levadura sembradas | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
CALDERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

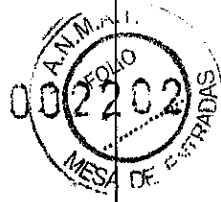


Tabla 21: Resultados de las pruebas de estabilidad del almacenamiento a $\leq -70^{\circ}\text{C}$ del lote WSL n.º MWCB 230600BA

| Estudio | Criterios de aceptación | Tiempo en meses y fecha de las pruebas | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|--|--|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|--|
| | | 0 | 24 | 40 | 51 | 63 | 75 | 88 | 100 | 112 | 124 | | |
| Viabilidad | Mínimo de $5,0 \cdot 10^4$ UFC/vial | Agosto de 2000 | Agosto de 2002 | Diciembre de 2003 | Noviembre de 2004 | Noviembre de 2005 | Noviembre de 2006 | Diciembre de 2007 | Diciembre de 2008 | Diciembre de 2009 | Noviembre de 2010 | | |
| Pureza microbiológica | Ausente en 10^5 células de levadura sembradas | 85 10^7 | 96 10^7 | 97 10^7 | 82 10^7 | 101 10^7 | 80 10^7 | 128 10^7 | 82 10^7 | 78 10^7 | 76 10^7 | | |
| | Menos de 1 UFC en 10^2 células de levadura sembradas | Cumple | No planificado | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | |


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.





8 Protección contra eventos catastróficos

8.1 Procedimientos de protección

Los viales de los lotes de siembra de trabajo están protegidos mecánicamente por medio de una caja de plástico.

Los errores humanos se evitan restringiendo el acceso y utilizando un doble etiquetado: en la caja de plástico y en la ampolla (MSL) o el vial (WSL).

Las ampollas y los viales se almacenan en 3 lugares: 2 lugares distintos en las instalaciones de sanofi pasteur de Pilar (Argentina) y 1 lugar en las instalaciones de sanofi pasteur de Marcy l'Étoile (Francia).

Hay un plan de acción instrumentado para situaciones de emergencia, que incluye un suministro de hielo seco y CO₂ para 365 días.

8.2 Lugares de almacenamiento

Cada lote de siembra está separado y almacenado en ultracongeladores separados, en salas separadas a una temperatura inferior a -70°C.

9 Métodos para prevenir la contaminación y la contaminación cruzada

Se toman todas las precauciones estándar necesarias para evitar la contaminación y la contaminación cruzada durante la preparación de los lotes de siembra. Además, la producción del WSL está basada en temporadas y el personal se dedica por completo a la única actividad de la planta: la producción del HBsAg.

10 Tasa de utilización esperada

Las expectativas de utilización del WSL se actualizan conforme a las necesidades de producción, por lo menos una vez al año. Por consiguiente, los intervalos entre los nuevos lotes de siembra de trabajo podrían cambiar en función de la demanda.

El WSL actual utilizado en la producción es el lote MWCB 140308BA, elaborado el 14 de marzo de 2008.

En la versión actual de las expectativas de uso, está planificado que el nuevo WSL se produzca en 2014.

La estrategia de previsión considera asimismo un stock de seguridad de 150 viales de WSL correspondientes al volumen máximo de producción esperado por año.





2.3.S.4

Control del Principio Activo - HBsAg


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOPI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
INGENIERO
SANOPI PASTEUR S.A.



Sección 2.3.S.4 - Control del principio activo

Índice

| | |
|--|-----------|
| Lista de tablas | 3 |
| 1 Especificaciones | 4 |
| 2 Procedimientos analíticos | 6 |
| 2.1 Componentes que se describen en la Farmacopea Europea..... | 6 |
| 2.2 Pruebas no detalladas o descritas en la Farmacopea Europea | 6 |
| 2.2.1 Aspecto | 6 |
| 2.2.2 Identificación del HBsAg | 6 |
| 2.2.3 Contenido de HBsAg..... | 6 |
| 2.2.4 Contenido de carbohidratos | 6 |
| 2.2.5 Contenido de lípidos..... | 7 |
| 2.2.6 Pureza | 7 |
| 2.2.7 Porcentaje de monómero libre de HBsAg | 7 |
| 3 Validación de los procedimientos analíticos | 7 |
| 3.1 Identificación y contenido de HBsAg..... | 8 |
| 3.2 Contenido de carbohidratos | 8 |
| 3.3 Contenido de lípidos | 9 |
| 3.4 Pureza..... | 9 |
| 3.5 Porcentaje de monómero libre de HBsAg | 9 |
| 4 Análisis de lotes | 9 |
| 4.1 Lotes de la segunda serie de producción..... | 11 |
| 4.2 Lotes de la tercera serie de producción..... | 13 |
| 5 Justificación de las especificaciones | 16 |
| 5.1 Aspecto | 16 |
| 5.2 Medición de pH..... | 16 |
| 5.3 Contenido proteico..... | 16 |

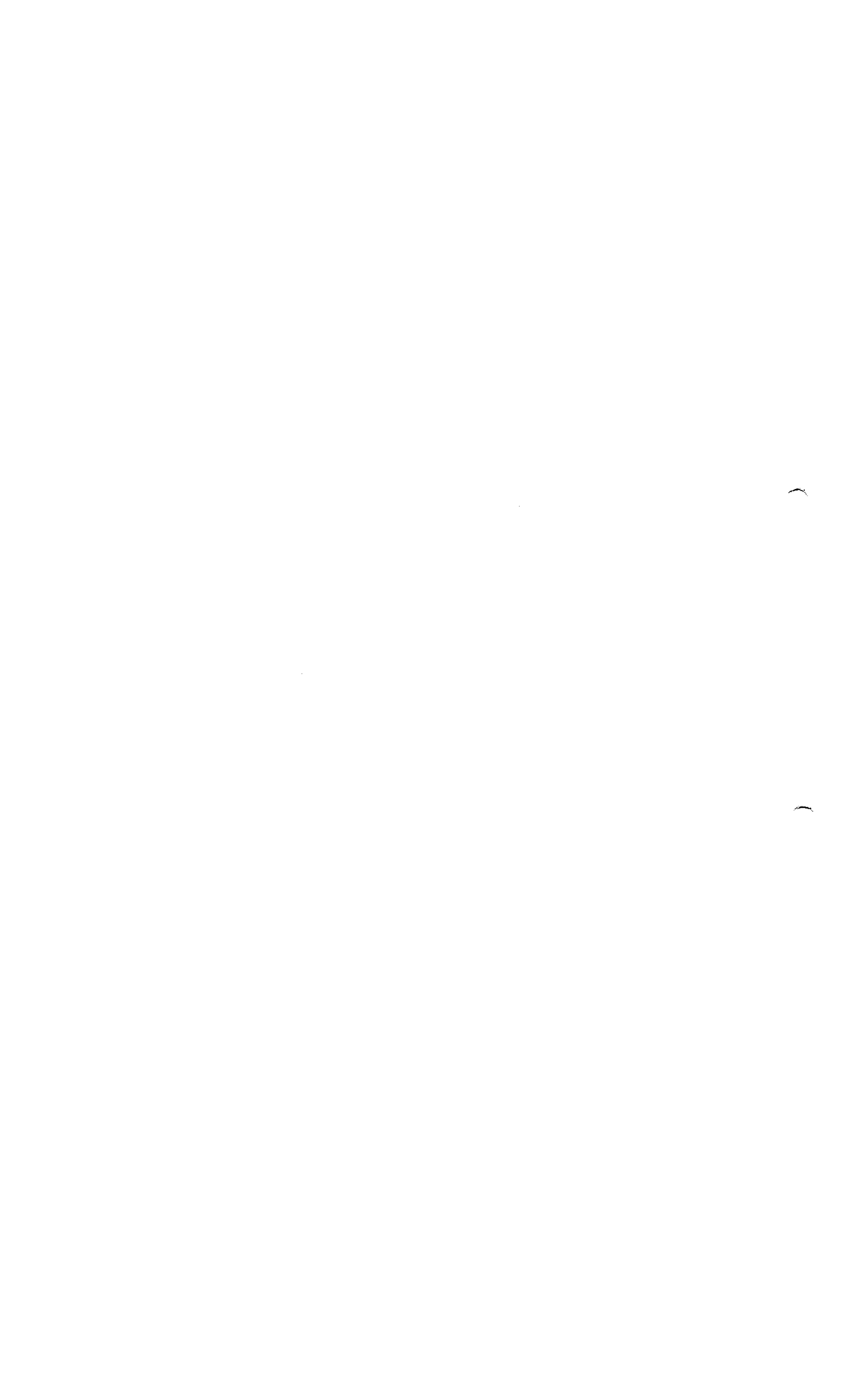




| | | |
|------|---|----|
| 5.4 | Identificación del HBsAg | 16 |
| 5.5 | Contenido de HBsAg | 17 |
| 5.6 | Contenido de carbohidratos | 17 |
| 5.7 | Contenido de lípidos | 17 |
| 5.8 | Pureza..... | 18 |
| 5.9 | Porcentaje de monómero libre de HBsAg | 18 |
| 5.10 | Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica..... | 18 |
| 5.11 | Endotoxinas bacterianas..... | 18 |


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APCERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Especificaciones para el antígeno de superficie de la hepatitis B | 5 |
| Tabla 2: Evolución de los criterios de aceptación | 10 |
| Tabla 3: Descripción de los lotes de la segunda serie de producción | 11 |
| Tabla 4: Resultados analíticos de los lotes de la segunda serie de producción | 12 |
| Tabla 5: Descripción de los lotes de la tercera serie de producción..... | 13 |
| Tabla 6: Resultados analíticos de los lotes de la tercera serie de producción | 14 |
| Tabla 7: Descripción de los lotes para comercialización | 15 |
| Tabla 8: Resultados analíticos de los lotes para comercialización..... | 15 |





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

1 Especificaciones

Las especificaciones del antígeno de superficie de la hepatitis B se describen en la tabla 1. Cumplen con la parte sobre el granel de antígeno de superficie de hepatitis B de la monografía 1056 de la Ph. Eur. "Hepatitis B vaccine (rDNA)" [vacuna contra hepatitis B (rADN)] y con las recomendaciones de la OMS para asegurar la calidad, la seguridad y la eficacia de las vacunas recombinantes contra la hepatitis B, adoptadas por el ECBS en octubre de 2010 (TRS 786 revisada).





Tabla 1: Especificaciones para el antígeno de superficie de la hepatitis B

| Pruebas | Requeridas por | Métodos | Criterios de aceptación |
|--|---|---|---|
| Aspecto | No se requiere. | Interno: comparación visual entre HBsAg y agua purificada | Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta |
| Medición de pH | No se requiere. | Ph. Eur. 2.2.3, edición actual Determinación potenciométrica | 6,5-7,5 |
| Contenido proteico | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Ph. Eur. 2.5.33 (método 2), edición actual Método de Lowry | 1,05-1,80 mg/mL |
| Identificación del HBsAg | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Interno: ELISA Rhein Biotech (RB) | Identificación: positiva |
| | | Interno: SDS-PAGE en condiciones reductoras (tinción con azul de Coomassie) | Bandas principales de peso molecular de alrededor de 23 kD, 46 kD y finalmente de 65 kD |
| Contenido de HBsAg | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Interno: ELISA Rhein Biotech (RB) La proporción se obtiene por cálculo (método de Lowry) | ≥ 0,7 mg de HBsAg/mg de proteínas totales |
| Contenido de carbohidratos | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Interno: titulación mediante ensayo colorimétrico La proporción se obtiene por cálculo (método de Lowry) | ≤ 50 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales |
| Contenido de lípidos | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Interno: Titulación mediante ensayo colorimétrico La proporción se obtiene por cálculo (método de Lowry) | 0,5-0,9 mg de lípidos/mg de proteínas totales |
| Pureza | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Interno: SDS-PAGE en condiciones reductoras (tinción con azul de Coomassie) | ≥ 95% |
| Porcentaje de monómero libre de HBsAg | No se requiere. | Interno: SDS-PAGE en condiciones reductoras (tinción con azul de Coomassie) | ≤ 3 % |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ph. Eur. 1056, edición actual TRS 786, apéndice 2* | Ph. Eur. 2.6.1, edición actual Filtración por membrana. | Ausencia de crecimiento microbiano |
| Endotoxinas bacterianas | TRS 786, apéndice 2* | Ph. Eur. 2.6.14 (método A), edición actual Técnica de gelificación (gel-clot) | < 10 UE/dosis (es decir, 10 UE/10 µg de proteínas) |

* Revisión de la OMS adoptada por el ECBS en octubre de 2010

RA_0305150

Información confidencial/propietaria
Página 5 de 18

ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



2 Procedimientos analíticos

2.1 Componentes que se describen en la Farmacopea Europea

Esta prueba se realiza de acuerdo con los requisitos de la Ph. Eur.:

- medición del pH (Ph. Eur. 2.2.3);
- Contenido proteico (Ph. Eur. 2.5.33 método 2 [método de Lowry]);
- Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica (Ph. Eur. 2.6.1, filtración por membrana);
- Endotoxinas bacterianas (Ph. Eur. 2.6.14, método A [técnica de gelificación]).

2.2 Pruebas no detalladas o descritas en la Farmacopea Europea

2.2.1 Aspecto

El principio activo HBsAg se examina mediante inspección visual, con agua purificada, para evaluar sus características físicas.

2.2.2 Identificación del HBsAg

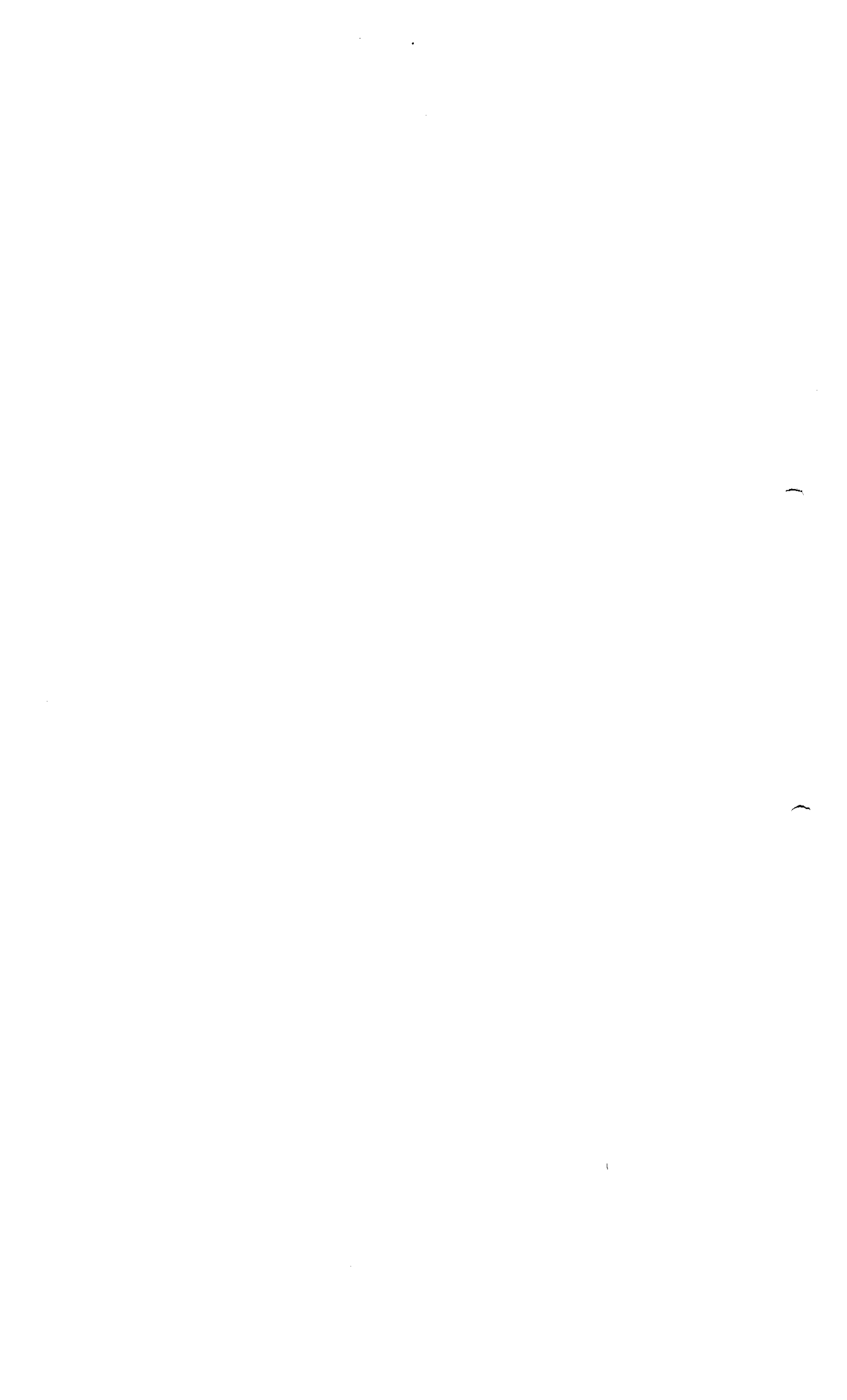
La prueba de identificación está respaldada por dos técnicas: el análisis ELISA de Rhein Biotech (RB) y el análisis SDS-PAGE en condiciones reductoras (tinción con azul de Coomassie) como se describe, respectivamente, en los párrafos 2.2.3 y 2.2.6.

2.2.3 Contenido de HBsAg

El contenido de HBsAg se determina mediante un análisis cuantitativo ELISA Rhein Biotech (RB) usando tres diferentes anticuerpos policlonales: un anticuerpo de captura, un anticuerpo de detección y un anticuerpo biotinilado (la biotina reacciona con la estreptavidina ligada a la enzima peroxidasa). Luego de una incubación con el cromógeno y el sustrato adecuados, la intensidad del color manifestado se mide mediante adsorción a 415 nm. La intensidad de la coloración es directamente proporcional a la cantidad de HBsAg presente en la muestra.

2.2.4 Contenido de carbohidratos

Los carbohidratos que contiene la muestra se deshidratan por la acción de un ácido fuerte a alta temperatura. Los compuestos obtenidos se condensan con un reactivo fenólico, lo cual da por resultado una coloración marrón en un medio ácido. La coloración marrón obtenida, proporcional a la cantidad de carbohidratos, se mide con un espectrofotómetro a 420 nm.





2.2.5 Contenido de lípidos

La determinación del contenido de lípidos se basa en una reacción "sulfosfosvainillínica". Esta reacción requiere la presencia de uniones C=C dobles. En un primer paso, el ácido sulfúrico concentrado reacciona con los lípidos no saturados para formar un ion carbonio. En un segundo paso, el ion carbonio reacciona con el grupo carbonilo del reactivo de fosfovainillina para formar un compuesto de color rosado.

La intensidad de la coloración, que es proporcional a la concentración de lípidos presentes en la muestra, se mide mediante absorción a 530 nm.

2.2.6 Pureza

La determinación de la pureza del HBsAg se realiza mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones reductoras.

Los polipéptidos que constituyen el principio activo HBsAg se desnaturalizan al calentar la muestra en tampón SDS, lo cual rompe los enlaces de hidrógeno, en presencia de un agente reductor (ditiotreitól, abreviado DTT) que fragmenta los enlaces disulfuro. Los polipéptidos, fraccionados mediante este tratamiento desnaturalizante y reductor, se resuelven posteriormente mediante SDS-PAGE según sus pesos moleculares.

Luego de la migración, se procede al revelado mediante tinción con azul de Coomassie.

La pureza se determina sumando los porcentajes de las intensidades relativas de las bandas características (monómero, dímero y trímero) de HBsAg.

2.2.7 Porcentaje de monómero libre de HBsAg

La determinación del porcentaje de monómero libre de HBsAg se realiza mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones no reductoras.

La muestra de HBsAg que se va a analizar se prepara en condiciones no reductoras con dodecil sulfato de sodio (SDS). Este reactivo rompe los enlaces de hidrógeno, elimina las interacciones hidrofóbicas y provoca que el complejo SDS-polipéptido cargado negativamente migre según su peso molecular.

Otra alícuota se trata en paralelo con SDS en condiciones reductoras con ditiotreitól (DTT). El gel se carga con la muestra tratada con SDS y con la muestra tratada con SDS y DTT.

Después de la migración y de la tinción del gel, se compara la intensidad de la banda del monómero libre en la muestra no reductora y en la muestra reducida.

3 Validación de los procedimientos analíticos

A continuación se suministran los resultados de la validación para los siguientes procedimientos analíticos no descritos en la Farmacopea Europea (Ph. Eur.):

- Contenido de HBsAg, ELISA RB;





- Contenido de carbohidratos, titulación mediante ensayo colorimétrico;
- Contenido de lípidos, titulación mediante ensayo colorimétrico;
- Pureza mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras;
- Porcentaje de monómero libre de HBsAg, prueba de límite mediante SDS-PAGE en condiciones no reductoras.

Todas las validaciones se realizaron conforme a los principios de la ICH Q2 (R1) "Validation Analytical Procedures: Text and Methodology" [validación de procedimientos analíticos: texto y metodología].

3.1 Identificación y contenido de HBsAg

Dado que el método ELISA RB es cuantitativo, las características estudiadas son especificidad, linealidad, exactitud y precisión.

De acuerdo con los resultados obtenidos y tras evaluar los criterios de aceptación establecidos, el método de identificación y contenido de HBsAg es específico.

El método es lineal en el rango [0,13-2,31] mg/mL equivalente a [0,12-1,28] mg/mg de proteínas totales.

La exactitud se demuestra en el mismo rango, con una recuperación media del 91 % [86-96] %.

El método es preciso, dado que el coeficiente de variación de la precisión intermedia es 5,074 % (se estableció el 20 % como valor máximo aceptable).

De acuerdo con los resultados obtenidos, el método se considera válido para identificar y determinar el contenido antigénico del principio activo HBsAg.

3.2 Contenido de carbohidratos

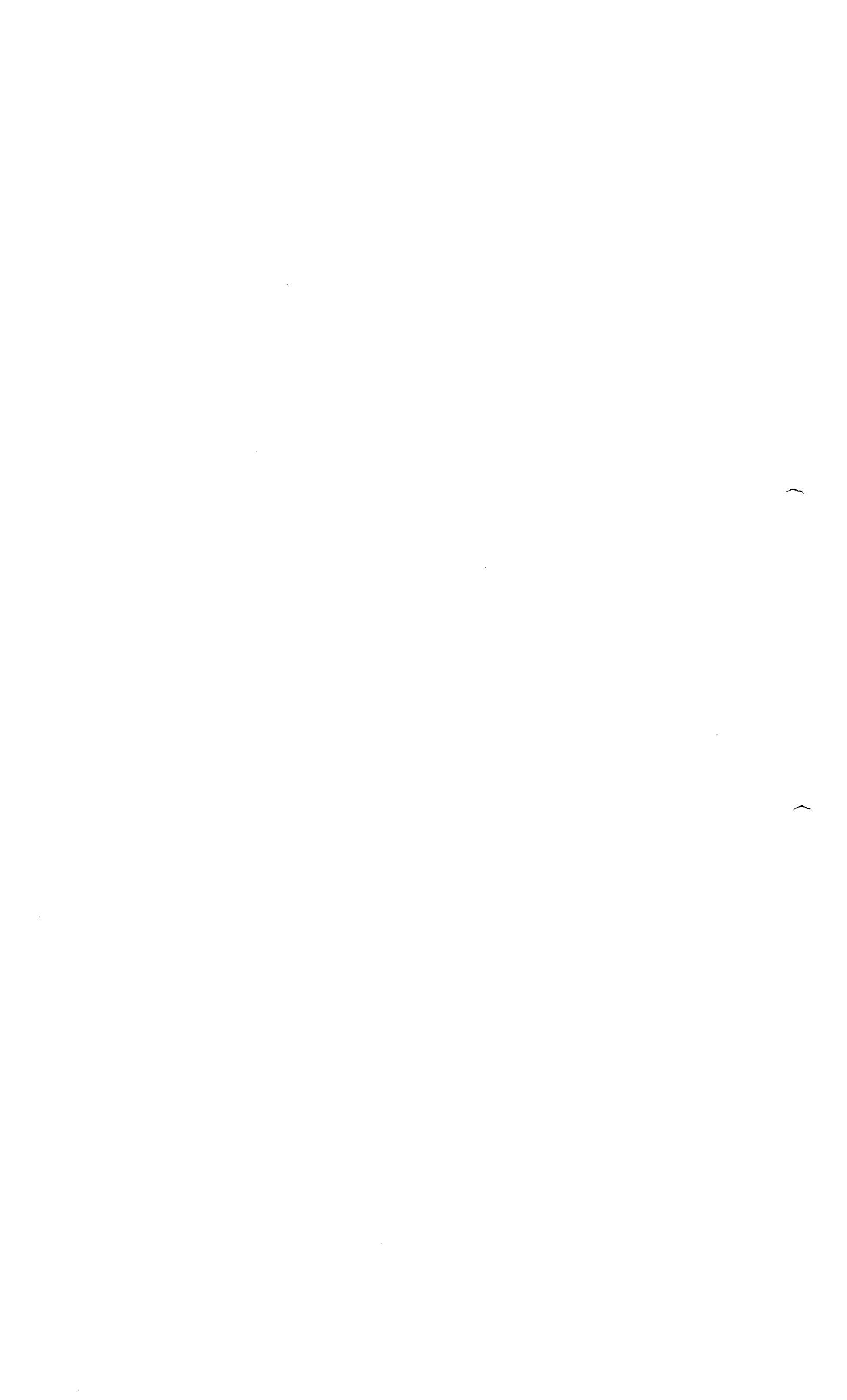
Dado que la titulación mediante análisis colorimétrico es un método cuantitativo, las características estudiadas son especificidad, linealidad, exactitud y precisión. Además, se determinó el límite de cuantificación.

De acuerdo con los resultados obtenidos y tras evaluar los criterios de aceptación establecidos, el método es específico.

El método es lineal en el rango [20,4-21,4] µg/mL equivalente a [19,4-67,4] µg/mg de proteínas totales.

La exactitud se demuestra en el mismo rango, con una recuperación porcentual promedio del 99 % [97 %-101 %] %.

El método es preciso, dado que el coeficiente de variación de la precisión intermedia es 4,7 % (se estableció el 20 % como valor máximo aceptable).





El límite de cuantificación es 20,4 $\mu\text{g/mL}$ equivalente a 19,4 $\mu\text{g/mg}$ de proteínas totales. Además, el límite de cuantificación del método es exacto ($\bar{R} = 101\%$) y preciso dado que el coeficiente de variación de la precisión intermedia es 7,8 % (se estableció el 20 % como máximo aceptable).

3.3 Contenido de lípidos

Dado que la titulación mediante análisis colorimétrico es un método cuantitativo, las características estudiadas son especificidad, linealidad, exactitud y precisión.

De acuerdo con los resultados obtenidos y tras evaluar los criterios de aceptación establecidos, el método es específico.

El método es lineal en el rango [0,19–2,47] mg/mL equivalente a [0,18–1,37] mg/mg de proteínas totales, lo cual cubre el criterio de aceptación.

La exactitud se demuestra en el mismo rango, con una recuperación porcentual promedio del 102 % [99.6-104.3] %.

El método es preciso, dado que la desviación estándar relativa de la precisión intermedia es 5,408% (se estableció el 20 % como valor máximo aceptable).

3.4 Pureza

Dado que el SDS-PAGE en condiciones reductoras es un método cuantitativo, la característica estudiada es la precisión. Asimismo, se verificó la capacidad del método para detectar un contaminante potencial que represente un 1 % de las proteínas totales.

El método es preciso dado que la desviación estándar relativa de la precisión intermedia es 0,5 % (2 % máximo).

El método permite detectar una proteína, contaminante potencial, en una proporción de 1 % en comparación con las proteínas totales (Lowry) presentes en la muestra.

3.5 Porcentaje de monómero libre de HBsAg

Dado que la determinación del porcentaje de monómeros libres por SDS-PAGE en condiciones no reductoras es un análisis de límites, según las guías de la ICH, sólo se validó el límite de detección.

El límite de detección definido (2 %) se considera aceptable, dado que permite detectar niveles de monómeros libres inferiores a la especificación declarada, $\leq 3\%$.

4 Análisis de lotes

Se presentan los datos de análisis de lotes de antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) para 14 lotes industriales obtenidos de la segunda y la tercera series de producción y controlados con 3 perfiles de liberación distintos, según se muestra en la tabla 2.

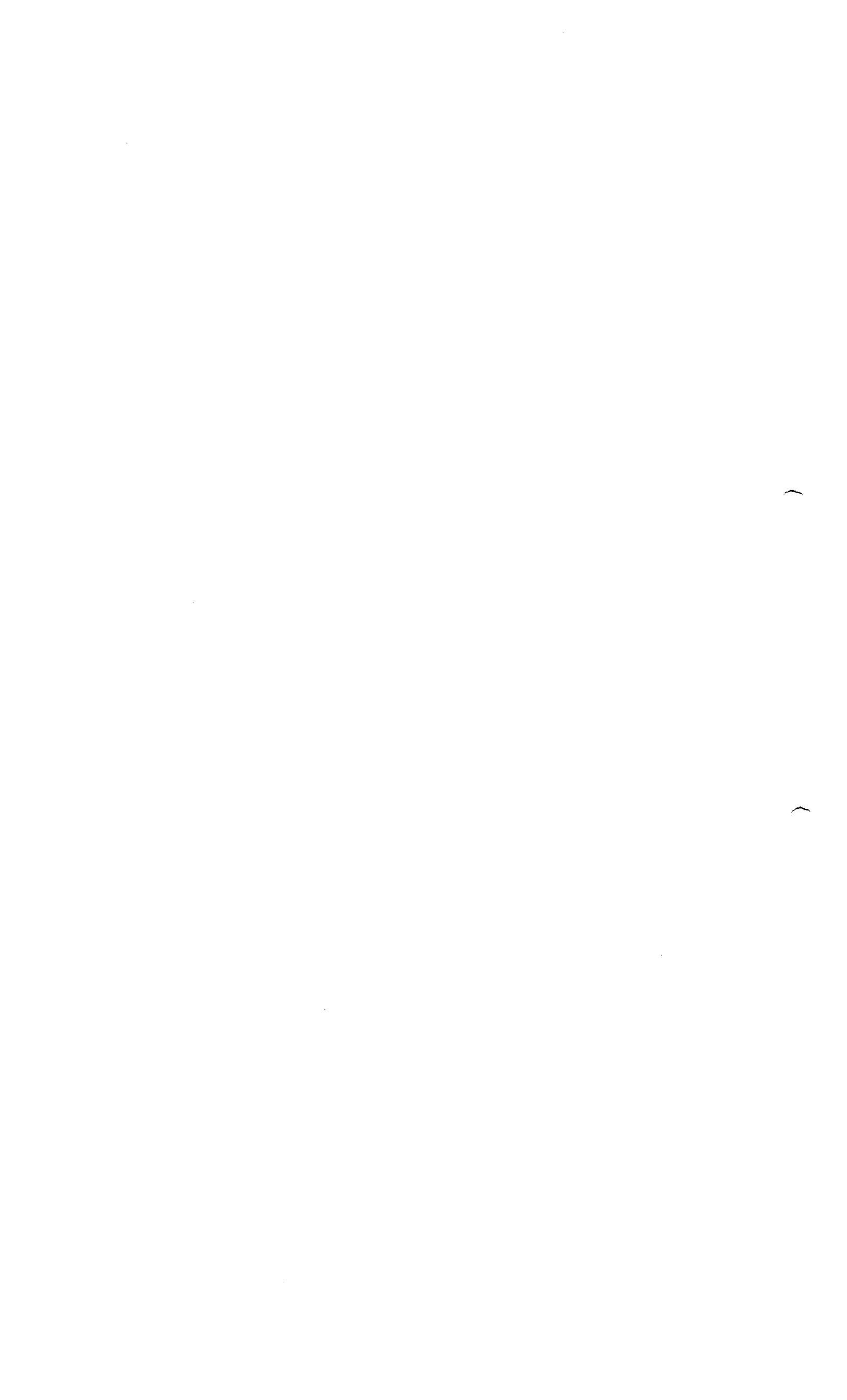




Tabla 2: Evolución de los criterios de aceptación

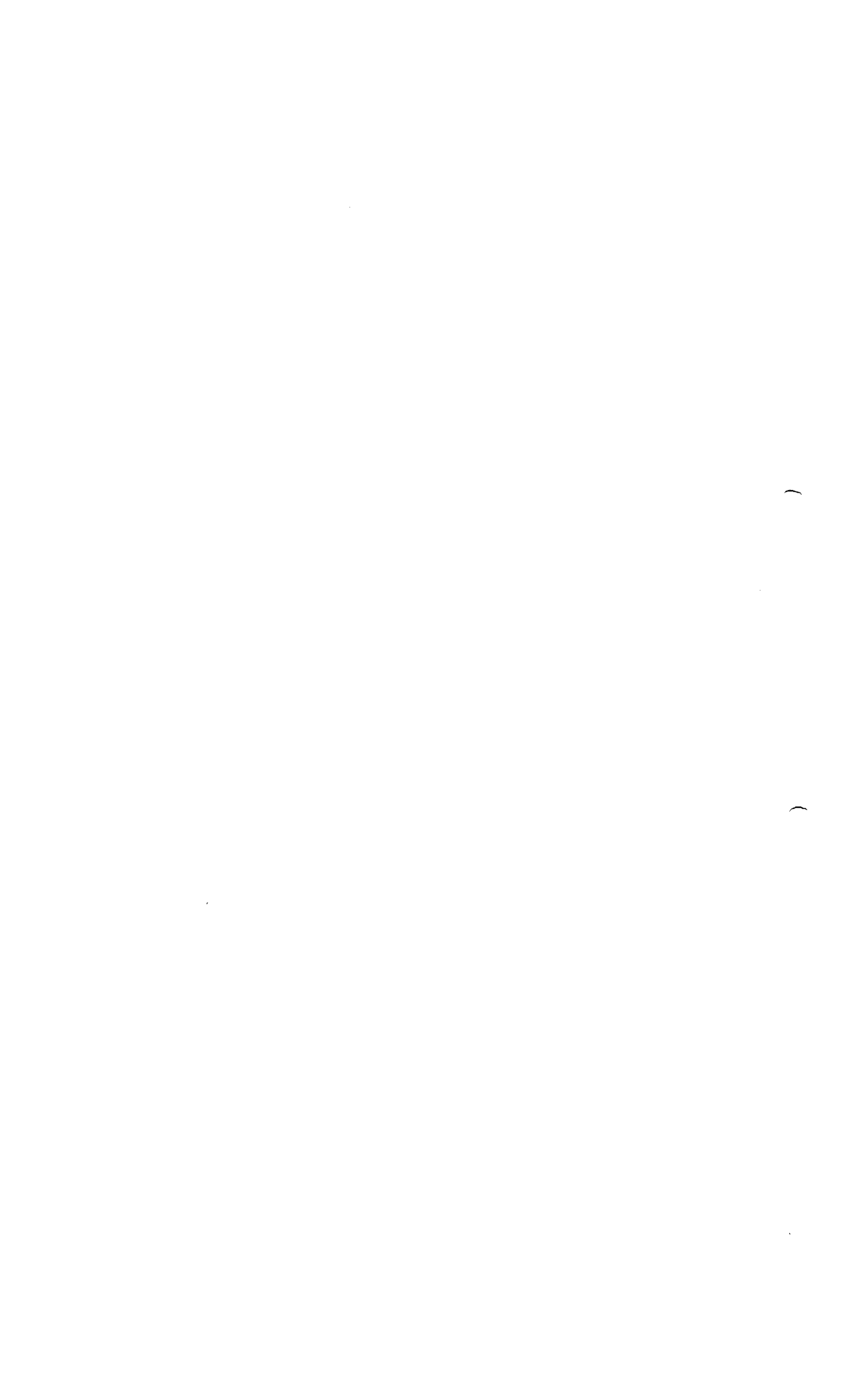
| Pruebas | Criterios de aceptación aplicados a los lotes de la segunda serie de producción | Criterios de aceptación aplicados a los lotes de la tercera serie de producción | Criterios de aceptación aplicados al producto comercializado |
|--|--|---|---|
| Aspecto | Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta que ocasionalmente muestra precipitación | Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta | Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta |
| Medición de pH | 6,0-8,0 | 6,0-8,0 | 6,5-7,5 |
| Contenido proteico | 0,75 - -1,75 mg/mL | 0,75 - -1,75 mg/mL | 1,05--1,80 mg/mL |
| Identificación del HBsAg* | Bandas principales: monómero alrededor de 23 kDa y bandas que corresponden al dímero de 47 kDa y 50 kDa (bandas sencillas o dobles). Posible presencia de trímero † | Bandas mayoritarias: monómero alrededor de 23 kDa y bandas que corresponden al dímero alrededor de 46 kDa (bandas sencillas o dobles) Finalmente, presencia de trímero alrededor de 65 kDa † | Identificación: positiva Bandas principales de peso molecular de alrededor de 23 kD, 46 kD y finalmente de 65 kD |
| Contenido de HBsAg | 3-9 mg/mL ‡ | ≥ 0,7 mg de HBsAg/mg de proteínas totales § | ≥ 0,7 mg de HBsAg/mg de proteínas totales § |
| Contenido de carbohidratos | 30-60 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales | ≤ 60 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales | ≤ 50 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales. |
| Contenido de lípidos | 0,3-1,4 mg lípidos/mg de proteínas totales | 0,3-1,4 mg lípidos/mg de proteínas totales | 0,5-0,9 mg de lípidos/mg de proteínas totales |
| Pureza | ≥ 95 % | ≥ 95 % | ≥ 95 % |
| Porcentaje de monómero libre de HBsAg | No realizado | ≤ 3 % | ≤ 3 % |
| Análisis de polipéptidos | Presencia: monómero de 23 kDa, dímero de 47 + 50 kDa (se observan bandas sencillas o dobles) Presencia o ausencia de bandas a 6, 19, 29, 31, 34, 56, 61 y 69 kDa | No realizado | No realizado |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ausencia de crecimiento microbiano | Ausencia de crecimiento microbiano | Ausencia de crecimiento microbiano |
| Contenido de bromuro | <10 mg/L | <10 mg/L | No realizado |
| Endotoxinas bacterianas | No realizado | No realizado | < 10 UE/dosis (es decir, 10 UE/10 µg de proteínas) |

* Identificación realizada mediante la combinación de ELISA RB y la prueba de pureza en el producto para comercialización.

† Prueba realizada mediante un análisis Western blot; la especificación se actualizó con base en los resultados históricos y conforme a la evolución de la metodología (vea la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración).

‡ Prueba realizada con el kit ELISA Monolisa Plus.

§ Cuantificación con ELISA RB expresada mediante la proporción HBsAg/proteína.



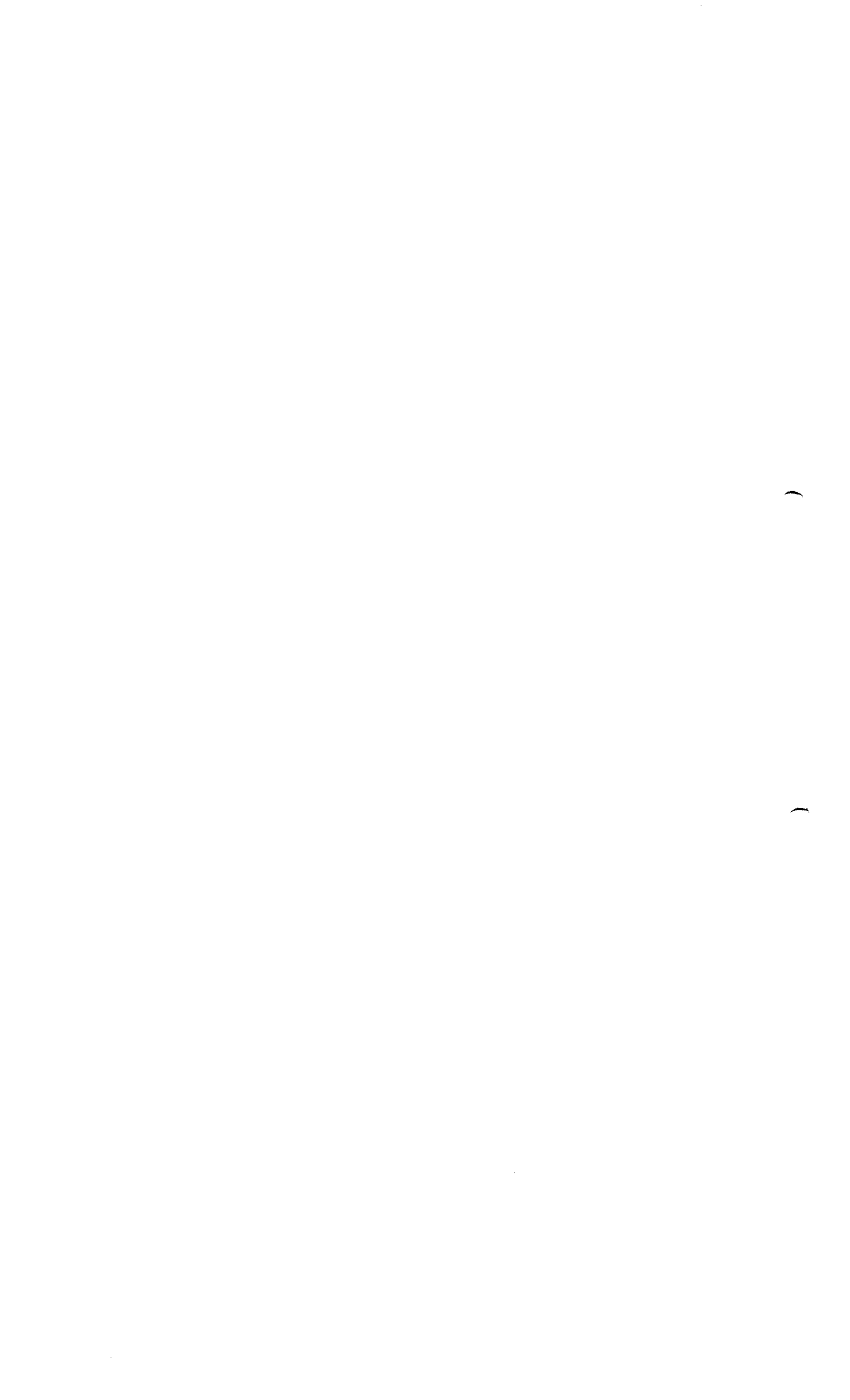
4.1 Lotes de la segunda serie de producción

La descripción de 6 lotes de la segunda serie de producción utilizados en estudios de uniformidad, clínicos y de estabilidad se presenta en la tabla 3.

Tabla 3: Descripción de los lotes de la segunda serie de producción

| Número de lote | Fecha de elaboración | Planta de producción | Escala del lote (50 L) | Uso del lote |
|----------------|----------------------|----------------------|------------------------|--|
| AA001* | 26 abr 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, clínicos y de estabilidad |
| AA002† | 10 mayo 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, clínicos y de estabilidad |
| AA003‡ | 24 mayo 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, clínicos y de estabilidad |
| AA004* | 08 jun 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad y clínicos |
| AA005† | 21 jun 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad y clínicos |
| AA007‡ | 19 jul 2005 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad y clínicos |

- * Lotes utilizados en los estudios clínicos: A3L11 (estudio de uniformidad clínica), A3L17 y A3L22
- † Lotes utilizados en estudios clínicos: A3L11, A3L12, A3L15 y A3L21
- ‡ Lotes utilizados en estudios clínicos: A3L11





Los datos de liberación de los 6 lotes de la segunda serie de producción se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Resultados analíticos de los lotes de la segunda serie de producción

| Pruebas | Criterios de aceptación | AA001 | AA002 | AA003 | AA004 | AA005 | AA007 |
|---|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Aspecto | Solución opalescente, ligeramente turbia y amarillenta que ocasionalmente muestra precipitación | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Medición de pH | 6,0-8,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| Contenido proteico | 0,75 - -1,75 mg/mL | 1,32 | 1,31 | 1,47 | 1,34 | 1,59 | 1,37 |
| Identificación del HBsAg | Bandas principales: monómero alrededor de 23 kDa y bandas que corresponden al dímero de 47 kDa y 50 kDa (bandas sencillas o dobles). Posible presencia de trímero | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Contenido de HBsAg | 3-9 mg/mL | 6 | 5 | 6 | 6 | 8 | 7 |
| Contenido de carbohidratos | 30-60 µg de carbohidratos/mg de proteínas totales | 33 | 34 | 34 | 32 | 34 | 36 |
| Contenido de lípidos | 0.3-1.4 mg lípidos/mg de proteínas totales | 0,6 | 0,8 | 0,6 | 0,6 | 0,7 | 0,6 |
| Pureza | ≥ 95% | 95 | 97 | 97 | 98 | 98 | 96 |
| Análisis de polipéptidos | | | | | | | |
| Monómero de MW 23 kDa | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| Dímero de MW 47 kDa, 50 kDa (bandas observadas juntas o separadas): | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 16 kDa | Presencia o ausencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 19 kDa | | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 29 kDa | | Presencia | Presencia | Ausencia | Presencia | Presencia | Ausencia |
| MW 31 kDa | | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 34 kDa | | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 56 kDa | | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 61 kDa | | Ausencia | Ausencia | Ausencia | Presencia | Presencia | Presencia |
| MW 69 kDa | | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia | Presencia |





| Pruebas | Criterios de aceptación | AA001 | AA002 | AA003 | AA004 | AA005 | AA007 |
|--|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ausencia de crecimiento microbiano | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple | Cumple |
| Contenido de bromuro | < 10 mg/L (límite de cuantificación) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |

4.2 Lotes de la tercera serie de producción

La descripción de 5 lotes de la tercera serie de producción utilizados en la validación de la uniformidad y en estudios clínicos se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5: Descripción de los lotes de la tercera serie de producción

| Número de lote | Fecha de elaboración | Planta de producción | Escala del lote (50 L) | Uso del lote |
|----------------|----------------------|----------------------|------------------------|--|
| AC002* | 07 dic. 2007 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad y clínicos |
| AC004* | 26 dic. 2007 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, de estabilidad y clínicos |
| AC005* | 29 dic. 2007 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, de estabilidad y clínicos |
| AC006 | 04 ene 2008 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad |
| AC007* | 22 mar 2008 | Pilar | Industrial | Estudios de uniformidad, de estabilidad y clínicos |

* Lotes utilizados en el estudio clínico A3L24

