



**2.2 Estudio de estabilidad del PTT obtenido a partir de CTT elaborado con un tamaño de lote de fermentación industrial de 2400 L**

Los resultados obtenidos en los tres lotes de PTT FA269112, FA276217 y FA297325 se presentan en la tabla 4, tabla 5 y Tabla 6, respectivamente.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
SANOFI PASTEUR S.A.



**Tabla 4: Resultados de estabilidad para el PTT almacenado a + 5 °C ± 3 °C, obtenido a partir de CTT elaborado con el proceso de fermentación industrial de 2400 L: lote FA269112**

| Pruebas                                    | Criterios de aceptación  | T0     | 3 meses | 6 meses | 9 meses | 12 meses | 18 meses | 24 meses | 36 meses |
|--|--|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
| Contenido de nitrógeno proteico            | Para el cálculo de la pureza antigénica (mg/mL)  | 4,11   | 4,11    | 4,10    | 4,17    | 4,03     | 4,14     | 4,04     | 4,02     |
| Título de floclulación                     | Para el cálculo de la pureza antigénica (Lf/mL)  | 5000   | 5000    | 5000    | 5000    | 5000     | 5000     | 5000     | 5000     |
| Pureza antigénica                          | ≥ 1000 Lf/mg de nitrógeno proteico   | 1217   | 1217    | 1220    | 1199    | 1241     | 1208     | 1238     | 1244     |
| Contenido de formaldehído libre            | Para información (se utiliza según sea necesario para la formulación en el producto final a granel; µg/mL) | 58,19  | 83,75   | 87,38   | 84,33   | 81,91    | 101,57   | 86,67    | 87,70    |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ausencia de crecimiento microbiano   | Cumple | Cumple  | NR*     | NR      | NR       | NR       | NR       | Cumple   |
| Toxicidad específica (ausencia de toxina)  | Negativo   | Cumple | Cumple† | NR      | NR      | NR       | NR       | NR       | Cumple   |
| Irreversibilidad del toxoide tetánico      | Ausencia de síntomas tetánicos y un mínimo del 80 % de supervivencia.                                      | Cumple | Cumple  | Cumple  | Cumple  | Cumple   | Cumple   | Cumple   | Cumple   |

\* No realizada.

† Realizada a los 4 meses

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.

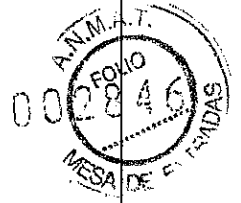




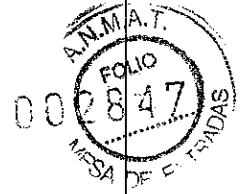
Tabla 5: Resultados de estabilidad para el PTT almacenado a + 5 °C ± 3 °C, obtenido a partir de CTT elaborado con el proceso de fermentación industrial de 2400 L: lote FA276217

| Pruebas                                    | Criterios de aceptación  | T0     | 3 meses | 6 meses | 9 meses | 12 meses | 18 meses | 24 meses | 36 meses |
|--|--|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
| Contenido de nitrógeno proteico            | Para el cálculo de la pureza antigénica (mg/mL)  | 4,91   | 4,87    | 4,98    | 4,81    | 4,82     | 4,74     | 4,86     | 4,63     |
| Título de floculación                      | Para el cálculo de la pureza antigénica (Lf/mL)  | 5000   | 5000    | 5000    | 5500    | 5500     | 5000     | 5000     | 5000     |
| Pureza antigénica                          | ≥ 1000 Lf/mg de nitrógeno proteico   | 1018   | 1027    | 1004    | 1143    | 1141     | 1055     | 1029     | 1080     |
| Contenido de formaldehído libre            | Para información (se utiliza según sea necesario para la formulación en el producto final a granel; µg/mL) | 62,62  | 92,39   | 96,78   | 91,74   | 107,06   | 109,51   | 104,55   | 97,01    |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ausencia de crecimiento microbiano   | Cumple | Cumple  | NR*     | NR      | NR       | NR       | NR       | Cumple   |
| Toxicidad específica (ausencia de toxina)  | Negativo   | Cumple | Cumple  | NR      | NR      | NR       | NR       | NR       | Cumple   |
| Irreversibilidad del toxoide tetánico      | Ausencia de síntomas tetánicos y un mínimo del 80 % de supervivencia.                                      | Cumple | Cumple  | Cumple  | Cumple  | Cumple   | Cumple   | Cumple   | Cumple   |

NR: no realizada.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A



(1)

(1)

**Tabla 6: Resultados de estabilidad para el PTT almacenado a + 5 °C ± 3 °C, obtenido a partir de CTT elaborado con el proceso de fermentación industrial de 2400 L: lote FA297325**

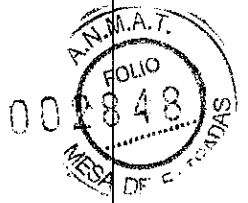
| Pruebas                                    | Criterios de aceptación  | T0     | 3 meses | 6 meses | 9 meses  | 12 meses | 18 meses | 24 meses | 36 meses |
|--|--|--------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Contenido de nitrógeno proteico            | Para el cálculo de la pureza antigénica (mg/mL)  | 2,45   | 2,42    | 2,63    | 2,41     | 2,39     | 2,35     | 2,35     | AC*      |
| Título de floculación                      | Para el cálculo de la pureza antigénica (Lf/mL)  | 3500   | 3500    | 3150    | 3150     | 3000     | 3300     | 3300     | AC       |
| Pureza antigénica                          | ≥ 1000 Lf/mg de nitrógeno proteico   | 1429   | 1446    | 1198    | 1307     | 1255     | 1404     | 1404     | AC       |
| Contenido de formaldehído libre            | Para información (se utiliza según sea necesario para la formulación en el producto final a granel; µg/mL) | 29,65  | 37,22   | 50,42   | 56,09    | 55,69    | 58,32    | 57,87    | AC       |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ausencia de crecimiento microbiano   | Cumple | Cumple  | NR†     | NR       | NR       | NR       | NR       | AC       |
| Toxicidad específica (ausencia de toxina)  | Negativo   | Cumple | Cumple  | NR      | NR       | NR       | NR       | NR       | AC       |
| Irreversibilidad del toxoide tetánico      | Ausencia de síntomas tetánicos y un mínimo del 80 % de supervivencia.                                      | Cumple | Cumple  | Cumple  | Inválido | Cumple   | Cumple   | Cumple   | AC       |

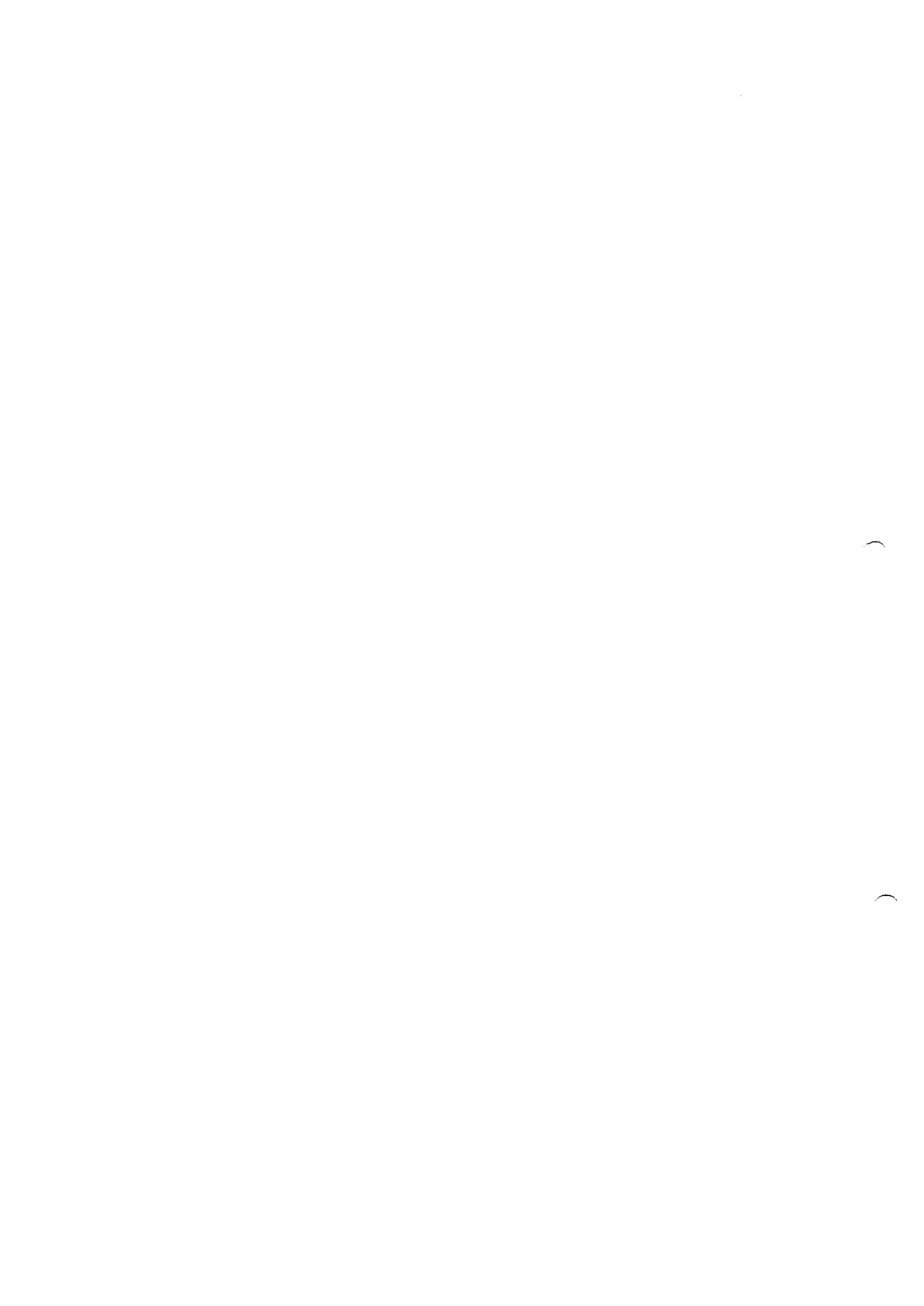
AC: a completar.

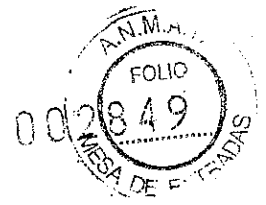
NR: no realizada.

ROXANA MONTEMILOME  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN JUMPER  
GERENTE GENERAL  
SANOFI PASTEUR S.A.









**3.2.S.6**

**Sistema de Cierre del Envase - FHA PTxd**

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
INGENIERO  
SANOFI PASTEUR S.A.





## Sección 3.2.S.6 Sistema de cierre del envase

### Índice

|   |   |
|---|---|
| Lista de tablas .....                                 | 2 |
| 1 Acondicionamiento primario .....                    | 3 |
| 1.1 Identidad de los materiales de construcción ..... | 3 |
| 1.2 Especificaciones .....                            | 3 |
| 2 Acondicionamiento secundario .....                  | 3 |
| 3 Idoneidad.....                                      | 3 |





## List of Tables

Tabla 1: Composición del sistema de cierre del envase utilizado para el almacenamiento del lote .3





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

## 1 Acondicionamiento primario

### 1.1 Identidad de los materiales de construcción

La composición del sistema de cierre del envase utilizado para el almacenamiento de los antígenos toxoide pertúsico purificado adsorbido y FHA purificada adsorbida se resume en la tabla 1.

**Tabla 1: Composición del sistema de cierre del envase utilizado para el almacenamiento del granel**

|                          | FHA purificada adsorbida                                 | Toxoide pertúsico purificado adsorbido                   |
|--------------------------|--|--|
| <b>Envase</b>            | Matraces de vidrio de 10 litros y 1 litro (tipo 1)       | Matraces de vidrio de 10 litros y 1 litro (tipo 1)       |
| <b>Sellos del cierre</b> | Tapones de polipropileno con montura de acero inoxidable | Tapones de polipropileno con montura de acero inoxidable |

### 1.2 Especificaciones

Los viales de vidrio tipo 1 cumplen con la Ph. Eur. 3.2.1, edición actual "Glass containers for pharmaceutical use".

El polipropileno cumple con la regulación BfR, con la regulación de la FDA y con la prueba 23 clase VI de la USP.

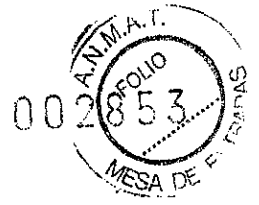
## 2 Acondicionamiento secundario

No se aplica

## 3 Idoneidad


La adecuación del sistema de cierre del envase utilizado para el almacenamiento tanto del toxoide pertúsico purificado adsorbido como de la FHA purificada adsorbida se demostró mediante los estudios de estabilidad mencionados en la sección 3.2.S.7 (3.2.S.7.1 Estabilidad, resumen y conclusiones de estabilidad, 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad).






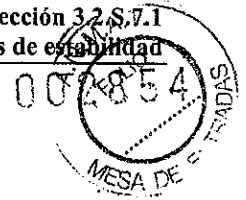
### 3.2.S.7.1

## Resumen y Conclusiones de Estabilidad - FHA

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.





## Sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad

### Índice

|   |   |
|---|---|
| Lista de tablas .....   | 2 |
| 1 Introducción.....   | 3 |
| 2 Protocolo del estudio de estabilidad de la FHA purificada adsorbida.....  | 4 |
| 2.1 Lotes .....   | 4 |
| 2.2 Pruebas y criterios de aceptación .....                                 | 5 |
| 2.3 Calendario de pruebas para el estudio de estabilidad.....               | 6 |
| 3 Resultados del estudio de estabilidad de la FHA purificada adsorbida..... | 7 |
| 4 Conclusión.....   | 8 |





### Lista de tablas

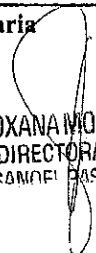
Tabla 1: Panorama del estudio de estabilidad llevado a cabo en la FHA purificada adsorbida.....3


Tabla 2: Lotes analizados para el estudio de estabilidad.....4

Tabla 3: Pruebas indicadoras de estabilidad y criterios de aceptación para la FHA purificada adsorbida .....5

Tabla 4: Frecuencia de las pruebas para el estudio de estabilidad .....6

Tabla 5: Resumen de las condiciones de almacenamiento.....8

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
GERENTE  
SANOFI PASTEUR S.A.





Lista de abreviaturas: vea 2,3 Resumen general de calidad, Introducción,

## 1 Introducción

Esta sección presenta el estudio de estabilidad para la hemaglutinina filamentosa purificada adsorbida (FHA), Los detalles de este estudio se resumen a continuación y las condiciones de estabilidad se resumen en la tabla 1 para la FHA,

- Estudio de estabilidad para documentar la estabilidad de la FHA purificada adsorbida, Este estudio se llevó a cabo en seis lotes de FHA purificada adsorbida envasada en viales de vidrio y almacenada a  $+ 5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 meses,

**Tabla 1: Panorama del estudio de estabilidad llevado a cabo en la FHA purificada adsorbida**

| Número de lote | Diseño del estudio de estabilidad<br>(condiciones de almacenamiento / momentos de medición)                       | Estado     | Objetivo   |
|----------------|---|------------|--|
| FA109883       | $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$<br><br>(T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24, T36, T48 meses) | Completado | Estudio para documentar la estabilidad de la FHA purificada adsorbida, |
| FA109884       |   |            |  |
| FA109885       |   |            |  |
| FA109886       |   |            |  |
| FA109887       |   |            |  |
| FA109888       |   |            |  |





## 2 Protocolo del estudio de estabilidad de la FHA purificada adsorbida

### 2.1 Lotes

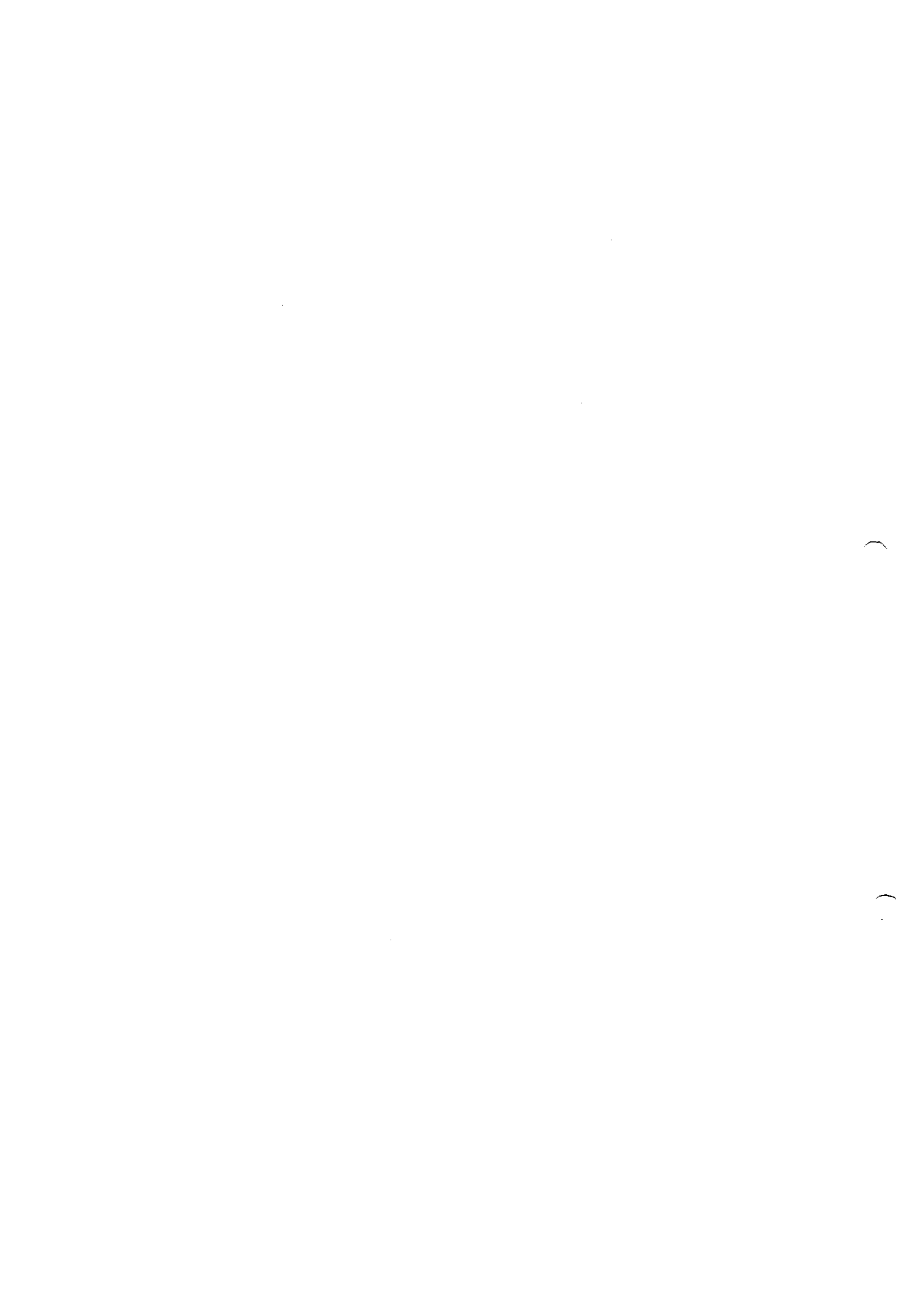
La información para los lotes de FHA purificada adsorbida colocada en estabilidad se resume en la tabla 2 a continuación,

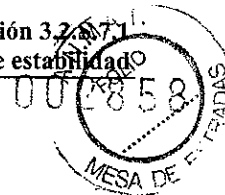
**Tabla 2: Lotes analizados para el estudio de estabilidad**

| Tipo de lote       | Número de lote | Fecha de elaboración | Planta de elaboración | Tamaño del lote | Cierre del envase       | Uso del lote |
|--------------------|----------------|----------------------|-----------------------|-----------------|-------------------------|--------------|
| Lotes industriales | FA109883       | 05 Sep 2002          | Marcy l'Etoile        | 56,8 litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |
|                    | FA109884       | 12 Sep 2002          | Marcy l'Etoile        | 51,8 Litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |
|                    | FA10985        | 19 Sep 2002          | Marcy l'Etoile        | 28,5 litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |
|                    | FA109886       | 11 Oct 2002          | Marcy l'Etoile        | 55,0 litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |
|                    | FA109887       | 18 Oct 2002          | Marcy l'Etoile        | 66,4 litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |
|                    | FA109888       | 31 Oct 2002          | Marcy l'Etoile        | 13,8 litros     | Vial de vidrio de 50 mL | Comercial    |

**Nota:**

- Para información adicional sobre la elaboración de estos lotes, consulte 3.2.S.2.2 Cultivo celular y cosecha, y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación.
- Para información adicional sobre el sistema de cierre de estos lotes, vea 3.2.S.6 Sistema de cierre del envase.





## 2.2 Pruebas y criterios de aceptación

Las pruebas indicadoras de estabilidad para el principio activo FHA purificada adsorbida, con el método asociado y los criterios de aceptación, se resumen en la tabla 3 a continuación.

**Tabla 3: Pruebas indicadoras de estabilidad y criterios de aceptación para la FHA purificada adsorbida**

| Prueba                                     | Método de referencia            | Criterios de aceptación  |
|--|---------------------------------|--|
| Contenido de aluminio                      | Ph. Eur. 2.5.13. edición actual | 0,6-1,4 mg Al/mg de proteínas  |
| Medición del pH                            | Ph. Eur. 2.2.3. edición actual  | 6,2-8,2  |
| Identificación de la FHA                   | Ph. Eur. 2.7.1. edición actual  | Positivo   |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | Ph. Eur. 2.6.1. edición actual  | Sin crecimiento microbiano   |
| Antigenicidad: FHA no adsorbida            | Ph. Eur. 2.7.1. edición actual  | Para información (µg/mL)   |
| Inmunogenicidad de la FHA en ratones       | Ph. Eur. 1356. edición actual   | El promedio del título anti-FHA (UE/mL) se encuentra en el intervalo de tolerancia estadística [109 -1303] |

La prueba de contenido de aluminio se realiza al momento de la liberación en la FHA purificada adsorbida. Esta prueba se seleccionó para el estudio de estabilidad como indicadora de la estabilidad con el fin de determinar la cantidad del portador. El método de prueba y los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados durante la liberación.

La medición del pH es una prueba de liberación que se realiza con la FHA purificada adsorbida. Esta prueba se seleccionó para el estudio de estabilidad como indicadora de estabilidad para dar seguimiento a la degradación fisicoquímica. El método de prueba y los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados durante la liberación.

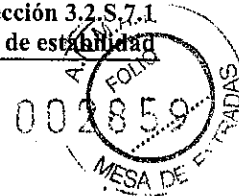
La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica es una prueba de liberación que se realiza con la FHA purificada adsorbida. Esta prueba es indicadora de estabilidad y se seleccionó para el estudio de estabilidad con el fin de dar seguimiento a la degradación microbiana. El método de prueba y los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados durante la liberación.

La prueba de FHA no adsorbida se realiza al momento de la liberación con el intermedio de FHA purificada adsorbida en solución. Esta prueba se seleccionó para el estudio de estabilidad con el fin de evaluar la desorción de la FHA. El método de prueba (ELISA) y los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados para la liberación del intermedio de FHA purificada en solución.

La prueba de inmunogenicidad de la FHA se realiza al momento de la liberación con el producto a granel de FHA. Esta prueba se seleccionó para el estudio de estabilidad con el fin de evaluar la potencia y la estabilidad biológica del producto durante el almacenamiento. La prueba de inmunogenicidad se realiza a una concentración final de:

- proteínas = 50 µg/mL
- gel de aluminio = 0,6 g de gel de Al/mL.





### 2.3 Calendario de pruebas para el estudio de estabilidad

La frecuencia de las pruebas para el estudio de estabilidad del principio activo FHA purificada adsorbida se resume a continuación.

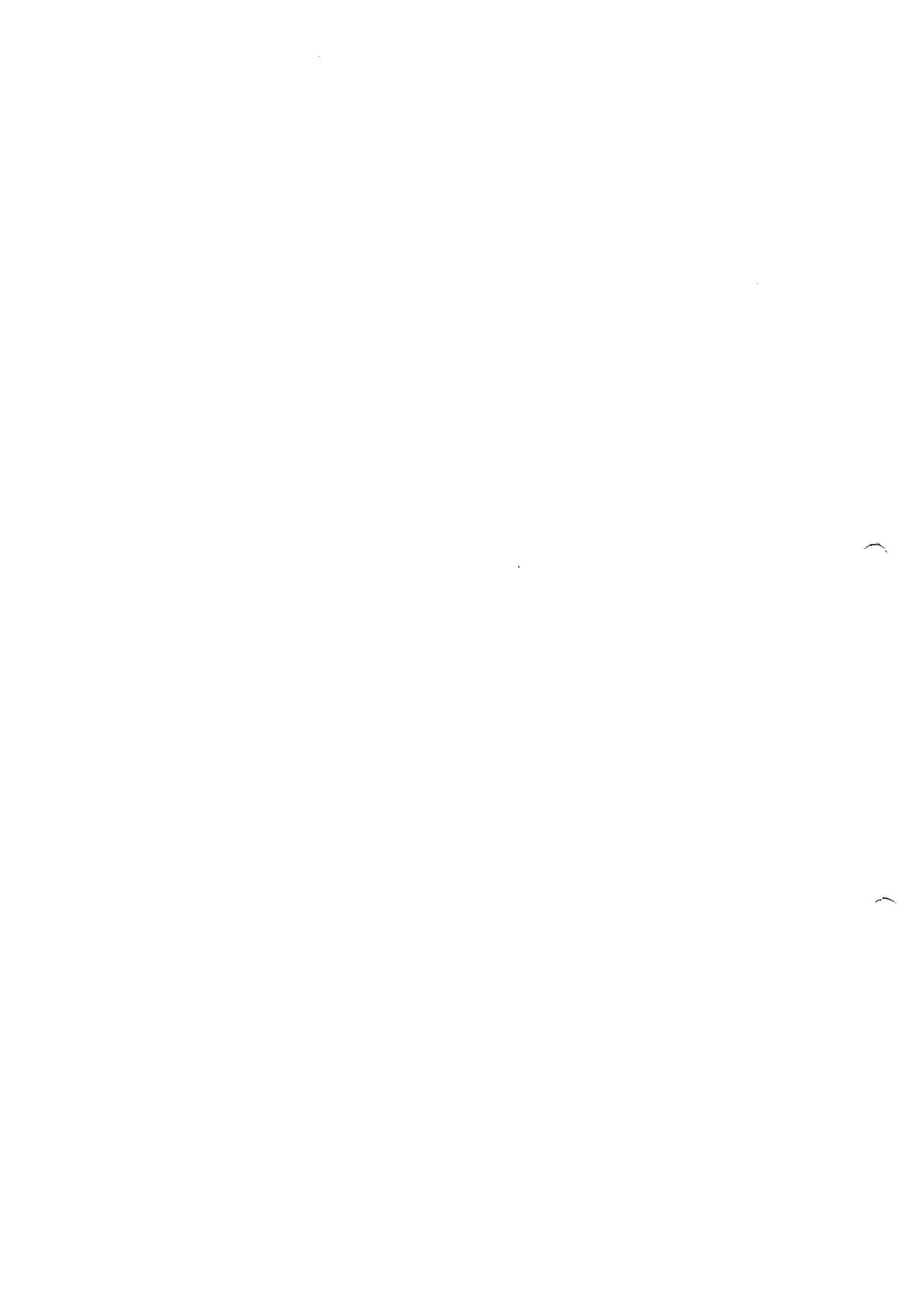
El calendario de las pruebas en condiciones de largo plazo (+5 °C ± 3 °C) se presentan en la tabla 4:

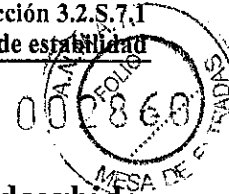
**Tabla 4: Frecuencia de las pruebas para el estudio de estabilidad**

| Prueba                                     | Condiciones de almacenamiento: +5 °C ± 3 °C  |     |    |    |    |    |    |    |    |
|--|--|-----|----|----|----|----|----|----|----|
|  | Puntos de medición de la estabilidad (meses) |     |    |    |    |    |    |    |    |
|  | T0   | 3   | 6  | 9  | 12 | 18 | 24 | 36 | 48 |
| Contenido de aluminio                      | X*   | X   | X  | X  | X  | X  | X  | X  | X  |
| Medición del pH                            | X  | X   | X  | X  | X  | X  | X  | X  | X  |
| Identificación de la FHA                   | X  | NR† | NR | NR | NR | NR | NR | NR | X  |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | X  | NR  | NR | NR | NR | NR | NR | NR | X  |
| Antigenicidad: FHA no adsorbida            | X  | X   | X  | X  | X  | X  | X  | X  | X  |
| Inmunogenicidad de la FHA en ratones       | X  | X   | X  | X  | X  | X  | X  | X  | X  |

\* X: la prueba se realiza en este momento de medición según el protocolo.

† NR: No realizada, según lo planeado en el protocolo.





### 3 Resultados del estudio de estabilidad de la FHA purificada adsorbida

El resumen del estudio de estabilidad se presenta a continuación. Los resultados detallados se presentan en la sección 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad.

- **Parámetros fisicoquímicos y pureza**

El análisis estadístico destacó un incremento significativo del contenido de aluminio únicamente para el lote FA109883. Sin embargo, los resultados siguen cumpliendo y esta tendencia se puede explicar debido al valor más bajo observado a los 6 meses y el más alto observado a los 48 meses. Con respecto a los resultados de todos los lotes, todos los valores son homogéneos y los resultados observados para el lote FA109883 se pueden explicar por la variabilidad del método. Se consideró que esta tendencia no es significativa.

Algunas fluctuaciones en la medición del pH se observaron con algunos resultados fuera de especificación en diferentes momentos de medición de forma aleatoria. Estos resultados se pueden explicar por el tampón utilizado para la elaboración (tampón de carbonato 0,1 M, pH 9,6), que es muy sensible a los intercambios de aire. La agitación y la cámara de aire de los viales genera algunos intercambios de aire, que probablemente sean responsables de la fluctuación del pH. Los viales se analizaron al azar en diferentes momentos de medición, y se puede dar seguimiento a los resultados que cumplen y que no cumplen con las especificaciones con diferentes resultados para el mismo momento de medición o para el siguiente: repeticiones de las pruebas que cumplen, repeticiones de las pruebas que no cumplen, siguientes puntos de medición que cumplen.

Se llevó a cabo una investigación para encontrar alguna medida correctiva con el fin de evitar estos resultados y limitar los intercambios de aire. Antes de la medición del pH, el laboratorio de CC ya no agita la muestra del granel que se está analizando. Esta medida correctiva se ha aplicado desde abril de 2003. Asimismo, se ha decidido reducir la cámara de aire de los viales de vidrio durante la producción en la medida de lo posible.

Se generó un incumplimiento general para explicar eso y se concluyó que estos resultados son aceptables y que no tienen efecto sobre la calidad del producto.

La identificación de la FHA sigue cumpliendo los criterios de aceptación durante el almacenamiento de 48 meses a  $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ .

- **Actividad**

La adsorción de la FHA no se altera durante 48 meses a  $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ .

De igual modo, el análisis estadístico no revela ninguna tendencia sobre la inmunogenicidad de la FHA en ratones. En comparación con este intervalo, los resultados del granel de FHA se consideran aceptables.

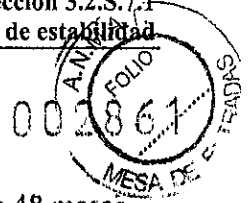
Las tres pruebas no válidas (respuesta en ratones  $< 80\%$ ) fueron para la inmunogenicidad de la FHA: para el lote FA109883 a los 3 y 9 meses y para el lote FA109888 a los 6 meses.

La actividad se mantiene durante 48 meses a  $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ ,

- **Seguridad**

El producto permanece estéril después de almacenarlo a  $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  durante 48 meses.





- **Conclusión**

Estos resultados permiten concluir que la FHA purificada adsorbida es estable durante 48 meses cuando se almacena a  $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  en viales de vidrio. Sin embargo, la cámara de aire de los viales se debe reducir lo más posible para evitar variaciones en el pH.

#### 4 Conclusión

Con base en los resultados obtenidos en condiciones normales, se puede establecer una vida útil de 48 meses para la FHA purificada adsorbida en viales de vidrio.

Las condiciones de almacenamiento se resumen en la tabla 5.

**Tabla 5: Resumen de las condiciones de almacenamiento**

| Producto almacenado      | Envase y sellos del cierre  | Vida útil | Condiciones de almacenamiento  |
|--------------------------|---|-----------|--------------------------------|
| FHA purificada adsorbida | Matraces de vidrio de 10 litros y de 1 litro (tipo 1) sellados con tapones de polipropileno | 48 meses  | $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ |

