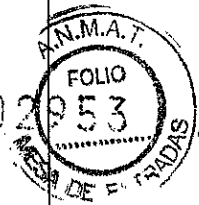


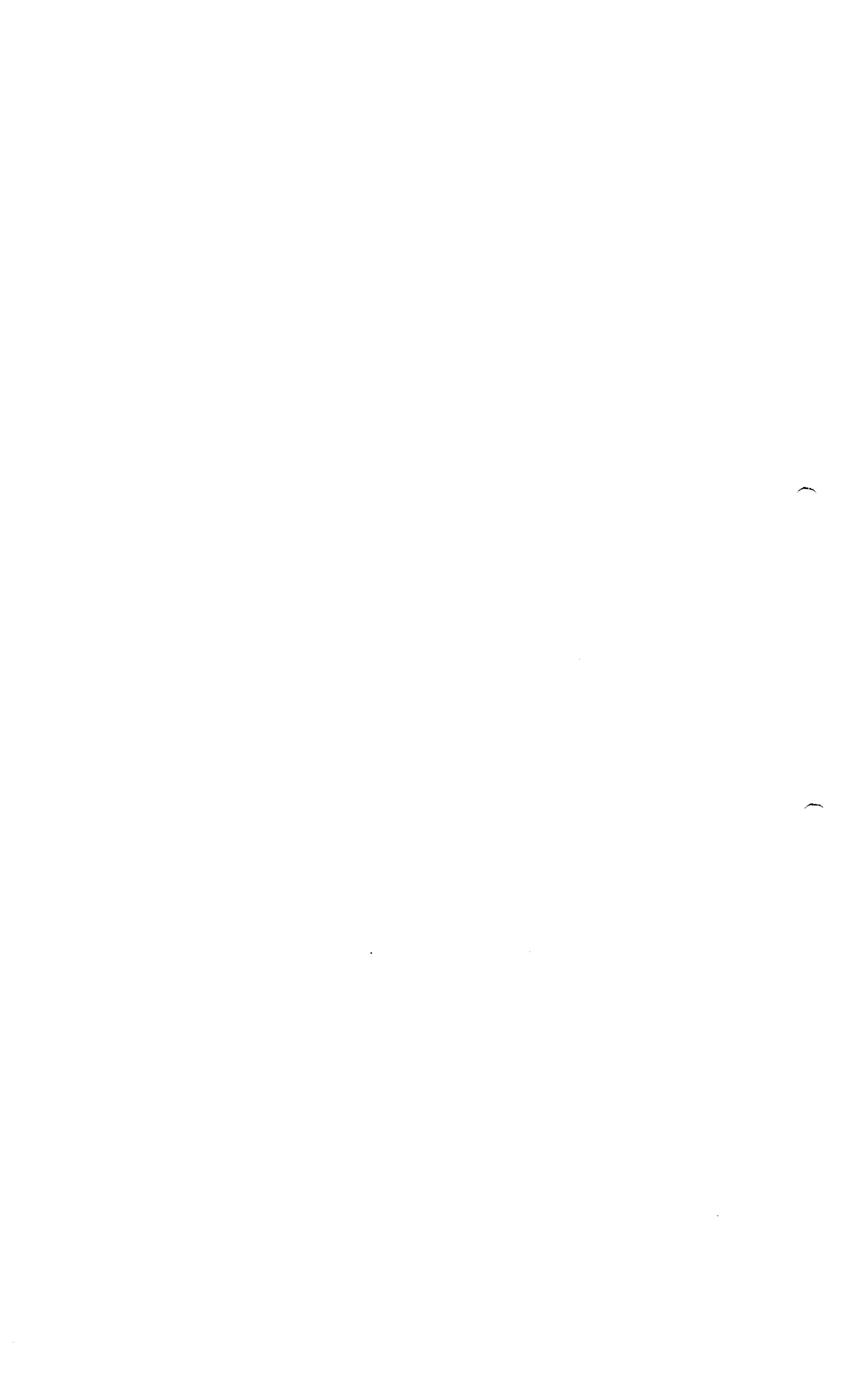
Tabla 1: Panorama de los estudios de estabilidad

Estudio	Número de lote	Fecha de elaboración	Diseño del estudio de estabilidad	Estado	Objetivo
Estudio 1	FA268295	07 jul 2007	≤ -35°C Condiciones de almacenamiento de largo plazo T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24 y T36 excepto para: > La identificación del tétanos y del <i>Haemophilus</i> sólo se realizó en T0, T6, T12, T24 y T36 > La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica sólo se realizó en T0, T24 y T36 > La irreversibilidad de la proteína tetánica sólo se realizó en T6, T12, T24 y T36	Completado	Estudio de estabilidad para respaldar la vida útil de 36 meses a ≤ -35 °C realizado con lotes de PRP-T elaborados con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 2400 L.
	FA286918	25 sep 2007			
	FA286919	26 sep 2007			
Estudio 2	FA013213	21 mayo 1999	≤ -35°C Condiciones de almacenamiento de largo plazo T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24 y T36 excepto para: > La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica no se realizó en T18 y en T36 meses	Completado	Estudio de estabilidad para respaldar la vida útil de 36 meses a ≤ -35 °C realizado con lotes de PRP-T elaborados con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 1200 L (PRP no reprocesado).
	FA016478	18 jun 1999			
	FA016769	24 jun 1999			
Estudio 3	FA023655	30 sep 1999	≤ -35°C Condiciones de almacenamiento de largo plazo T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24 y T36 excepto para: > La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica no se realizó en T18 y en T36 meses	Completado	Estudio de estabilidad para respaldar la vida útil de 36 meses a ≤ -35 °C realizado con lotes de PRP-T elaborados con PRP reprocesado, (PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 1200 L).
	FA023793	07 oct 1999			
	FA023815	15 oct 1999			
Estudio 4	FA184846	23 jun 2004	+5 °C ± 3 °C Condiciones de almacenamiento de largo plazo T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24 y T36 excepto para: > La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica no se realizó en T3, T6, T9 y T18 meses	Completado	Estudio complementario de estabilidad para validar que se mantiene la esterilidad y para respaldar la vida útil de 36 meses a ≤ -35 °C realizado con lotes de PRP-T elaborados con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 1200 L. (PRP no reprocesado).
	FA184847	24 jun 2004			
	FA184848	25 jun 2004			

ROXANA MONTEMILOME DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ GERENTE SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0302427



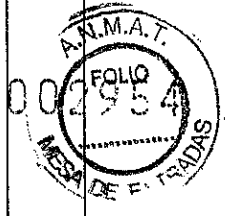


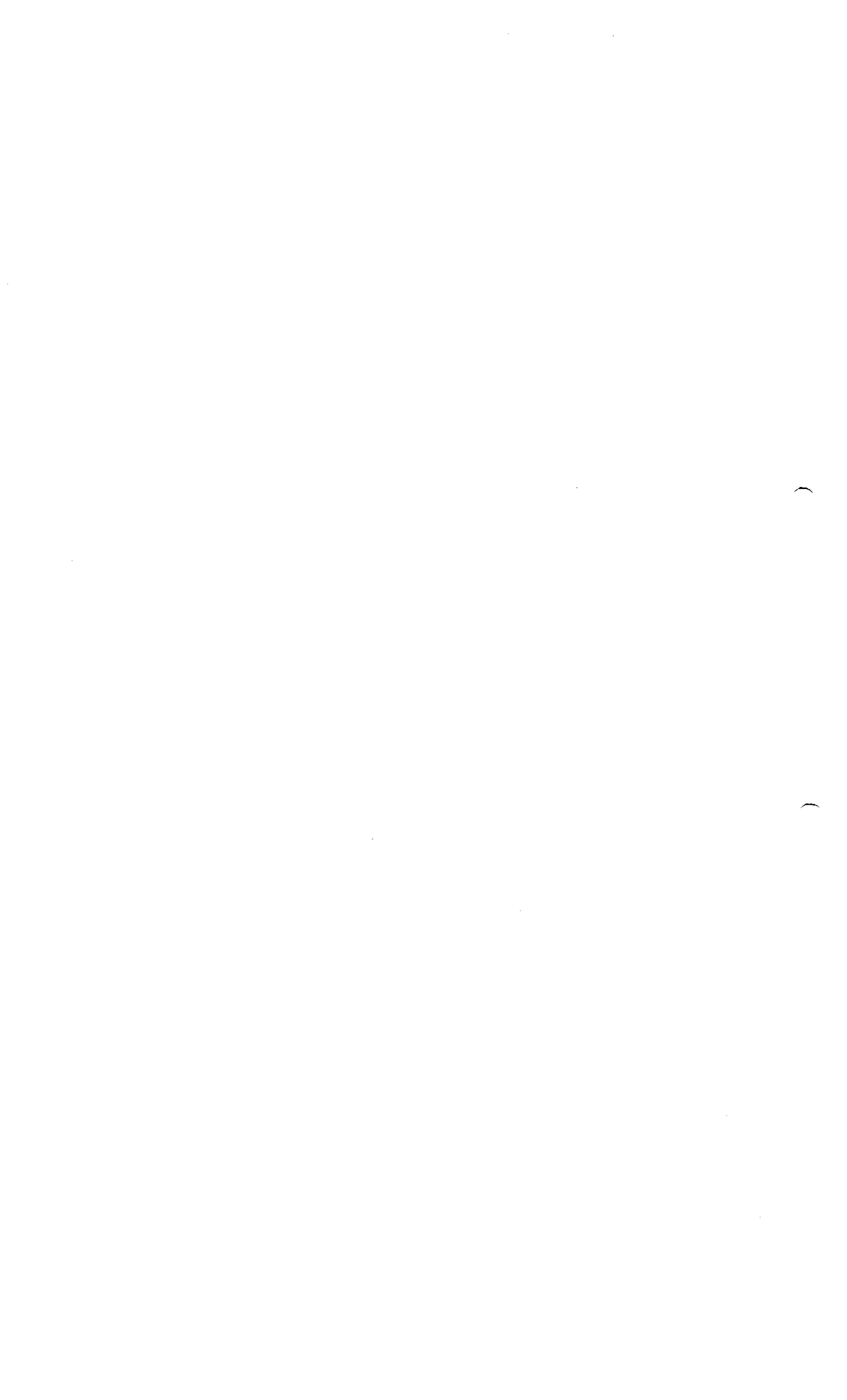
Estudio	Número de lote	Fecha de elaboración	Diseño del estudio de estabilidad		Estado	Objetivo
Estudio 5	PRP-T 002 PRP-T 004 PRP-T 005	/ / /	+5 °C ± 3 °C Condiciones aceleradas de almacenamiento T0, T6, T12 y T24 excepto para: > prueba de % HMWC no realizada en T6 > La prueba de tamaño molecular no se realizó en un lote (005) en T0, en 1 lote (002) en T6 y en 2 lotes (004 y 005) en T12 > La prueba K _D no se realizó en 1 lote (002) en T6 y en 1 lote (005) en T12 > La prueba de inmunogenicidad en ratones no se realizó en T6 > La prueba de irreversibilidad de la proteína tetánica no se realizó en T6	+22 °C ± 2 °C Condiciones aceleradas de almacenamiento T0, T6, T12 y T24 excepto para: > La prueba de tamaño molecular no se realizó en T6 y en T12 y no se realizó en 1 lote (005) en T0 > La prueba K _D no se realizó en 2 lotes (004 y 005) en T12 > La prueba de inmunogenicidad en ratones no se realizó en 1 lote (002) en T0 > La prueba de irreversibilidad de la proteína tetánica no se realizó en T6 y en T12	Completado	Estudio de estabilidad para evaluar el efecto desviaciones de corto plazo fuera de las condiciones de almacenamiento declaradas en lotes de PRP-T elaborados con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 1200 L.
	PRP-T 006 PRP-T 013 PRP-T 014	/ / /	+5 °C ± 3 °C Condiciones aceleradas de almacenamiento T0, T6, T9, T12, T18 y T24 excepto para: > La prueba de % HMWC no se realizó en T9, en 2 lotes (006 y 013) en T6, en 2 lotes (013 y 014) 3n T18 y en 1 lote (014) en T24. > La prueba de tamaño molecular no se realizó en 2 lotes (013 y 014) en T9 y en T18, y en 1 lote (014) en T24. > La prueba K _D no se realizó en 1 lote (006) en T0, en 2 lotes (013 y 014) en T9 y T18, y en 1 lote (014) en T24 > La prueba de inmunogenicidad en ratones no se realizó en T18, en 2 lotes (013 y 014) en T9 y en 2 lotes (006 y 014) en T24 > La prueba de irreversibilidad de la proteína tetánica no se realizó en T0			

ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
CHRISTIAN DAMIAN GUEZ COOPERADO SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0302427

Información confidencial/proprietaria
Página 6 de 19





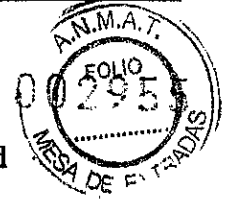


Tabla 2: Panorama de las pruebas realizadas durante los estudios de estabilidad

Pruebas	Estudio 1	Estudio 2	Estudio 3	Estudio 4	Estudio 5
Contenido de polisacárido (contenido de fósforo en el PRP-T)	X*	X	X	NR†	NR
Contenido de sacarosa	X	X	X	NR	NR
Proporción proteína/polisacárido (contenido de proteína y fósforo en el PRP-T tras la diálisis)	X	X	X	NR	NR
Prueba de identificación del tétanos	X	X	X	NR	NR
Prueba de identificación del <i>Haemophilus tipo B</i>	X	X	X	NR	NR
Contenido de proteína tetánica libre	X	X	X	NR	NR
Medición del pH	X	X	X	X	NR
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	X	X	X	X	NR
Distribución del tamaño molecular: % de polisacáridos eluidos antes de $K_D 0,20$ (LP-SEC)	X	X	X	X	X
K_D (HPLC)	NR	NR	NR	NR	X
Contenido de polisacáridos conjugados de alto peso molecular (HMWC)	NR	X‡	X‡	NR	X
y Contenido de polisacáridos libres (PRP despolimerizado)	NR	X‡	X‡	NR	X
Contenido de polisacáridos libres (por ultracentrifugación y cromatografía)	X	X	X	X	NR
Irreversibilidad de la proteína tetánica	X	X	X	NR	X

* X: Prueba realizada

† NR: No realizada

‡ El método para este parámetro se modificó a los 18 meses para los estudios 2 y 3 (vea el capítulo 2.3.2). El método aplicado desde entonces para medir el contenido de polisacáridos libres es el que se encuentra en vigor para el control de liberación (vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos, contenido de polisacáridos libres por ultracentrifugación y cromatografía).





2 Protocolo del estudio

Los resultados de estabilidad se presentan en la sección 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad.

2.1 Lotes estudiados

2.1.1 Estudio de estabilidad 1: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 2400 L de PTP

La estabilidad de tres lotes de PRP-T obtenido a partir de PTP elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 2400 L se evaluó analizando el producto almacenado a ≤ -35 °C a lo largo de 36 meses. Las características de los tres lotes se presentan en la tabla 3.

Tabla 3: Descripción de los lotes de PRP-T utilizados en el estudio 1

Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño de lote	Cierre del envase	Uso del lote
FA268295	Marcy l'Etoile	07 jul 2007	33,6 L	Matraces de polipropileno con cierre de polipropileno, llenados para imitar las prácticas industriales de llenado y almacenamiento del granel de polisacárido conjugado de <i>Haemophilus b.</i>	Industrial
FA286918	Marcy l'Etoile	25 sep 2007	25,7 L		Industrial
FA286919	Marcy l'Etoile	26 sep 2007	30,9 L		Industrial

2.1.2 Estudio de estabilidad 2: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP y PRP no reprocesado

Las características de los lotes se presentan en la tabla 4.

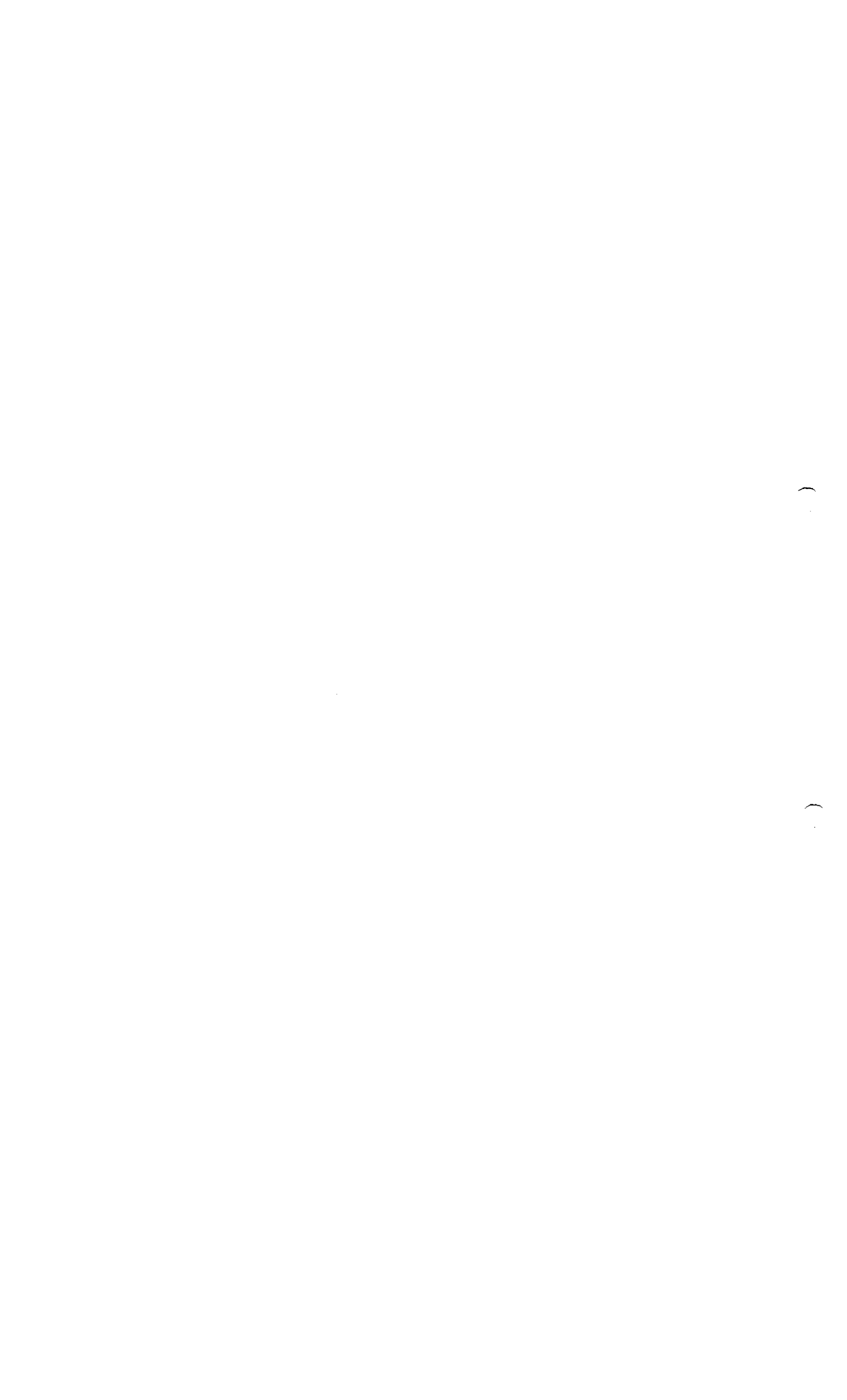




Tabla 4: Descripción de los lotes de PRP-T utilizados en el estudio 2

Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño de lote	Cierre del envase	Uso del lote
FA013213	Marcy l'Etoile	21 mayo 1999	35,4 L	Matraces de polipropileno con cierre de polipropileno, llenados para imitar las prácticas industriales de llenado y almacenamiento del granel de polisacárido conjugado de <i>Haemophilus b.</i>	Industrial
FA016478	Marcy l'Etoile	18 jun 1999	37,3 L		Industrial
FA016769	Marcy l'Etoile	24 jun 1999	25,6 L		Industrial

2.1.3 Estudio de estabilidad 3: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP y PRP reprocesado

Las características de los lotes se presentan en la tabla 5.

Tabla 5: Descripción de los lotes de PRP-T utilizados en el estudio 3

Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño de lote	Cierre del envase	Uso del lote
FA023665	Marcy l'Etoile	30 sep 1999	42,7 L	Matraces de polipropileno con cierre de polipropileno, llenados para imitar las prácticas industriales de llenado y almacenamiento del granel de polisacárido conjugado de <i>Haemophilus b.</i>	Industrial
FA023793	Marcy l'Etoile	07 oct 1999	45,2 L		Industrial
FA023815	Marcy l'Etoile	15 oct 1999	40,2 L		Industrial

2.1.4 Estudio de estabilidad 4: Estudio complementario de estabilidad realizado en lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP y PRP no reprocesado

Con el fin de recopilar datos adicionales de estabilidad sobre el mantenimiento de la esterilidad del PRP-T con el paso del tiempo, un estudio adicional de estabilidad centrado en este parámetro se llevó a cabo en tres lotes. Las características de los lotes se presentan en la tabla 6.



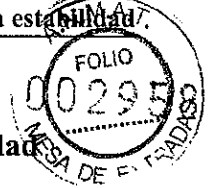


Tabla 6: Descripción de los lotes de PRP-T del estudio complementario de estabilidad utilizados en el estudio 4

Número de lote	Lugar de elaboración	Inicio del estudio	Tamaño de lote	Cierre del envase	Uso del lote
FA184846	Marcy l'Etoile	23 jun 2004	34,4 L	Matraces de polipropileno con cierre de polipropileno, llenados para imitar las prácticas industriales de llenado y almacenamiento del granel de polisacárido conjugado de <i>Haemophilus b</i> .	Industrial
FA184847	Marcy l'Etoile	24 jun 2004	35,2 L		Industrial
FA184848	Marcy l'Etoile	25 jun 2004	12,1 L		Industrial

2.1.5 Estudio de estabilidad 5: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP en condiciones aceleradas

Se han llevado a cabo tres estudios de estabilidad en condiciones aceleradas con lotes de desarrollo elaborados en Marcy l'Etoile: PRP-T 002, PRP-T 004, PRP-T 005. PRP-T 006, PRP-T 013 y PRP-T 014.

2.2 Parámetros estudiados y criterios de aceptación

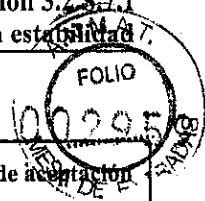
Las pruebas seleccionadas para los estudios de estabilidad así como el principio de los métodos y los criterios de aceptación aplicados durante los estudios de estabilidad se presentan en la tabla 7.

Los criterios de aceptación fueron los que estaban en vigor al inicio de los estudios de estabilidad.

Tabla 7: Métodos de prueba y criterios de aceptación

Pruebas*	Requeridas por	Métodos	Criterios de aceptación
Contenido de polisacárido Contenido de fósforo del PRP-T	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Cálculo utilizando el contenido de fósforo Medir el contenido de fósforo según el método de Chen, con base en la Ph. Eur. 2.5.18, edición actual	Para cálculo





Pruebas*	Requeridas por	Métodos	Criterios de aceptación
Proporción proteína/polisacárido Contenido proteico (PRP-T dializado) Contenido de polisacárido (PRP-T dializado)	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Cálculo utilizando el contenido de fósforo y proteína en el PRP-T dializado Ph. Eur. 2.5.16, edición vigente: Proteína en vacunas de polisacárido, método de Lowry. Aplicado en el PRP-T dializado (para evitar interferencias). Cálculo utilizando el contenido de fósforo en PRP-T dializado (para la homogeneidad de las matrices con la prueba de contenido proteico). Medir el contenido de fósforo según el método de Chen, con base en la Ph. Eur. 2.5.18, edición actual	1,8-3,0
Distribución del tamaño molecular: Polisacáridos eluidos antes de K_D 0,20 (LP-SEC)	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Ph. Eur. 2.2.30, edición actual Cromatografía de exclusión por tamaño (baja presión).	$\geq 60\%$
Contenido de polisacárido conjugado de alto peso molecular (HMWC) y contenido de polisacárido libre	/	Separación por precipitación y cuantificación con ensayo de fósforo.	$\geq 75\%$ (HMWC) < 20% (polisacárido libre)
Contenido de polisacárido libre	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Ultracentrifugación y cromatografía.	$\leq 20\%$
Contenido de proteína tetánica libre	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Ph. Eur. 2.2.31, edición actual Electroforesis (gradiente de gel de poliacrilamida)	$\leq 1\%$
Medición del pH	/	Ph. Eur. 2.2.3, edición actual Determinación potenciométrica.	6,5-7,5
Contenido de sacarosa	/	Colorimetría luego de la reacción enzimática	Para cálculo
Prueba de identificación del tétanos	/	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método de difusión doble	Positivo
Prueba de identificación del <i>Haemophilus</i> tipo B	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Método de difusión doble	Positivo
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 1219, edición actual TRS 897	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual Filtración por membrana	No se observa crecimiento microbiano
Irreversibilidad de la proteína tetánica	Ph. Eur. 0452, edición actual TRS 800	Inyección en cobayos	No se observan síntomas tetánicos y hay por lo menos 80% de supervivencia.

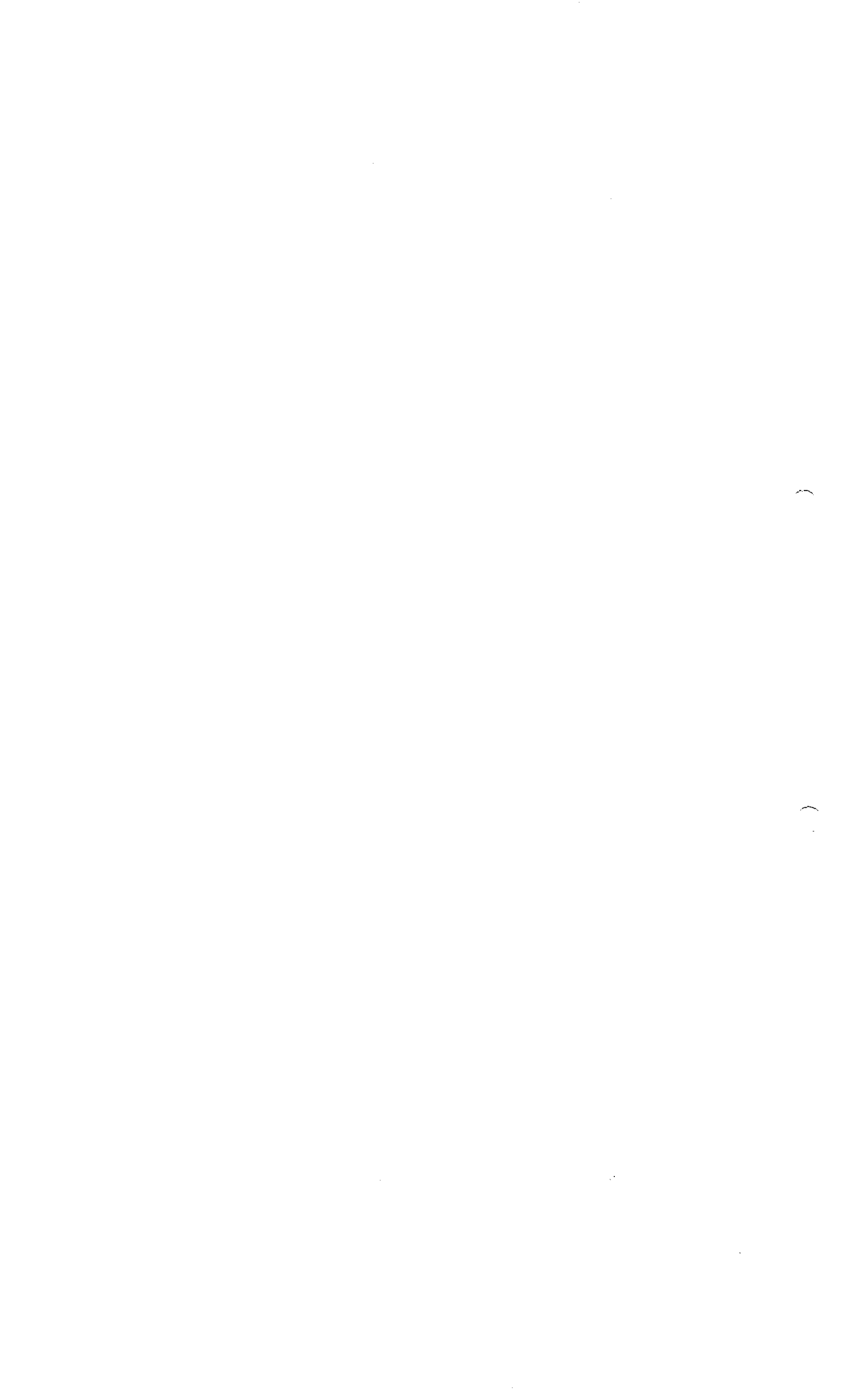
* La prueba de inmunogenicidad en ratones y la estimación del tamaño molecular (K_D) sólo se realizaron para las condiciones aceleradas.

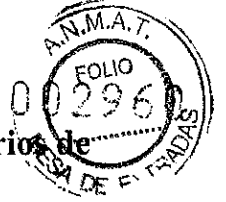
RA_0302427

Información confidencial/proprietaria
Página 11 de 19

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
JEFE DE SECCIÓN
SANOFI PASTEUR S.A.





2.3 Fundamentación de la selección de pruebas y justificación de los criterios de aceptación

2.3.1 Estudio de estabilidad 1: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de fermentación de 2400 L de PTP

Parámetros fisicoquímicos

Las pruebas de contenido de sacarosa y la medición del pH son pruebas de liberación (vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones). Estas pruebas fueron seleccionadas para el estudio de estabilidad debido a que son indicadores de estabilidad. Los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados en la liberación. Para el contenido de sacarosa, el método aplicado (colorimetría) corresponde al método que estaba en vigor cuando se inició el estudio de estabilidad.

Dado que el EDAC/EDU residual y el fenol residual corresponden a impurezas relacionadas con el proceso de elaboración, los resultados analíticos con estos parámetros no se consideraron indicadores de estabilidad y por lo tanto no fueron seleccionados para el estudio de estabilidad.

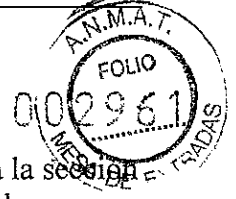
Parámetros de caracterización

Las pruebas de contenido de polisacáridos (contenido de fósforo del PRP-T), la proporción proteína/polisacáridos (contenido de proteínas y fósforo del PRP-T dializado), la distribución del tamaño molecular, el contenido de polisacáridos libres y el contenido de proteína tetánica libre corresponden a pruebas de liberación (vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones). Estas pruebas son indicadores de estabilidad y fueron seleccionadas para el estudio de estabilidad. Los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados en la liberación.

La proporción proteína/polisacáridos utilizada en el estudio de estabilidad se invierte a partir de los requisitos de la monografía n.º 1219 de la Ph. Eur. y del cálculo de la proporción polisacáridos/proteína que se proporciona en la sección 3.2.S.4.1 Especificación. Los criterios de aceptación (1,8 - 3,0) corresponden a los aplicados para la proporción polisacárido/proteína después de la inversión (0,33 - 0,55). El cálculo se invierte a partir del cálculo de la prueba de liberación actual ya que corresponde a las prácticas del fabricante inicial que estaban en vigor cuando se inició el estudio de estabilidad.

Para la distribución del tamaño molecular, el método aplicado corresponde a la cromatografía de baja presión de exclusión por tamaño (LP-SEC) que se encontraba en vigor cuando se inició el estudio de estabilidad. Los criterios de aceptación aplicados corresponden a los requisitos de la monografía n.º 1219 de la Ph. Eur. para los productos aprobados actualmente (polisacárido eluido antes de K_D 0,20 mayor o igual que 60 %).

Las pruebas de identificación del tétanos y del *Haemophilus* se agregaron a las pruebas de liberación como datos complementarios.



Pruebas de seguridad

La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica corresponde a la prueba de liberación (vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones). Los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados en la liberación.

La prueba de irreversibilidad del toxoide tetánico se realizó para demostrar que el almacenamiento no genera un efecto de reversión del toxoide tetánico conjugado al polisacárido de *Haemophilus*.

2.3.2 Estudios de estabilidad 2 y 3: PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP y PRP no reprocesado y procesado

Parámetros fisicoquímicos

La fundamentación de la prueba y la justificación de las especificaciones son las mismas que para el estudio 1 (vea el capítulo 2.3.1).

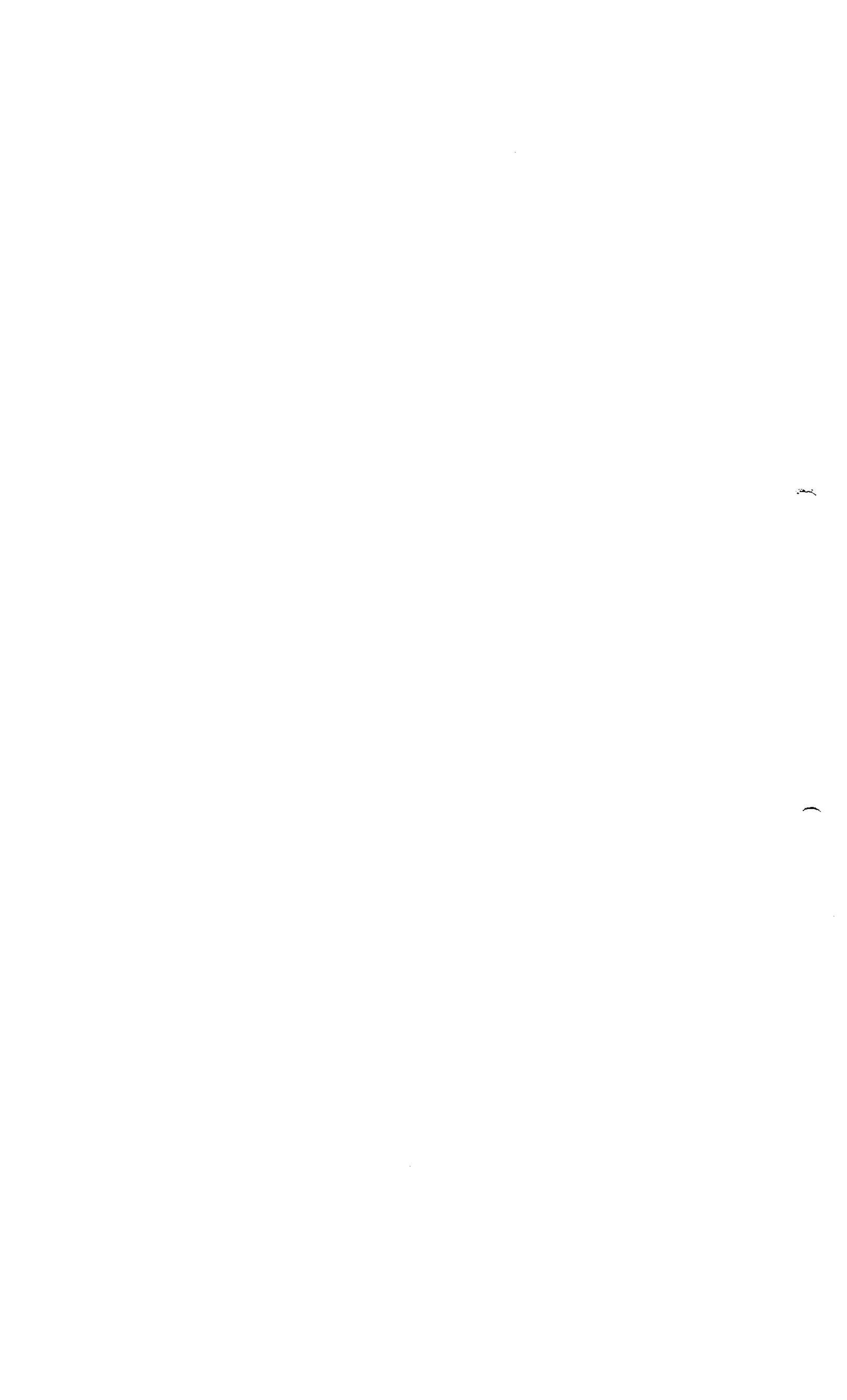
Parámetros de caracterización

La fundamentación de la prueba y la justificación de las especificaciones son las mismas que para el estudio 1 (vea el capítulo 2.3.1).

Para el contenido de polisacáridos libres (PRP despolimerizado), la prueba se midió inicialmente usando un método de separación por pasos de precipitación/centrifugación y un análisis del fósforo en los diferentes sobrenadantes. La determinación del contenido de polisacáridos libres produjo previamente la determinación del contenido de polisacáridos presentes en el conjugado de alto peso molecular (HMWC) lo cual completa los resultados obtenidos en la prueba de distribución por tamaño molecular. El contenido de polisacáridos libres correspondía a un 100 % de HMWC. Este método se reemplazó con un método directo de determinación de polisacárido libre mediante ultracentrifugación y cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento con detección amperométrica pulsada. El nuevo método se aplicó, a partir del momento de medición de 18 meses. La equivalencia del contenido de polisacáridos libres por ultracentrifugación y cromatografía con el contenido de polisacáridos libres obtenido por precipitación/centrifugación y cuantificación del fósforo se verificó antes de instrumentarla.

Pruebas de seguridad

La fundamentación de la prueba y la justificación de las especificaciones son las mismas que para el estudio 1 (vea el capítulo 2.3.1).





2.3.3 Estudio de estabilidad 4: Estudio complementario de estabilidad realizado con PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP

Este estudio de estabilidad se inició con el fin de recopilar datos adicionales de estabilidad sobre el mantenimiento de la esterilidad del PRP-T. Para este estudio adicional de estabilidad, se analizaron cuatro parámetros:

Parámetros fisicoquímicos

Medición del pH como indicador estándar de estabilidad.

Parámetros de caracterización

Contenido de polisacáridos libres y determinación del tamaño molecular como características principales del antígeno.

Pruebas de seguridad

Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica para validar que se mantiene la esterilidad durante el almacenamiento.

El contenido de polisacáridos libres, la medición del pH y las pruebas de esterilidad bacteriana y fúngica coinciden con las pruebas de liberación (vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones). Los criterios de aceptación son idénticos a los aplicados en la liberación.

Para la prueba de distribución del tamaño molecular, el método aplicado corresponde a la cromatografía de baja presión de exclusión por tamaño (LP-SEC) que se encontraba en vigor cuando se inició el estudio de estabilidad. Los criterios de aceptación aplicados corresponden a los requisitos de la monografía n.º 1219 de la Ph. Eur.

2.3.4 Estudio de estabilidad 5: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP en condiciones aceleradas

Los estudios de estabilidad realizados con los lotes de desarrollo en condiciones aceleradas se realizaron usando el método de distribución por tamaño molecular (método inicial y criterios de aceptación), K_D , determinación del contenido de HMWC/polisacáridos libres con el método de separación por precipitación/centrifugación y análisis de fósforo, irreversibilidad de la proteína tetánica. La prueba de inmunogenicidad en ratones se realizó según lo establecido en la monografía 1219 de la Ph. Eur. para *Haemophilus influenzae* tipo b vigente en el momento de realizar el estudio.



3 Resultados

3.1 Estudio de estabilidad 1: Lotes de PRP-T elaborados con el tamaño de lote industrial de fermentación de 2400 L de PTP

Parámetros fisicoquímicos

Los resultados para los parámetros fisicoquímicos del granel concentrado de PRP-T (es decir, la medición del pH) permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento para los lotes FA268295, FA286918 y FA286919, a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias. El contenido de sacarosa permanece estable a lo largo de 36 meses de almacenamiento para los lotes FA268295, FA286918 y FA286919, a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias.

Pruebas de caracterización

Los resultados para el contenido de fósforo, de polisacáridos, para la proporción proteína/polisacáridos, HMWC y distribución por tamaño molecular permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento para los lotes FA268295, FA286918 y FA286919, a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias.

La identificación del tétanos y del *Haemophilus tipo b* es positiva a lo largo del período estudiado.

El contenido de polisacáridos libres es estable y los resultados se encuentran dentro de las especificaciones.

Los resultados para el contenido de proteína tetánica libre confirman la estabilidad de la conjugación con PRP-T. De hecho, todos los resultados permanecen por debajo del 1 %.

Pruebas de seguridad y esterilidad

No se observan reversiones de la proteína tetánica en los tres lotes a lo largo de 36 meses de almacenamiento para los lotes FA268295, FA286918 y FA286919, a ≤ -35 °C.

Los resultados de la prueba de esterilidad cumplen con la Farmacopea Europa a lo largo de 36 meses de almacenamiento para los lotes FA268295, FA286918 y FA286919, a ≤ -35 °C.

3.2 Estudios de estabilidad previos realizados con PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP

3.2.1 Estudio 2: PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP y PRP no reprocesado

Parámetros fisicoquímicos

Los resultados para los parámetros fisicoquímicos del granel concentrado de PRP-T (es decir, la medición del pH) permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias. El contenido de sacarosa





permanece estable a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias.

Pruebas de caracterización

Los resultados para la proporción proteína/polisacáridos, HMWC y distribución por tamaño molecular permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias.

La identificación del tétanos y del *Haemophilus* tipo b es positiva a lo largo del período estudiado.

Para el lote FA016769, el contenido de fósforo presente en el PRP-T no muestra tendencias. Para los lotes FA013213 y FA016478, se observa un ligero incremento en el contenido de fósforo a los 36 meses. Se realizó una prueba complementaria a los 45 meses para estos dos lotes (los resultados fueron, respectivamente, de 17,6 $\mu\text{g/mL}$ y 20,1 $\mu\text{g/mL}$ para los lotes FA013213 y FA016478). Estos resultados coinciden con los valores obtenidos de T0 hasta los 24 meses, lo que confirma que los resultados obtenidos a los 36 meses no se deben a una evolución del contenido de fósforo en el PRP-T.

Dado que el contenido de polisacárido se obtiene mediante un cálculo que utiliza el contenido de fósforo, las mismas observaciones se aplican para este parámetro.

El contenido de polisacáridos libres es estable y los resultados se encuentran dentro de las especificaciones. Hasta el momento de medición de los 12 meses, este parámetro se determinó usando el método de separación por precipitación con cuantificación del fósforo. A partir del momento de medición de 18 meses, se aplicó el método de ultracentrifugación y cromatografía.

Los resultados para el contenido de proteína tetánica libre confirman la estabilidad de la conjugación con PRP-T. De hecho, todos los resultados permanecen por debajo del 1 %.

Pruebas de seguridad y esterilidad

No se observan reversiones de la proteína tetánica en los tres lotes a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C.

Los resultados para la prueba de esterilidad no cumplen con la Farmacopea Europea a los 6 y 9 meses para el lote FA016478 (se identificaron bacterias *Pseudomonas picketti*) y a los 36 meses para los lotes FA013213 y FA016478 (se identificó *Methylobacterium fujiisawaense*).

En el contexto de los resultados "fuera de especificación", se realizó una investigación con muestras archivadas de estos tres lotes. Las muestras tomadas durante la operación de muestreo de liberación de lotes fueron examinadas en cuanto a esterilidad (después del mismo tiempo de almacenamiento). No se informó crecimiento microbiológico.

Esta investigación demuestra que las fallas de esterilidad informadas para las muestras de estabilidad no reflejan la calidad de los lotes de PRP-T estudiados o que no se mantenga la esterilidad del PRP-T durante el almacenamiento, sino que se relaciona con una contaminación durante la toma de muestras.

No se observaron efectos de la falla de esterilidad en los otros parámetros principales de esterilidad a lo largo del período de almacenamiento estudiado. Sin embargo, para validar el mantenimiento de la esterilidad para el lote de PRP-T a lo largo de la vida útil en condiciones

reales, se realizó un estudio complementario de estabilidad (es decir, el estudio 4) (vea el capítulo 3.2.3).



3.2.2 Estudio 3: PRP-T elaborado con PRP reprocesada y con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP

Parámetros fisicoquímicos

Los resultados para los parámetros fisicoquímicos del granel concentrado de PRP-T (es decir, la medición del pH) permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se destaquen tendencias. El contenido de sacarosa permanece estable a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se observen tendencias.

Pruebas de caracterización

Los resultados para el contenido de fósforo, contenido de polisacáridos, proporción proteína/polisacáridos, HMWC y distribución por tamaño molecular permanecen estables y cumplen con las especificaciones a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C, sin que se destaquen tendencias. La identificación del tétanos y del *Haemophilus tipo b* es positiva a lo largo del período estudiado.

El contenido de polisacáridos libres es estable y los resultados se encuentran dentro de las especificaciones. Hasta el momento de medición de los 12 meses, este parámetro se determinó usando el método de separación por precipitación con cuantificación del fósforo. A partir del momento de medición de 18 meses, se aplicó el método de ultracentrifugación y cromatografía.

Los resultados para el contenido de proteína tetánica libre confirman la estabilidad de la conjugación con PRP-T. De hecho, todos los resultados permanecen por debajo del 1 %.

Pruebas de seguridad y esterilidad

No se observan reversiones de la proteína tetánica en los tres lotes a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C.

Los resultados de la prueba de esterilidad cumplen con la Farmacopea Europea a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C.

Con base en los resultados obtenidos, no se observaron diferencias en el comportamiento de la estabilidad a lo largo de 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C entre el PRP-T elaborado a partir de PRP reprocesado o no reprocesado.

3.2.3 Estudio 4: Estudio complementario de estabilidad realizado en el PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de 1200 L de PTP y PRP no reprocesado

El pH, el contenido de polisacáridos libres y la determinación del tamaño molecular del granel concentrado de PRP-T permanecen estables y cumplen con las especificaciones de liberación a lo largo del almacenamiento a $\delta -35$ °C. Se observó un resultado fuera de especificación, no confirmado en los siguientes momentos de medición, para el lote FA184847 a los 12 meses en la



determinación del tamaño molecular. Se llevó a cabo una investigación y se ha concluido que este resultado es atípico y que no tiene impacto sobre la calidad del producto.

La prueba de esterilidad cumple con las especificaciones a lo largo del estudio de estabilidad para los tres lotes analizados. Estos resultados confirman que las fallas de esterilidad informadas en el estudio inicial de largo plazo (estudio 2) no reflejan ningún problema de integridad del cierre del envase, sino que las muestras de estabilidad se contaminaron durante la toma de muestras.

3.2.4 Estudio 5: Estudio de estabilidad realizado con PRP-T elaborado con el tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L de PTP en condiciones aceleradas

Los resultados obtenidos en los diferentes lotes de PRP-T analizados en condiciones aceleradas muestran que:

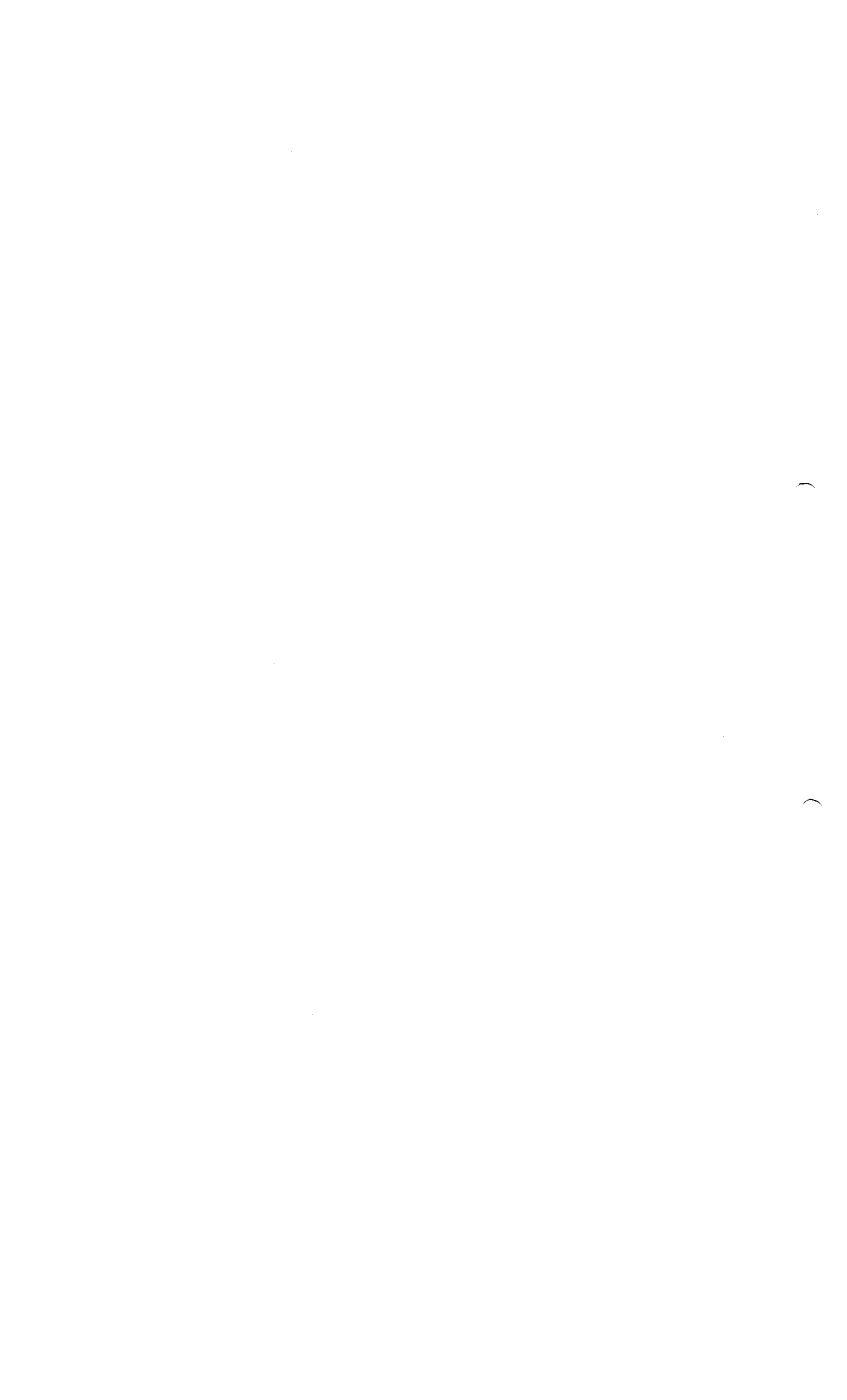
- Estudio a +22 °C

Tras 6 meses de almacenamiento a +22 °C ± 2 °C, el granel conjugado concentrado ya no cumple los requisitos de contenido de polisacáridos HMWC. Esto se correlaciona con la disminución del tamaño molecular estimado por cromatografía por filtración en gel HPLC (aumento de K_D).

Tras 2 años de almacenamiento a +22°C, el conjugado no presenta indicio alguno de reversión del toxoide tetánico a toxina tetánica.

- Estudio a +5°C

Tras 2 años de almacenamiento a +5°C ± 3°C, todos los lotes se encuentran dentro de las especificaciones; los lotes del estudio no presentan ninguna reversión de la toxicidad.





4 Conclusión

Los resultados obtenidos con el granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* b (PRP-T) elaborado con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de fermentación de 2400 L han demostrado que el PRP-T es estable durante 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C en matraces de polipropileno.


Los resultados obtenidos a partir de estudios previos de estabilidad con el granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* b (PRP-T) elaborado con o sin PRP reprocesado y PTP proveniente del tamaño de lote industrial de fermentación de 1200 L han demostrado que el PRP-T es estable durante 36 meses de almacenamiento a ≤ -35 °C en los matraces de polipropileno.


Los resultados de los estudios de estabilidad respaldan una vida útil de 36 meses a ≤ -35 °C para el granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* b (PRP-T).

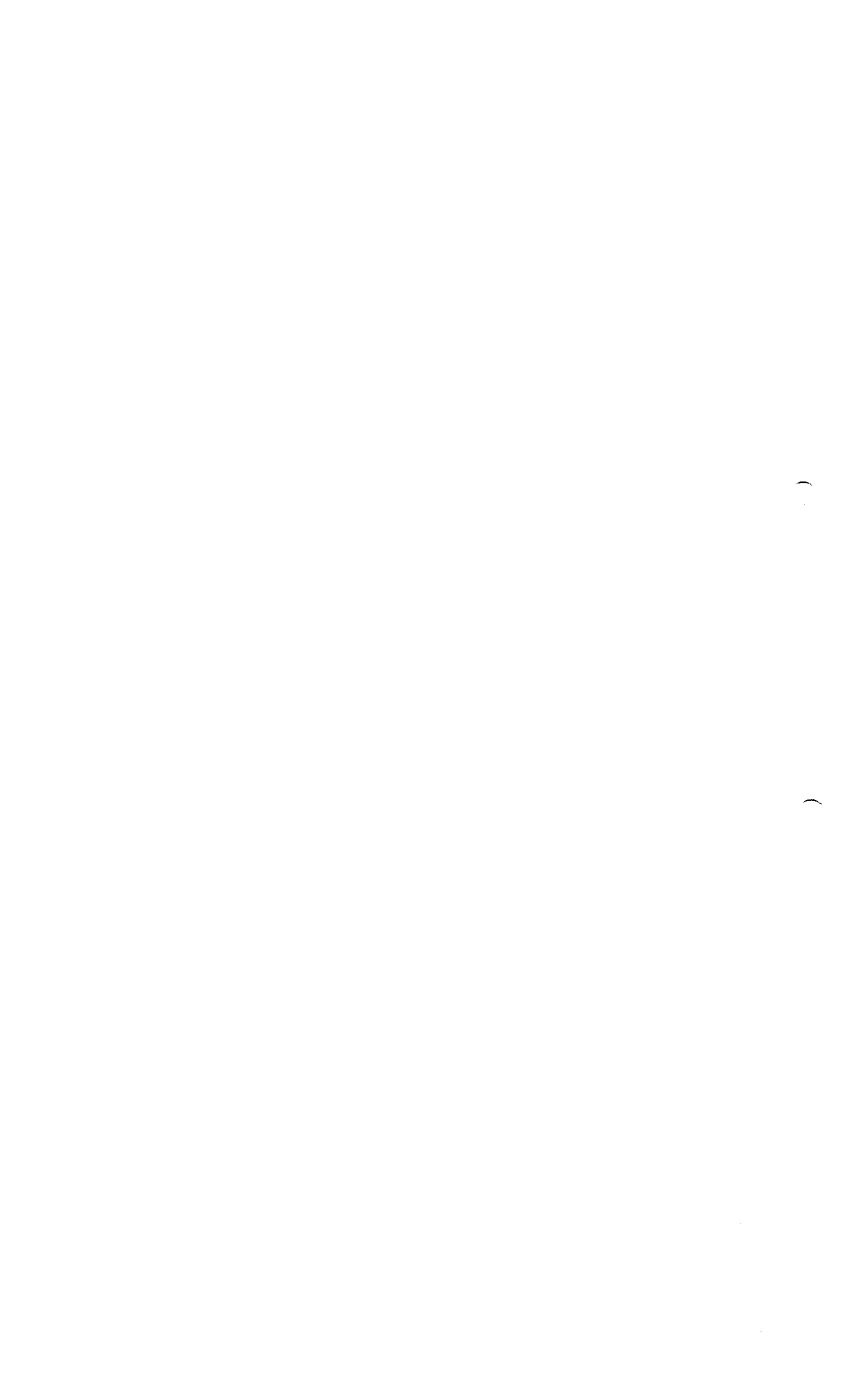


3.2.S.7.2

Protocolo de Estabilidad Posterior a la Aprobación y Compromiso de Estabilidad - PRP-T


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.7.2 - Protocolo de estabilidad posterior a la aprobación y compromiso de estabilidad

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

Los estudios de estabilidad realizados con el granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* b elaborado con PTP proveniente del tamaño de lote industrial de 1200 L y de 2400 L han sido finalizados.

Los resultados de los estudios de estabilidad que se describen en la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones acerca de la estabilidad y en la sección 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad confirman la vida útil del polisacárido conjugado de *Haemophilus* b. Por lo tanto, no se proponen otros estudios posteriores a la aprobación.

