

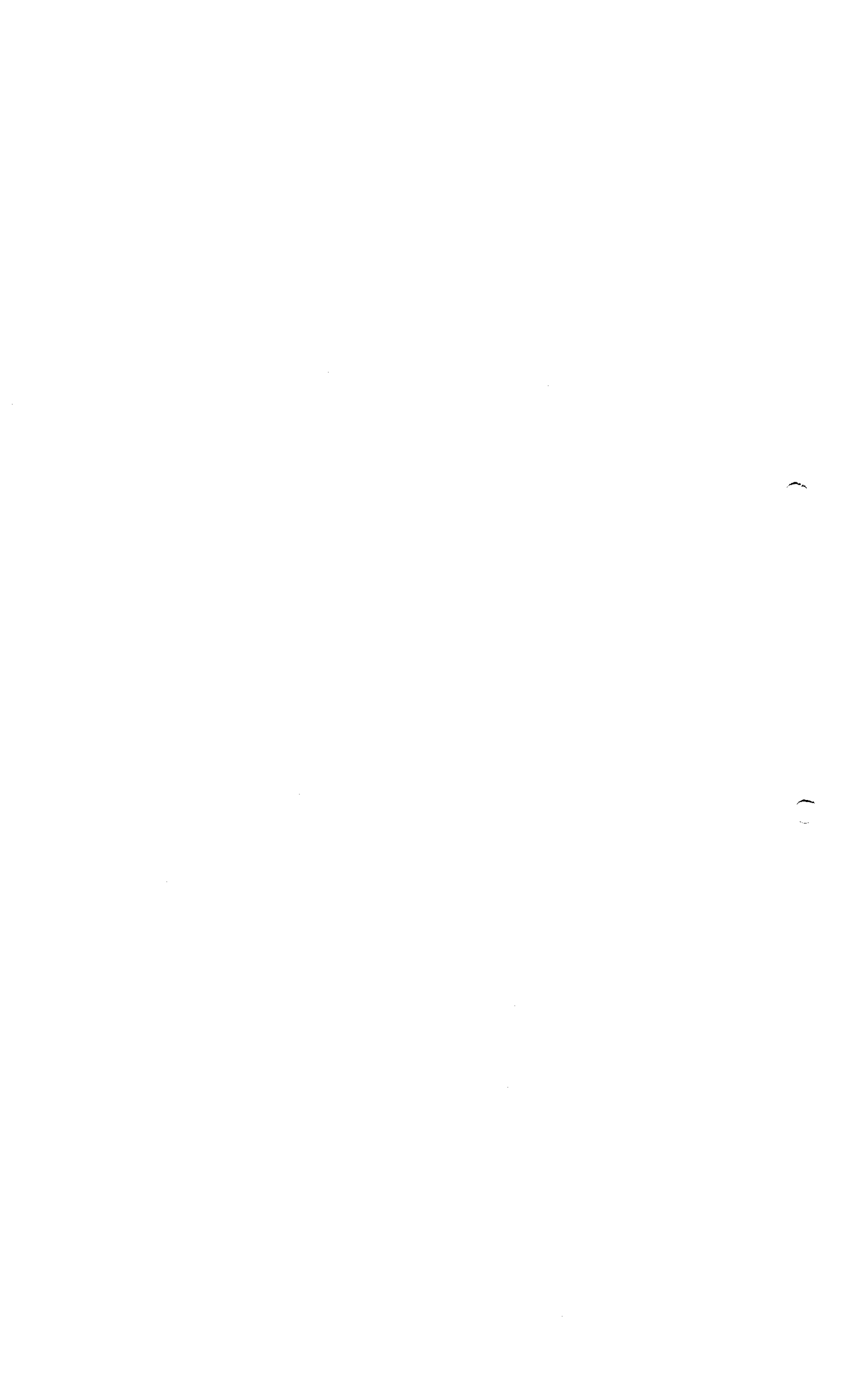


3.2.S.2.4

Control de los Pasos Críticos e Intermedios - Diftérico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

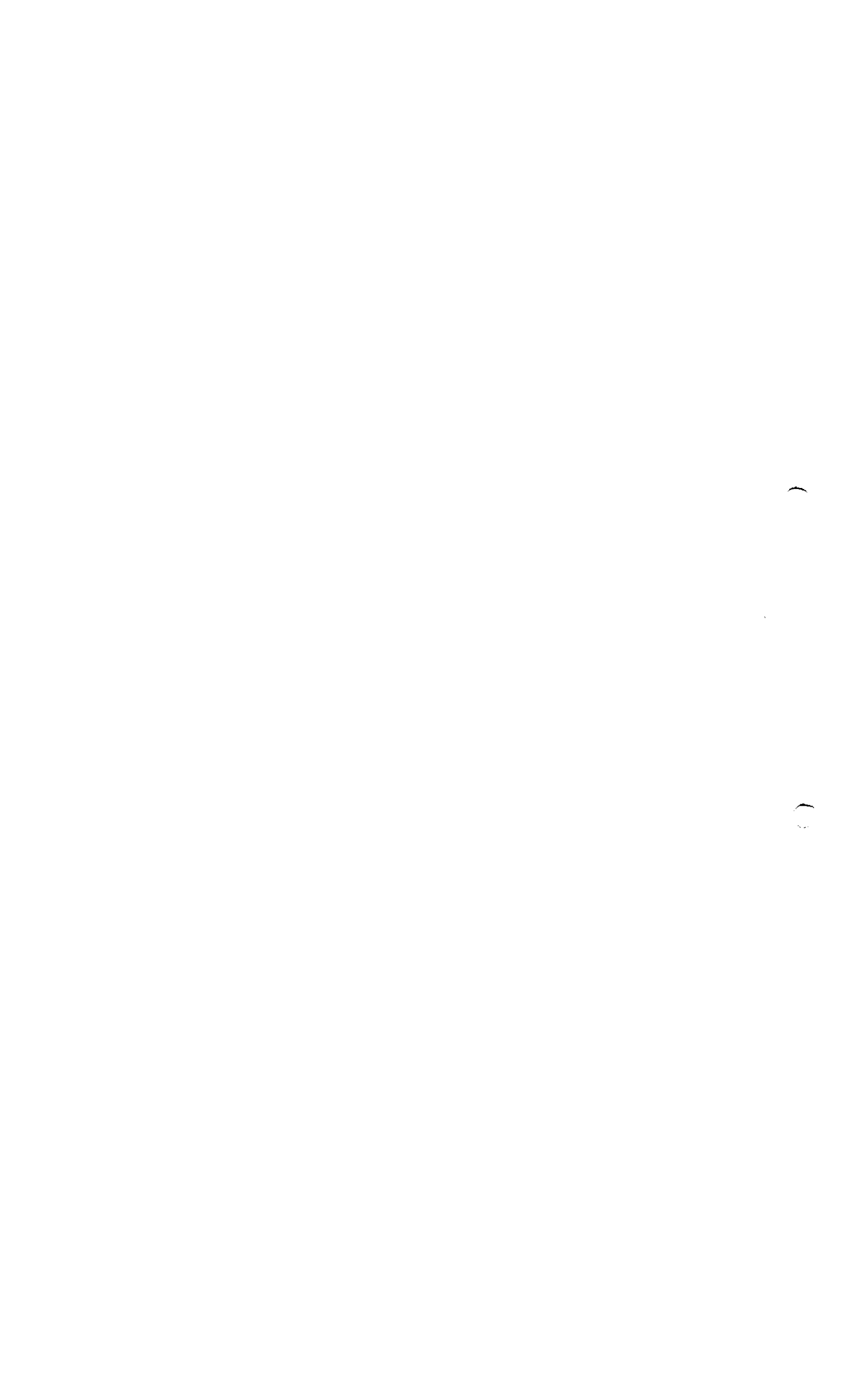




Sección 3.2.S.2.4 Control de pasos críticos e intermedios

Índice


1	Pasos críticos	3
2	Intermedios	4
2.1	Sistema de cierre del envase	4
2.2	Estabilidad.....	5
2.2.1	Resumen y conclusiones sobre la estabilidad.....	5
2.2.1.1	Protocolo del estudio.....	5
2.2.1.2	Diseño del estudio	5
2.2.1.3	Selección y especificaciones de las pruebas	6
2.2.1.4	Discusiones	6
2.2.1.5	Conclusión.....	6
2.2.2	Datos de estabilidad.....	6






Lista de tablas

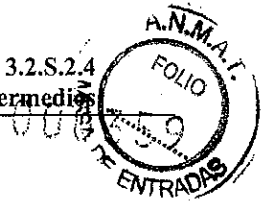
Tabla 1: Pasos críticos del proceso de elaboración del PDT.....4
Tabla 2: Descripción del sistema de cierre del envase para el toxoide diftérico crudo.....4
Tabla 3: Panorama del estudio de estabilidad del CDT5
Tabla 4: Información general del producto de los lotes de CDT5
Tabla 5: Resultados de estabilidad para el Lote CD1102 del toxoide diftérico crudo.....7
Tabla 6: Resultados de estabilidad para el Lote CD 1103 del toxoide diftérico crudo.....8
Tabla 7: Resultados de estabilidad para el Lote CD 1106 del toxoide diftérico crudo.....9


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

)

)



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

1 Pasos críticos

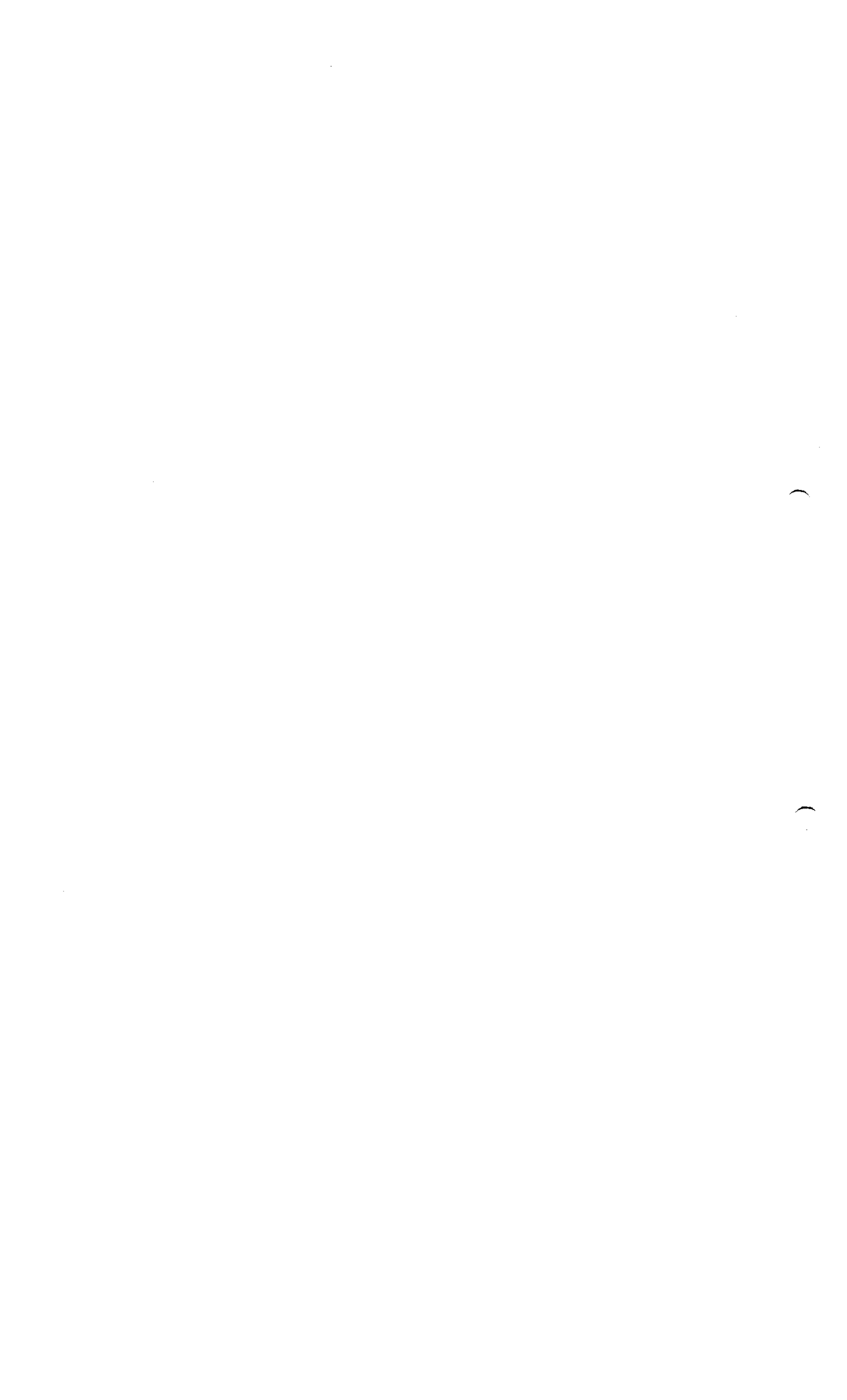
En las siguientes secciones se describe en detalle el proceso de elaboración del principio activo:
3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación que incluyen los siguientes pasos:

- Fermentación, incluidos los precultivos y los cultivos industriales;
- Cosecha de la toxina diftérica por centrifugación y ultrafiltración para obtener la toxina concentrada;
- Detoxificación, incluyendo dos tratamientos químicos en los que se usa formaldehído para obtener el toxoide diftérico crudo (CDT);
- Purificación del CDT incluyendo una precipitación doble con sulfato de amonio, para obtener el toxoide diftérico purificado (PDT).

Estos pasos son impulsados por parámetros de producción y por controles durante el proceso (detallados en 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y en 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación).

Las especificaciones y los métodos de análisis para el principio activo (PDT) se describen en 3.2.S.4.1 Especificaciones y en 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos.

Con base en los resultados de validación que demuestran que el proceso de elaboración es reproducible y está controlado (consultar 3.2.S.2.5 Validación y/o evaluación del proceso), los pasos presentados en la Tabla 1 se consideran críticos para el proceso de elaboración del PDT.



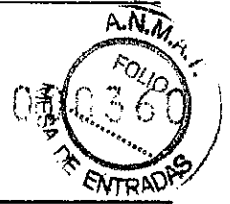


Tabla 1: Pasos críticos del proceso de elaboración del PDT

Pasos críticos	Control de criticidad	Objetivo del paso
Adición de formaldehído (paso 6)	Este paso de detoxificación se controla mediante: - Monitoreo de los parámetros de producción y - Controles durante el proceso	Detoxificar la toxina concentrada para obtener el toxoide diftérico crudo
Almacenamiento del CDT (final del paso 7)	- Monitoreo del tiempo y la temperatura durante el almacenamiento - Estudio de estabilidad (ver esta sección)	Almacenar el CDT en condiciones adecuadas para evitar su degradación
Almacenamiento del PDT (final del paso 14)	- Monitoreo del tiempo y la temperatura durante el almacenamiento - Estudio de estabilidad (ver 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones sobre la estabilidad)	Almacenar el PDT en condiciones adecuadas para evitar su degradación

Durante las distintas etapas del proceso de elaboración, el control de los parámetros de producción, el control de los controles durante el proceso y los controles de liberación realizados sobre el principio activo permiten mantener bajo control estos pasos críticos.

2 Intermedios

El único intermedio para la producción del toxoide diftérico purificado (PDT) es el toxoide diftérico crudo (CDT).

Este intermedio no se libera, sino que se controla mediante controles durante el proceso (consultar la tabla 1 de la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación).

El CDT se puede almacenar durante 16 semanas a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (consulte el capítulo 2.2 para conocer datos de respaldo de la estabilidad).

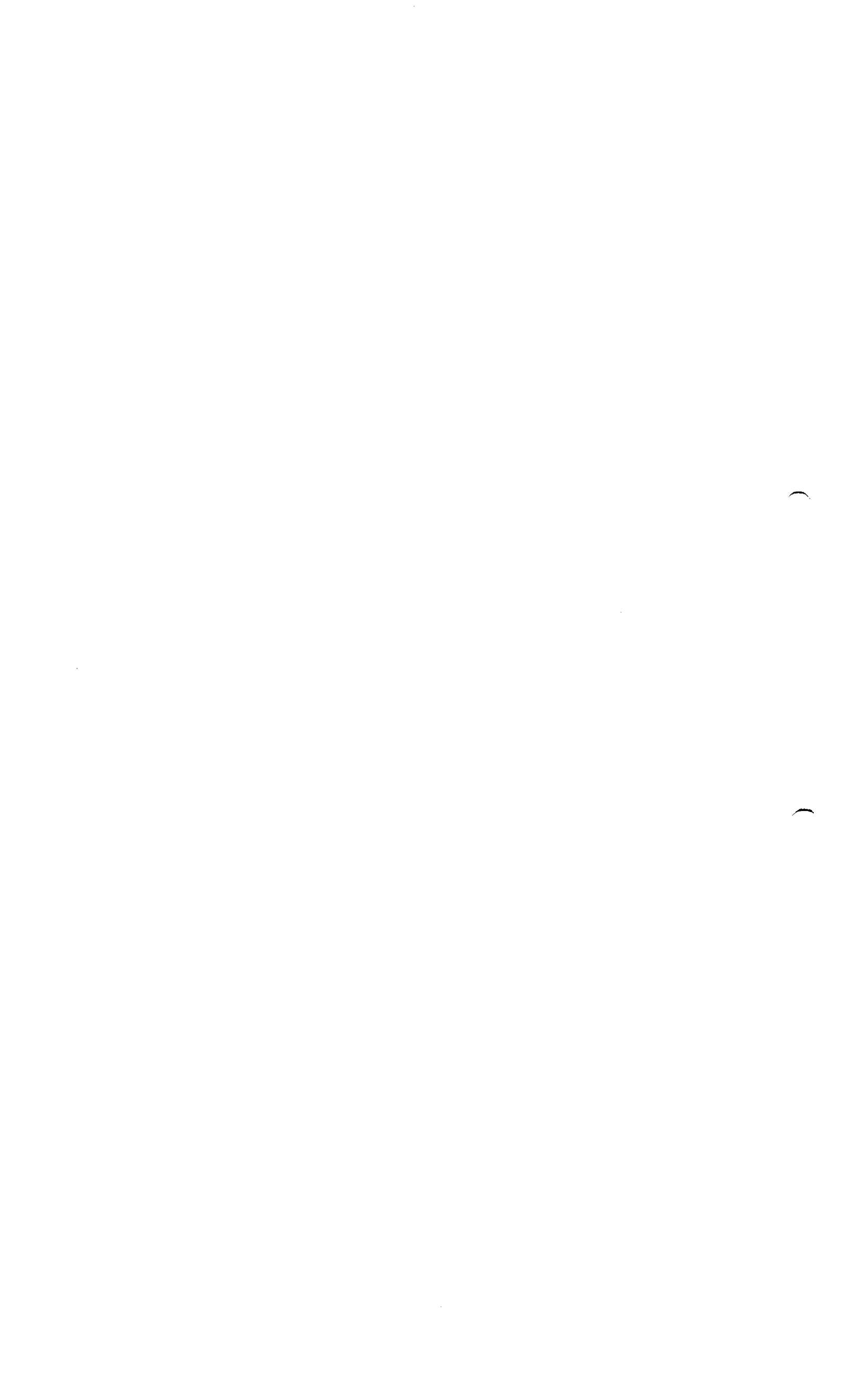
2.1 Sistema de cierre del envase

El CDT se conserva en tanques de acero inoxidable.

En la Tabla 2 se describe el envase utilizado para almacenar el CDT.

Tabla 2: Descripción del sistema de cierre del envase para el toxoide diftérico crudo

Envase	Cierre
Tanque de acero inoxidable	Cubiertas de acero inoxidable





2.2 Estabilidad

2.2.1 Resumen y conclusiones sobre la estabilidad

2.2.1.1 Protocolo del estudio

El estudio de estabilidad del intermedio de CDT elaborado se resume en la Tabla 3.

Para el CDT se define una vida útil de 4 meses, ya que se necesita este tiempo de conservación para la producción de los lotes de CDT utilizados para la elaboración de un lote de PDT. Por lo tanto, el CDT se considera un paso de almacenamiento transitorio.

Tabla 3: Panorama del estudio de estabilidad del CDT

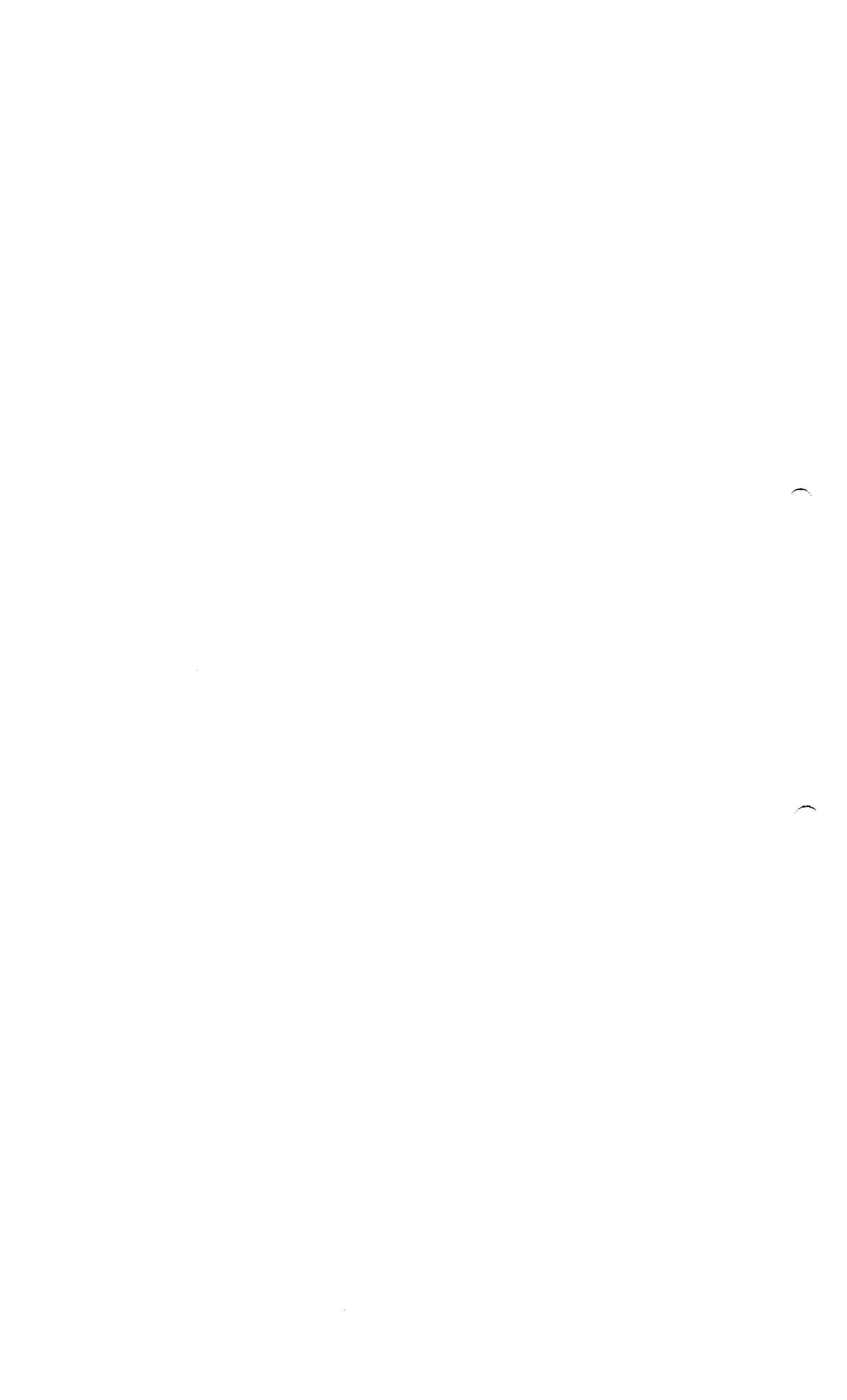
	Toxoide diftérico crudo
Objetivo	Respaldar la vida útil del CDT a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
Pruebas	Contenido de nitrógeno proteico (mg/mL) Contenido de formaldehído libre ($\mu\text{g/mL}$) Título de floculación (Lf/mL) Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica Pureza antigénica (Lf/mg) Irreversibilidad del toxoide
Diseño del estudio	Número de lotes: 3 Estudio realizado a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ Calendario (meses): T0, T1, T2, T3, T4 y T6
Estado	Completado

2.2.1.2 Diseño del estudio

Se evaluó la estabilidad de tres lotes de CDT analizando el producto conservado a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante un período de 6 meses. Las características de los lotes se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Información general del producto de los lotes de CDT

Número de lote	CD 1102	CD 1103	CD 1106
	02 dic 1998	04 dic 1998	16 dic 1998
Tamaño del lote (litros)	353	575	532
Envase	Tanque de acero inoxidable para imitar las condiciones normales de almacenamiento.		
Vida útil	16 semanas (4 meses) a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$		





2.2.1.3 Selección y especificaciones de las pruebas

Las pruebas aplicadas como controles durante el proceso para verificar la conformidad del CTT a lo largo de su elaboración son el contenido de nitrógeno proteico, contenido de formaldehído residual y título de floculación. Estas pruebas fueron seleccionadas para el estudio de estabilidad. También se agregaron las siguientes pruebas de seguridad (aplicadas para los controles de liberación del PDT): irreversibilidad del toxoide diftérico, pureza antigénica y esterilidad bacteriana y fúngica (para verificar la conservación de la esterilidad).

El procedimiento de prueba y los criterios de aceptación para el contenido de nitrógeno proteico, el contenido de formaldehído residual, la pureza antigénica, la irreversibilidad del toxoide diftérico, la esterilidad bacteriana y fúngica y el título de floculación corresponden a los aplicados para los controles durante el proceso (consulte 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación y 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos).

2.2.1.4 Discusiones

- La estabilidad del título de floculación demuestra que el toxoide diftérico crudo no se degrada con el tiempo.
- Los cambios en los niveles de nitrógeno proteico (Np) confirman los resultados anteriores. No hay degradación con el tiempo.
- La disminución de los niveles de formaldehído muestra la unión continua del formaldehído a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- Las pruebas de esterilidad están dentro de las especificaciones, lo que muestra la esterilidad de las condiciones de operación para el muestreo y el almacenamiento. Por lo tanto, las otras pruebas no se ven afectadas por una posible contaminación.
- La prueba de no reversión confirma que el toxoide crudo no se revierte durante un período de almacenamiento intermedio de hasta 6 meses antes de la purificación.

2.2.1.5 Conclusión

Este estudio demuestra la ausencia de degradación del CDT después de 6 meses de almacenamiento a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Las características iniciales del CDT (título, pureza e irreversibilidad) permanecen sin alteraciones durante el almacenamiento. Por lo tanto, una vida útil de 4 meses a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ se considera aceptable.

2.2.2 Datos de estabilidad

Los resultados obtenidos para los 3 lotes se presentan en la Tabla 5, la Tabla 6, y la Tabla 7.

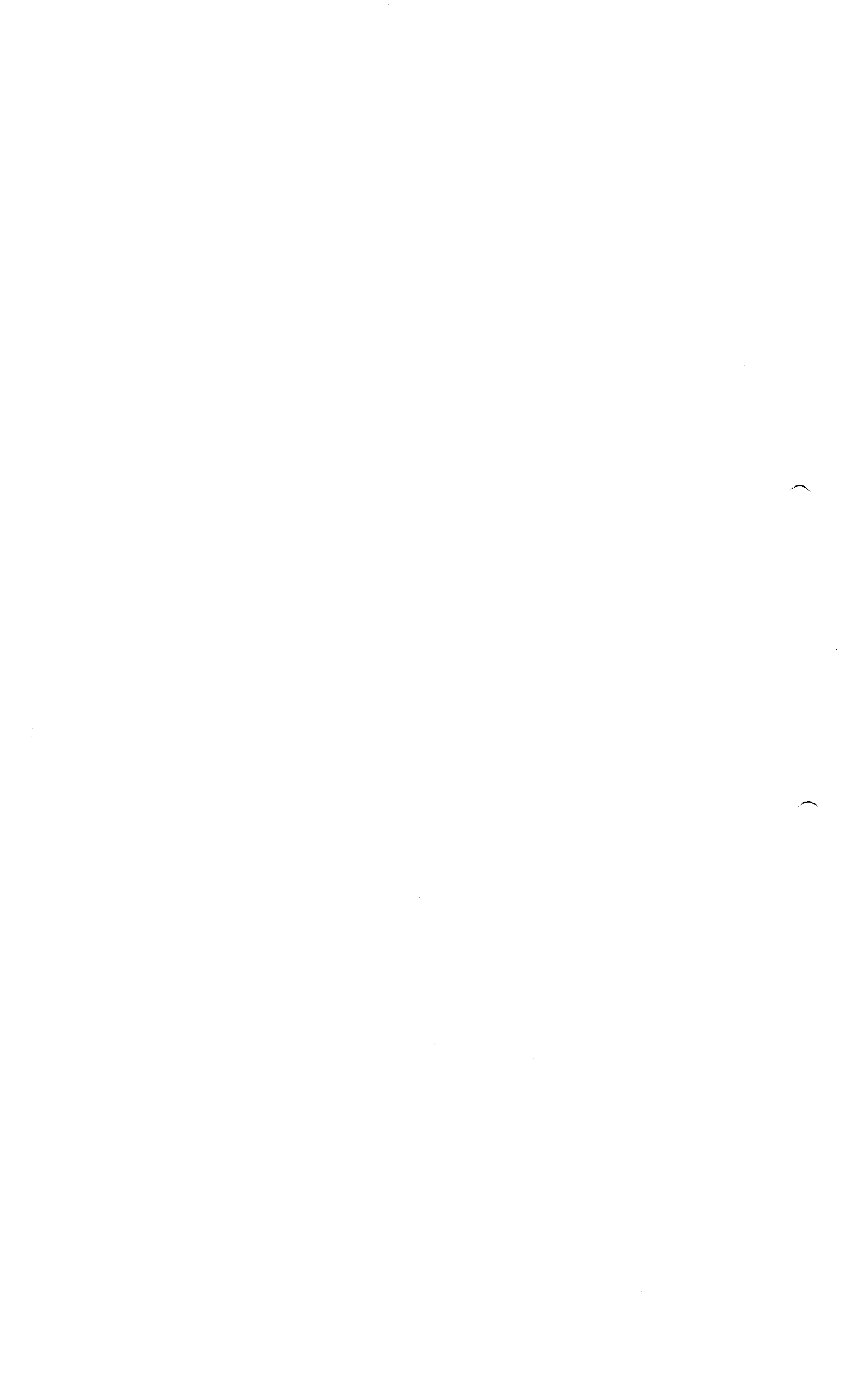


Tabla 5: Resultados de estabilidad para el Lote CD1102 del toxóide diftérico crudo

Pruebas	Criterios de aceptación	T0	T0 + 1 mes	T0 + 2 meses	T0 + 3 meses	T0 + 4 meses	T0 + 6 meses
Título de floculación (Lf/mL)	Para información, exclusivamente	550	550	550	550	550	550
Contenido de nitrógeno proteínico (g/L)	Para información, exclusivamente	1,02	1,10	0,82	0,82	0,90	1,01
Pureza antigénica (Lf/mg de nitrógeno proteico)	Para información, exclusivamente	539	500	670	670	611	544
Contenido de formaldehído libre (µg/mL)	Para información, exclusivamente	593,9	554	589,5	540	479	464
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	NMG*	NR†	NR	NMG	NR	NMG
Irreversibilidad del Toxóide Diftérico	No se presentaron síntomas de difteria (NDS)	NDS	NR	NR	NDS	NDS	NDS

* No se observa crecimiento microbiano

† No realizada

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Tabla 6: Resultados de estabilidad para el Lote CD 1103 del toxoide diftérico crudo

Pruebas	Criterios de aceptación	T0	T0 + 1 mes	T0 + 2 meses	T0 + 3 meses	T0 + 4 meses	T0 + 6 meses
Título de floculación (Lf/mL)	Para información, exclusivamente	500	500	500	500	500	500
Contenido de nitrógeno proteínico (g/L)	Para información, exclusivamente	0,34	0,37	0,29	0,31	0,37	0,42
Pureza antigénica (Lf/mg de nitrógeno proteico)	Para información, exclusivamente	1470	1351	1724	1612	1351	1190
Contenido de formaldehído libre (µg/mL)	Para información, exclusivamente	456,9	415,2	471,3	400	364	355
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	NMG*	NR†	NR	NMG	NR	NMG
Irreversibilidad del Toxoiide Diftérico	No se presentaron síntomas de difteria (NDS)	NDS	NR	NR	NDS	NDS	NDS

* No se observa crecimiento microbiano
† No realizada

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

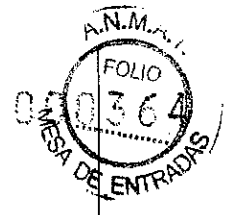


Tabla 7: Resultados de estabilidad para el Lote CD 1106 del toxoide diftérico crudo

Pruebas	Criterios de aceptación	T0	T0 + 1 mes	T0 + 2 meses	T0 + 3 meses	T0 + 4 meses	T0 + 6 meses
Título de flocculación (L.f/mL)	Para información, exclusivamente	600	600	600	600	600	600
Contenido de nitrógeno proteínico (g/L)	Para información, exclusivamente	0,44	0,48	0,38	0,41	0,44	0,48
Pureza antigénica (L.f/mg de nitrógeno proteico)	Para información, exclusivamente	1363	1250	1578	1463	1363	1250
Contenido de formaldehído libre (µg/mL)	Para información, exclusivamente	710,7	683,8	773,7	610	667	645
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	NMG*	NR†	NR	NMG	NR	NMG
Irreversibilidad del Toxoides Diftérico	No se presentaron síntomas de difteria (NDS)	NDS	NR	NR	NDS	NDS	NDS

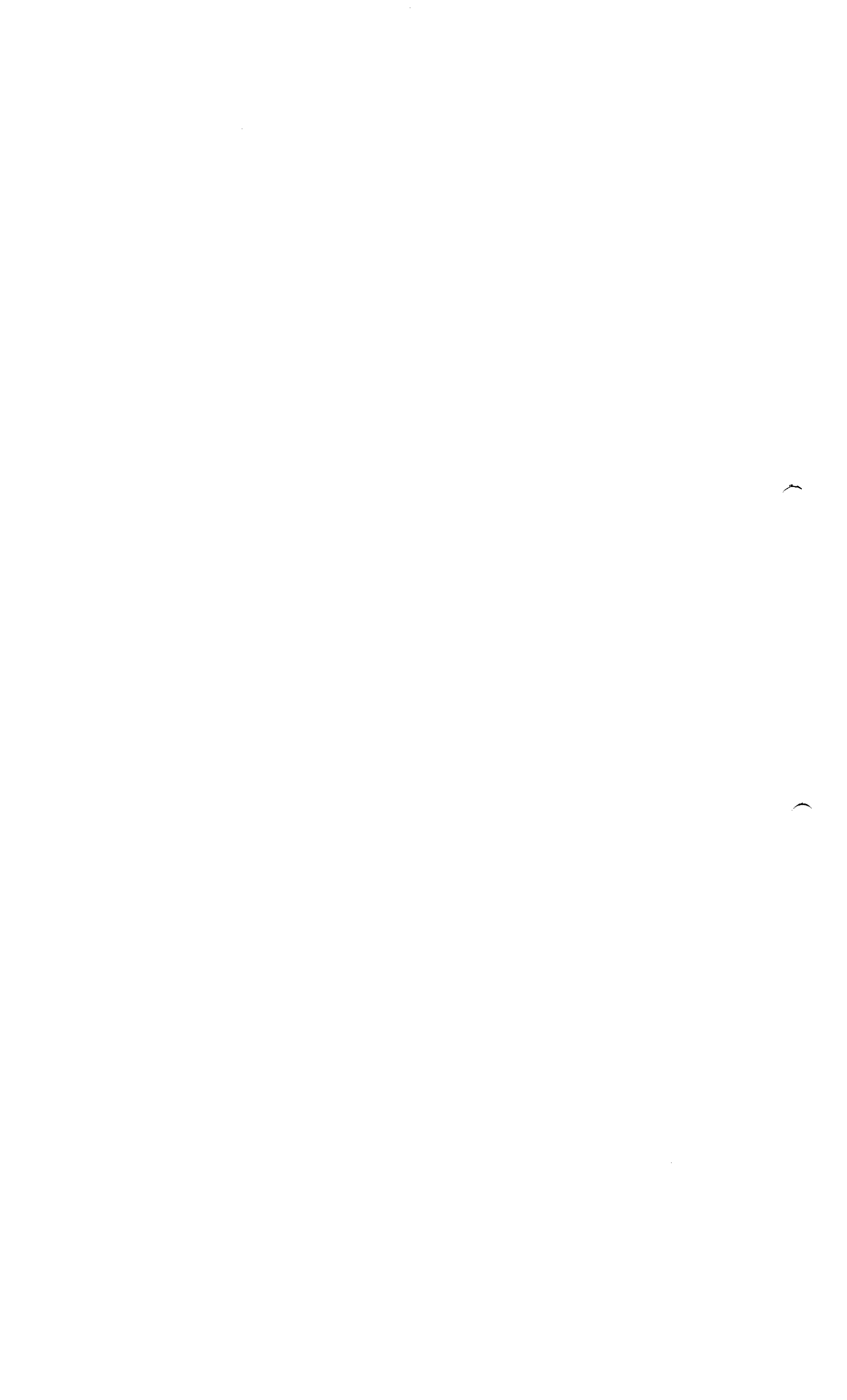
* No se observa crecimiento microbiano

† No realizada

ROXANA MONTEILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



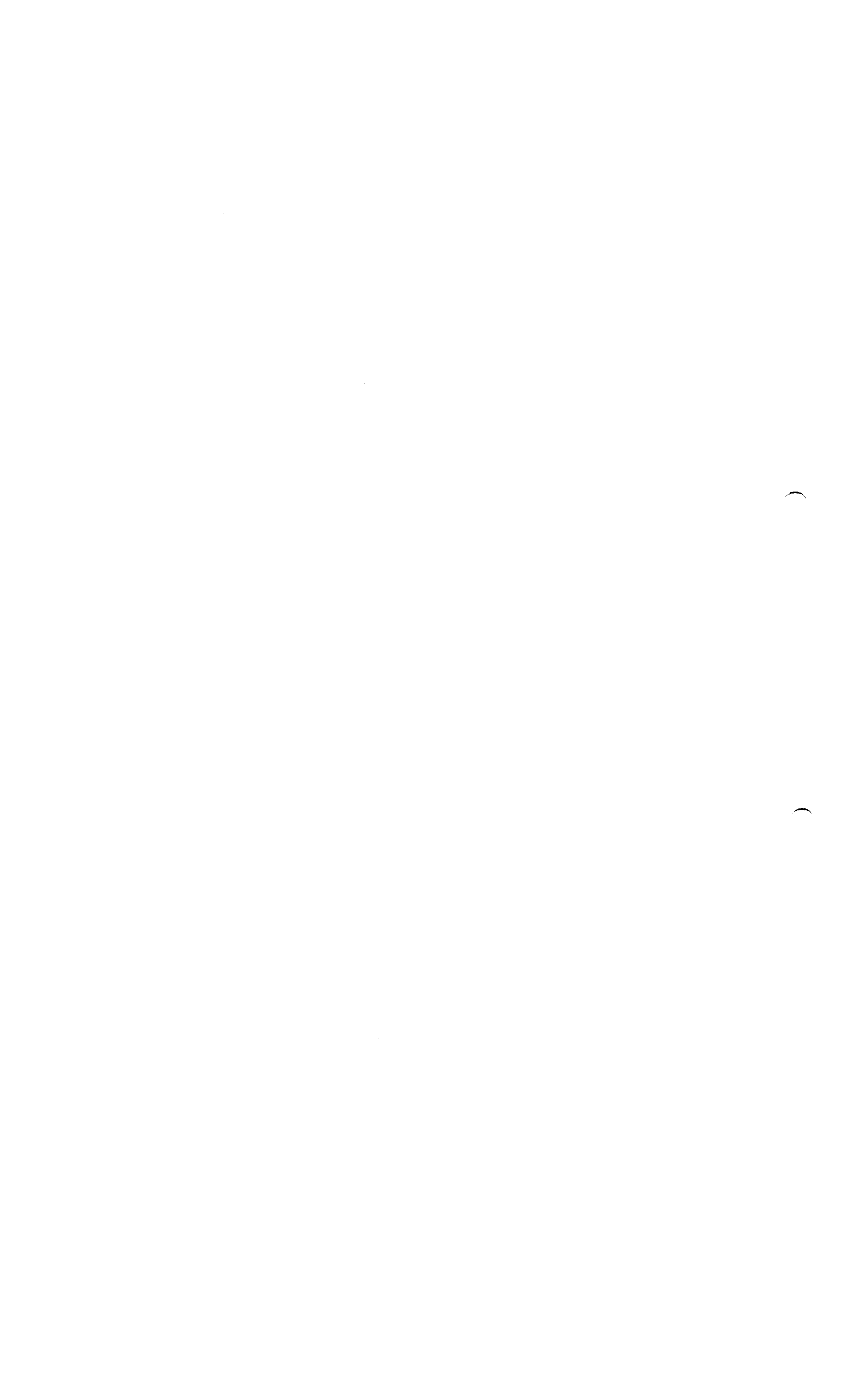


3.2.S.2.2

Definición de Lote(s) y de la Escala - Tetánico


ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



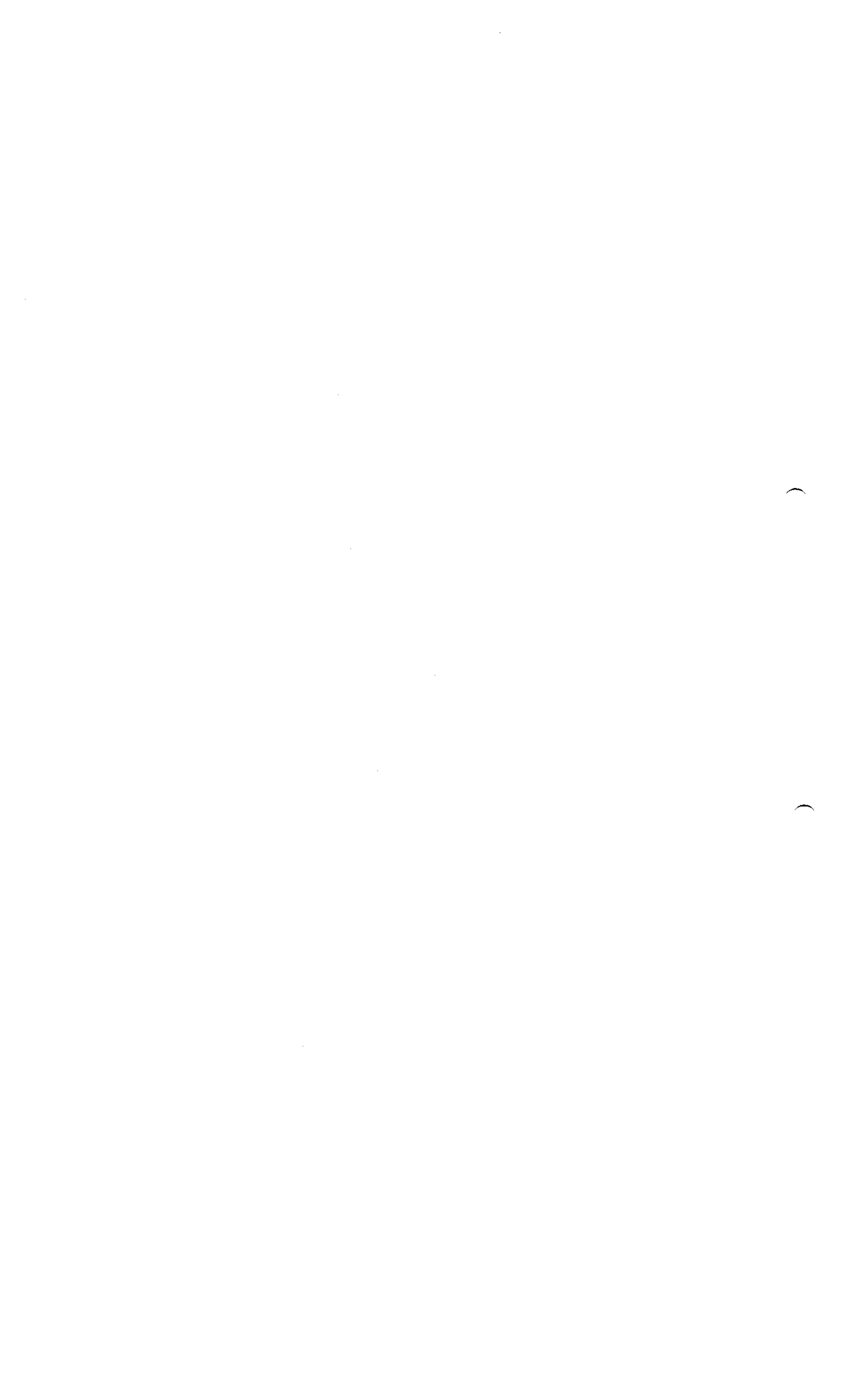


Sección 3.2.S.2.2 Descripción del proceso de elaboración y los controles del proceso

Definición de lote(s) y de la escala

Índice

Lista de figuras	2
1 Panorama del proceso de elaboración	3
2 Definición del tamaño del lote	5
3 Sistema de numeración de los lotes.....	5

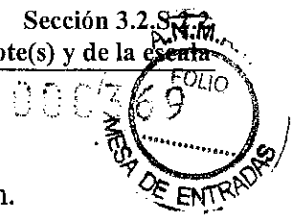




Lista de figuras

Figura 1: Panorama general del proceso de elaboración del toxoide tetánico purificado4
Figura 2: Ejemplo de la numeración de los lotes6





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

1 Panorama del proceso de elaboración

El principio activo es el toxoide tetánico purificado (PTT), una proteína detoxificada obtenida a partir de *Clostridium tetani* de la cepa Harvard 49205.

La fermentación del *Clostridium tetani* produce una toxina que se cosecha y luego se detoxifica con formaldehído. El toxoide tetánico crudo (CTT) resultante se detoxifica además mediante una precipitación selectiva con sulfato de amonio que produce el PTT.

En la figura 1 se presenta un panorama del proceso de elaboración del PTT.

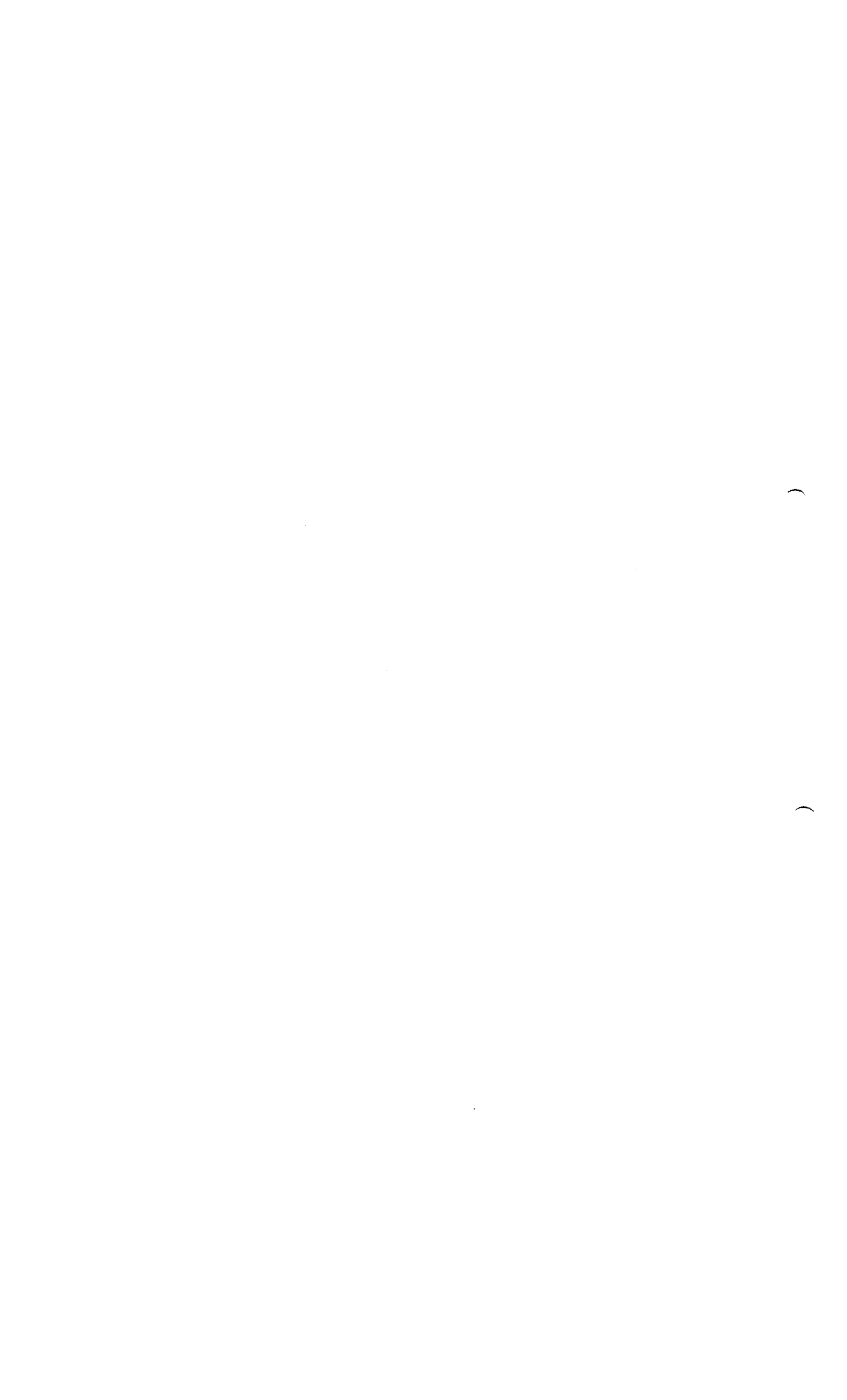
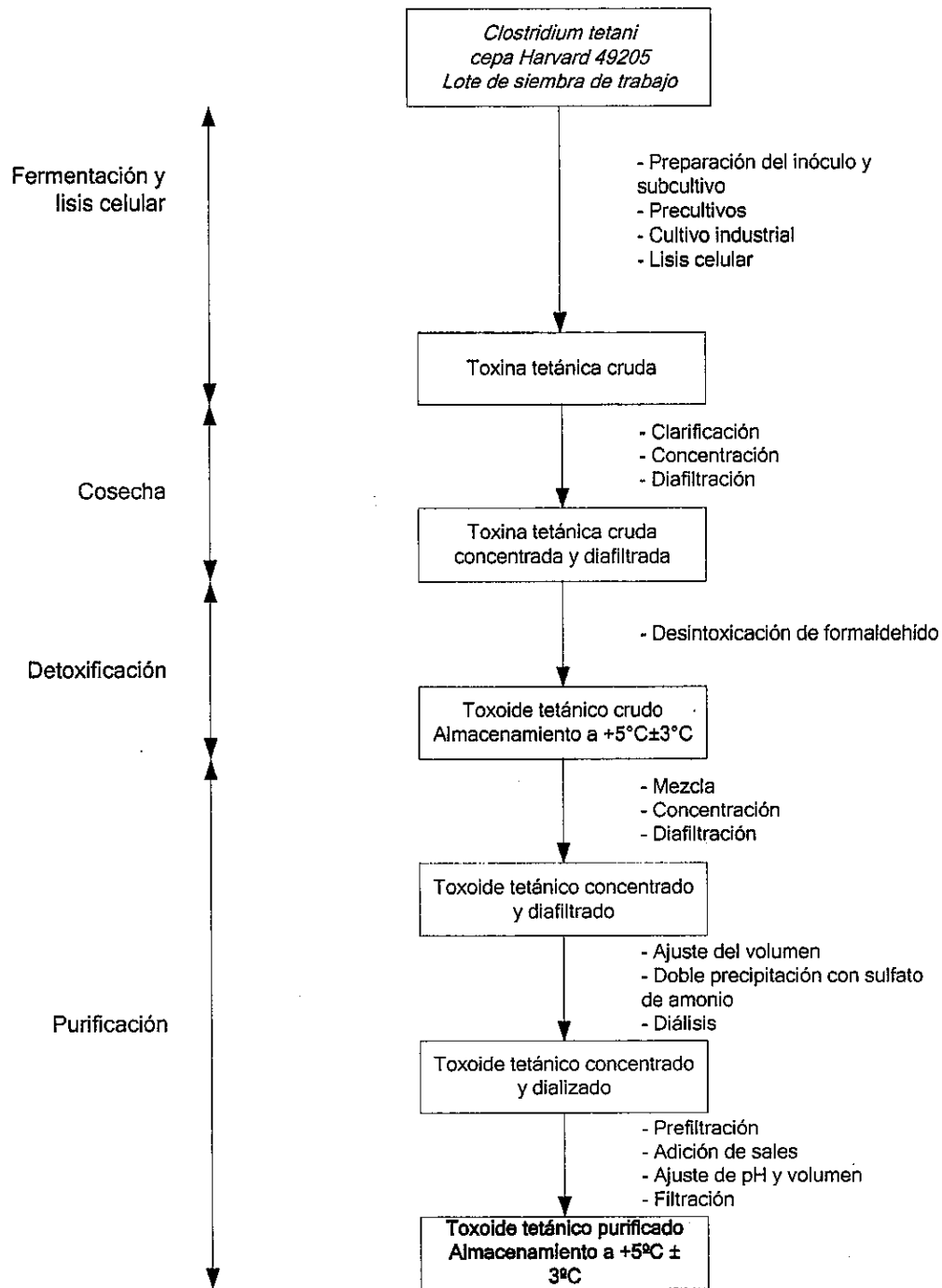
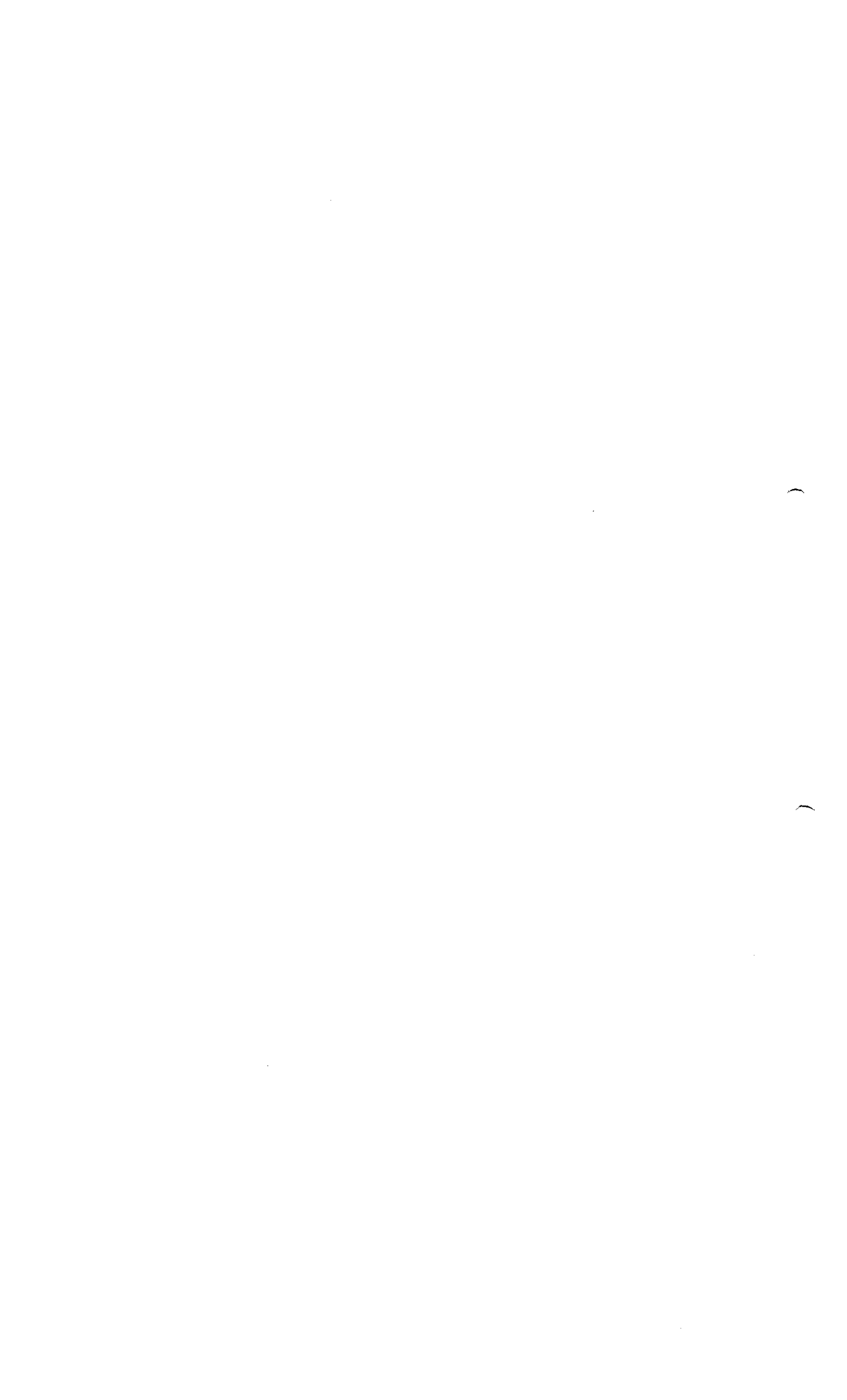




Figura 1: Panorama general del proceso de elaboración del toxoide tetánico purificado







2 Definición del tamaño del lote

El tamaño del lote de toxoide tetánico crudo se define según el volumen del cultivo industrial de *Clostridium tetani*. El tamaño del lote de fermentación industrial de *Clostridium tetani* es de aproximadamente 2400 Litros.

Un lote de CTT (toxoides tetánicos crudos) se deriva de un cultivo. Se pueden agrupar diferentes lotes de CTT (de 3 a 5 lotes) antes de que se procesen los pasos de purificación. El resultante de la purificación constituye 1 lote de PTT (toxoides tetánicos purificados). El tamaño del lote de PTT habitual varía de 40 a 130 L y depende del número de lotes de CTT que se hayan agrupado antes de la purificación.

3 Sistema de numeración de los lotes

El número de lote es una secuencia de caracteres única y no descriptiva asignada por un sistema computarizado a cada lote de siembra de trabajo, de intermedio y de principio activo.

En la figura 2 se presenta un ejemplo de la numeración de los lotes.

