



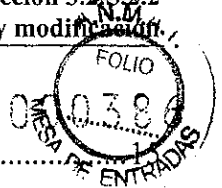
Sección 3.2.S.2.2 Descripción del proceso de elaboración y del control del proceso

Reacciones de purificación y modificación

Índice

Lista de tablas	3
Lista de figuras	4
1 Tratamiento y detoxificación de la toxina tetánica concentrada y diafiltrada	5
1.1 Panorama.....	5
1.2 Tratamiento (etapa 8).....	6
1.3 Detoxificación de la toxina tetánica (etapa 9).....	6
2 Purificación del toxoide tetánico	7
2.1 Panorama.....	7
2.2 Mezcla, concentración y diafiltración (etapas 10, 11 y 12).....	9
2.3 Ajuste del volumen (Etapa 13)	10
2.4 Precipitación (Etapas 14 y 15).....	10
2.5 Diálisis (etapa 16)	10
2.6 Prefiltración, adición de sales, ajuste de pH y volumen y filtración (etapa 17)	10
3 Condiciones de llenado y almacenamiento.....	12
4 Controles durante el proceso.....	13
4.1 Panorama de los controles durante el proceso	13
4.1.1 Detoxificación de la toxina tetánica	13
4.1.2 Purificación del toxoide tetánico	14
5 Composición de los tampones y otros aditivos empleados durante la purificación	15

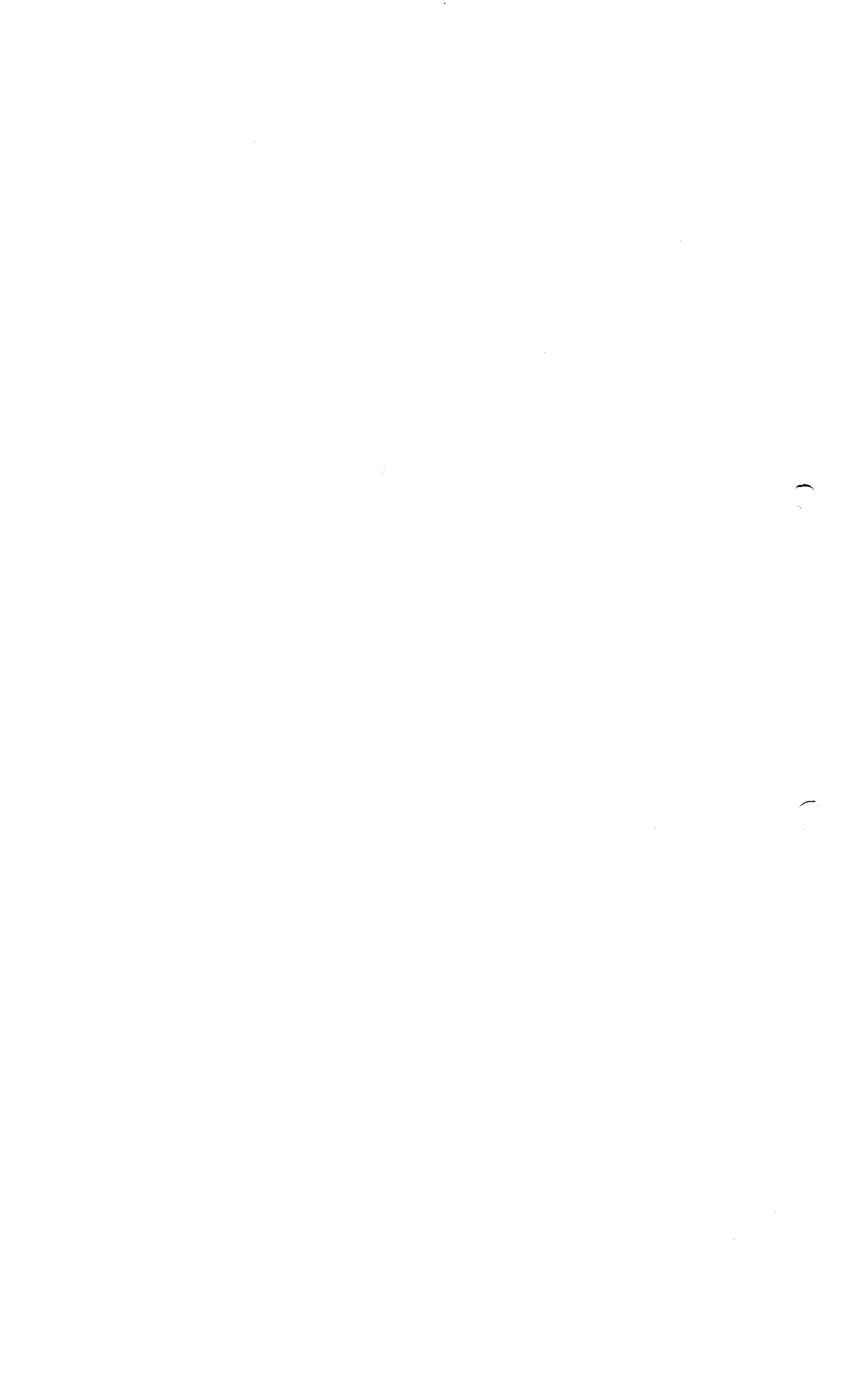


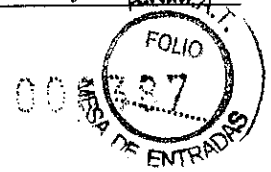


5.1	Agua fisiológica tamponada	
5.2	Solución de sales.....	15
5.3	Fosfato disódico	16
5.4	Otros.....	16


DARIANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

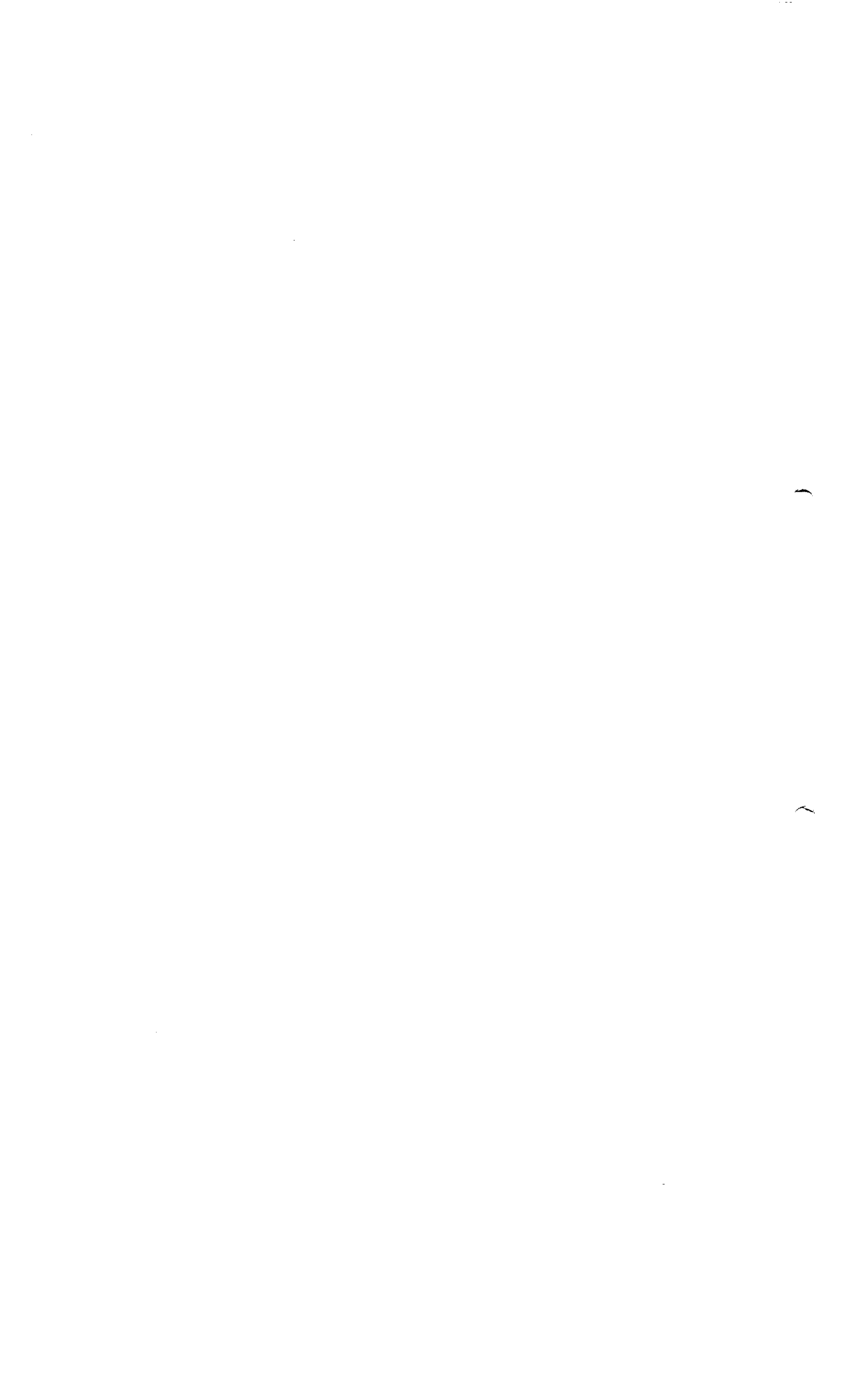

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Lista de tablas


- Tabla 1: Controles durante el proceso aplicados en la detoxificación de la toxina tetánica13
- Tabla 2: Controles durante el proceso aplicados en la detoxificación de la toxina tetánica14




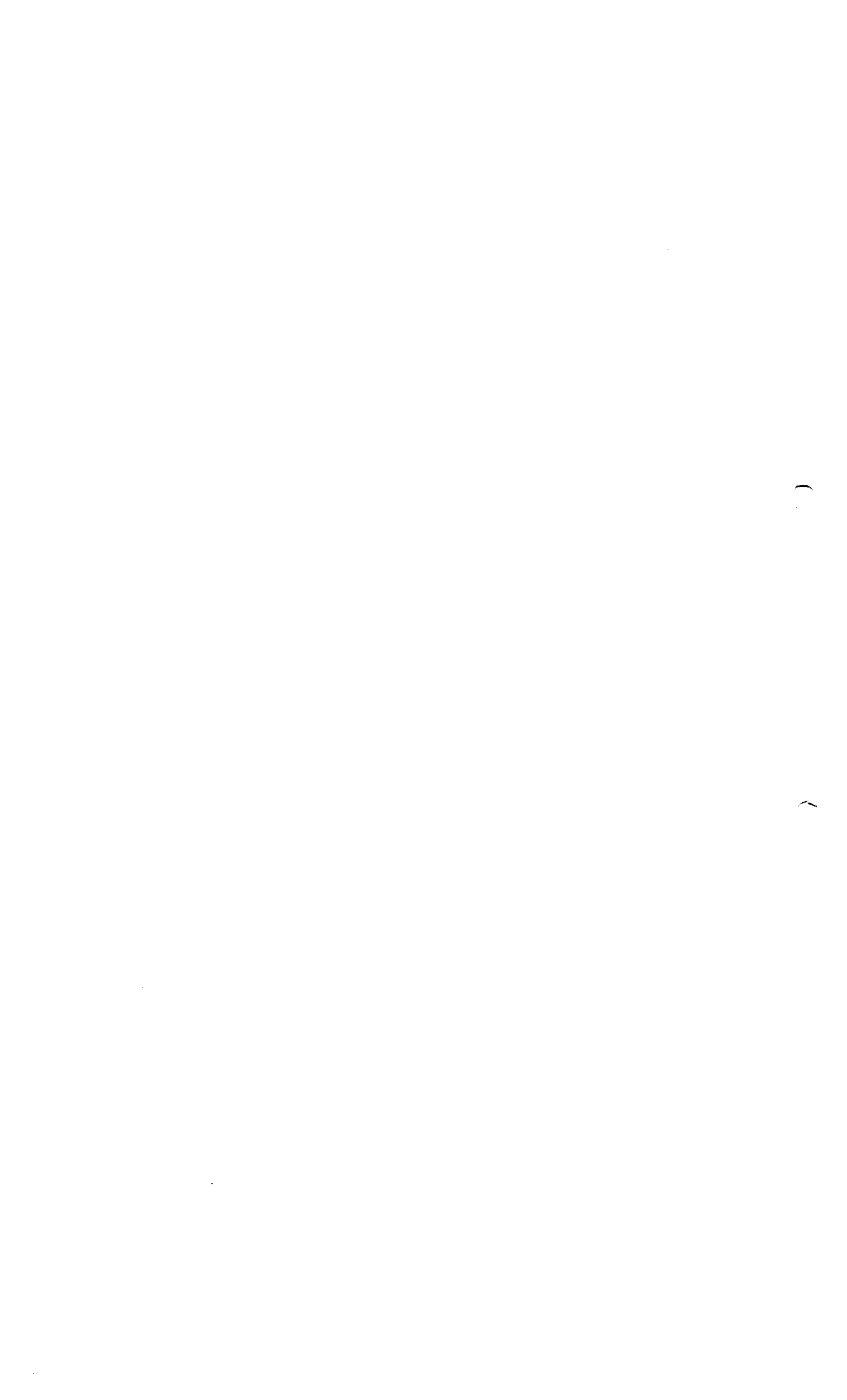


Lista de figuras

Figura 1: Preparación del toxoide tetánico crudo 5
Figura 2: Preparación del toxoide tetánico purificado 8


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





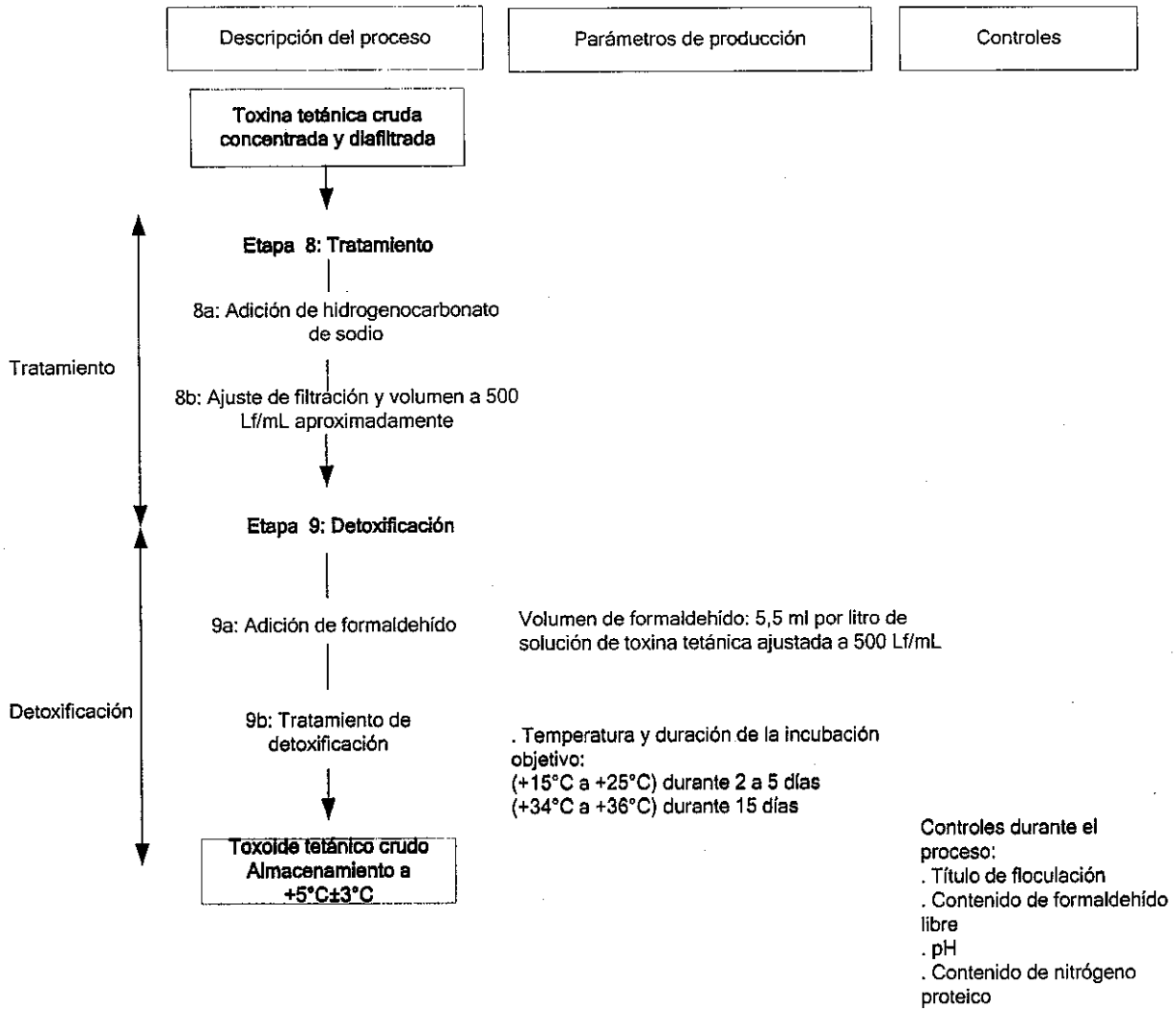
Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

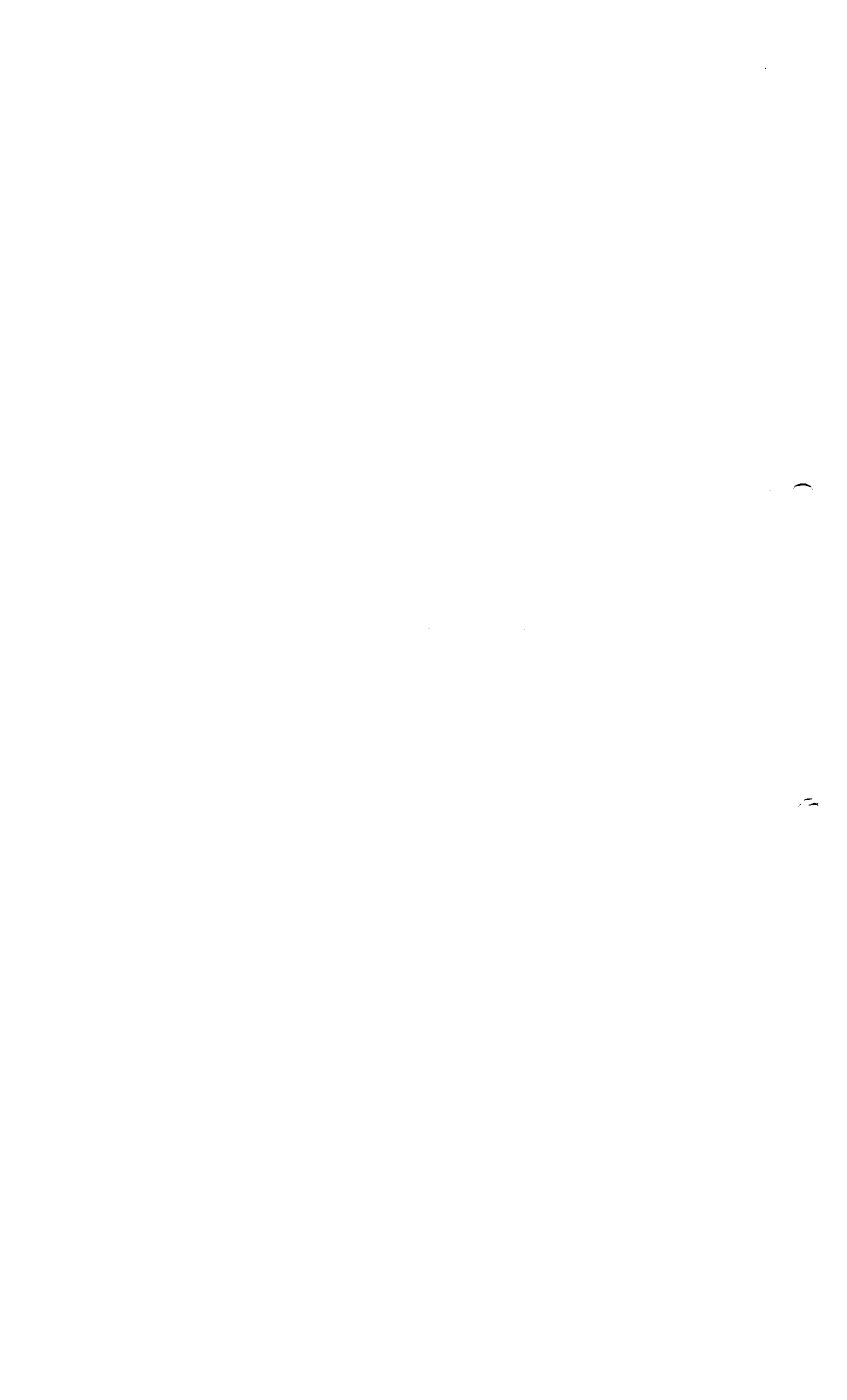
1 Tratamiento y detoxificación de la toxina tetánica concentrada y diafiltrada

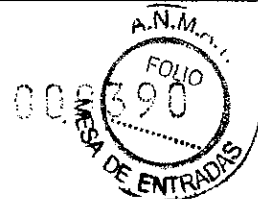
1.1 Panorama

El esquema del proceso para la detoxificación de la toxina tetánica concentrada y diafiltrada (fin de la etapa 7.c) se proporciona en la figura 1 que aparece a continuación.

Figura 1: Preparación del toxoide tetánico crudo







1.2 Tratamiento (etapa 8)

La toxina tetánica concentrada y diafiltrada (ver etapa 7) pasa por la adición de carbonato ácido de hidrógeno, seguida por una filtración profunda de 0,4 a 0,1 μm y por una filtración adicional de 0,2 μm :

- Etapa 8a: Adición de carbonato ácido de hidrógeno

Se agrega carbonato ácido de hidrógeno en condiciones de agitación.

- Etapa 8b: Filtración y ajuste del volumen a 500 Lf/mL

Luego, se filtra la toxina tetánica cruda concentrada y diafiltrada (filtración profunda de 0,4 a 0,1 μm). Después se lleva a cabo una filtración adicional de 0,2 μm . El filtrado se transfiere a un tanque intermedio.

El ajuste de volumen se realiza con un volumen de agua purificada, lo que permite obtener una solución de toxina final a razón de 500 Lf/mL (menos el volumen de la solución de formaldehído que se habrá de agregar, vea la etapa 9a).

1.3 Detoxificación de la toxina tetánica (etapa 9)

- Etapa 9a: Adición de formaldehído

Se diluye una solución de formaldehído al 37 % p/v en agua purificada para obtener una concentración final de 0,55 %.

La solución de formaldehído se agrega lentamente a la toxina tetánica en condiciones de agitación y después se transfiere a un tanque de detoxificación.

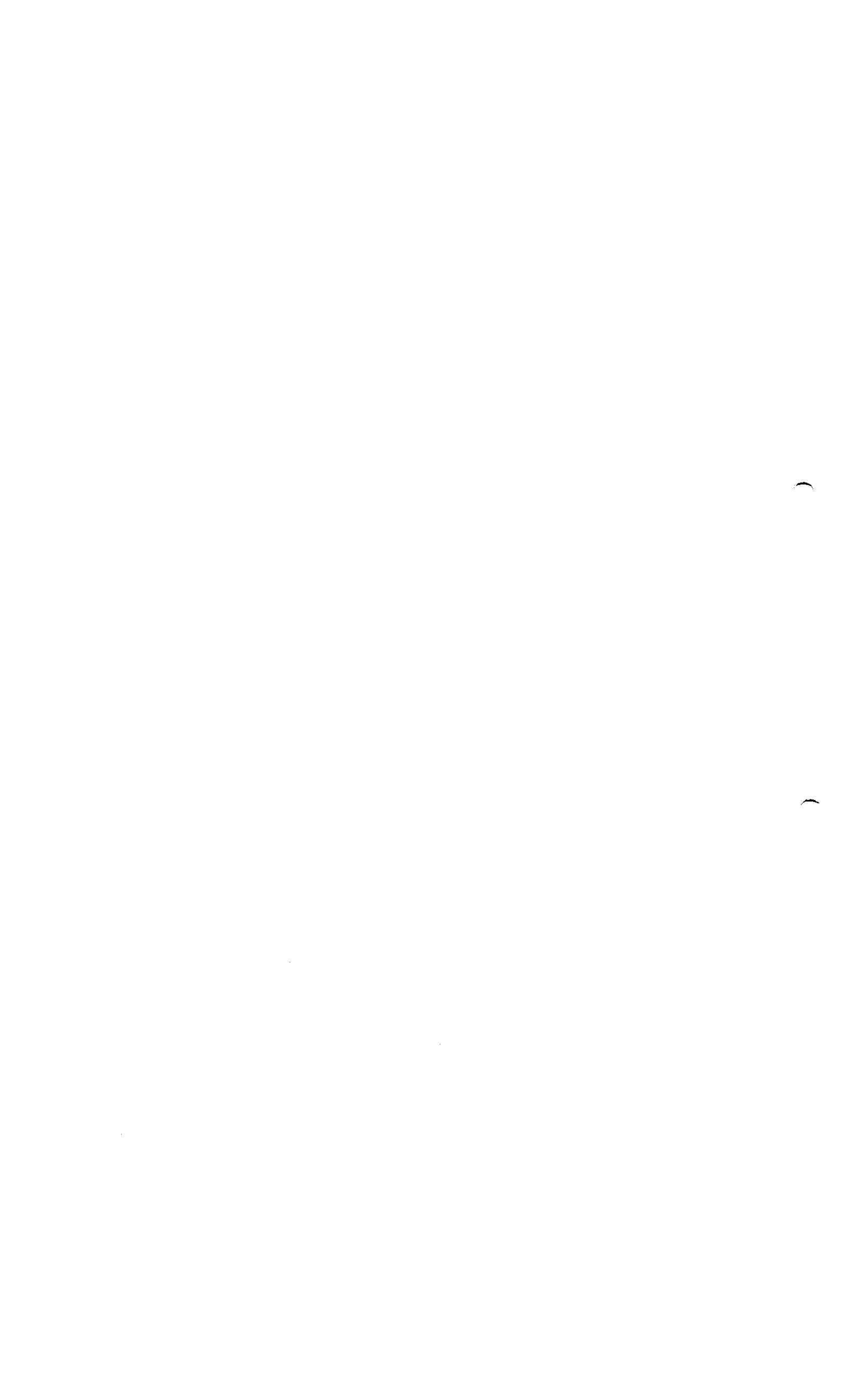
- Etapa 9b: Tratamiento de detoxificación

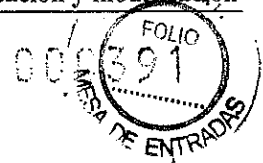
El tanque de detoxificación se conserva a temperatura ambiente (por ejemplo de +15 °C a +25 °C) en condiciones de agitación durante 2 a 5 días.

Luego se ajusta la temperatura a entre +34 °C y +36 °C, utilizando un circuito de agua termostaticada. Esta fase se lleva a cabo en condiciones de agitación intermitente durante aproximadamente 15 días.

Después del paso de detoxificación, se toma una muestra para los controles durante el proceso (vea el capítulo 4.1.1) y el tanque que contiene el toxoide tetánico crudo (CTT) se conserva a temperatura ambiente hasta que esté disponible la concentración de formaldehído libre (criterios de aceptación: $\geq 290 \mu\text{g/mL}$).

Luego se distribuye el CTT en tanques de acero inoxidable y se conservan a $+5 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$ hasta que hayan concluido los pasos de purificación (vea el capítulo 2) (consulte la sección 3.2.S.2.4 Controles de pasos críticos e intermedios para ver los detalles sobre los datos de estabilidad).





2 Purificación del toxoide tetánico

2.1 Panorama

Se purifica el toxoide tetánico crudo (CTT) obtenido mediante los procesos de fermentación, cosecha y detoxificación.

El diagrama de flujo del proceso de purificación del toxoide tetánico se proporciona en la figura 2 que aparece a continuación.



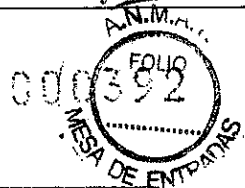
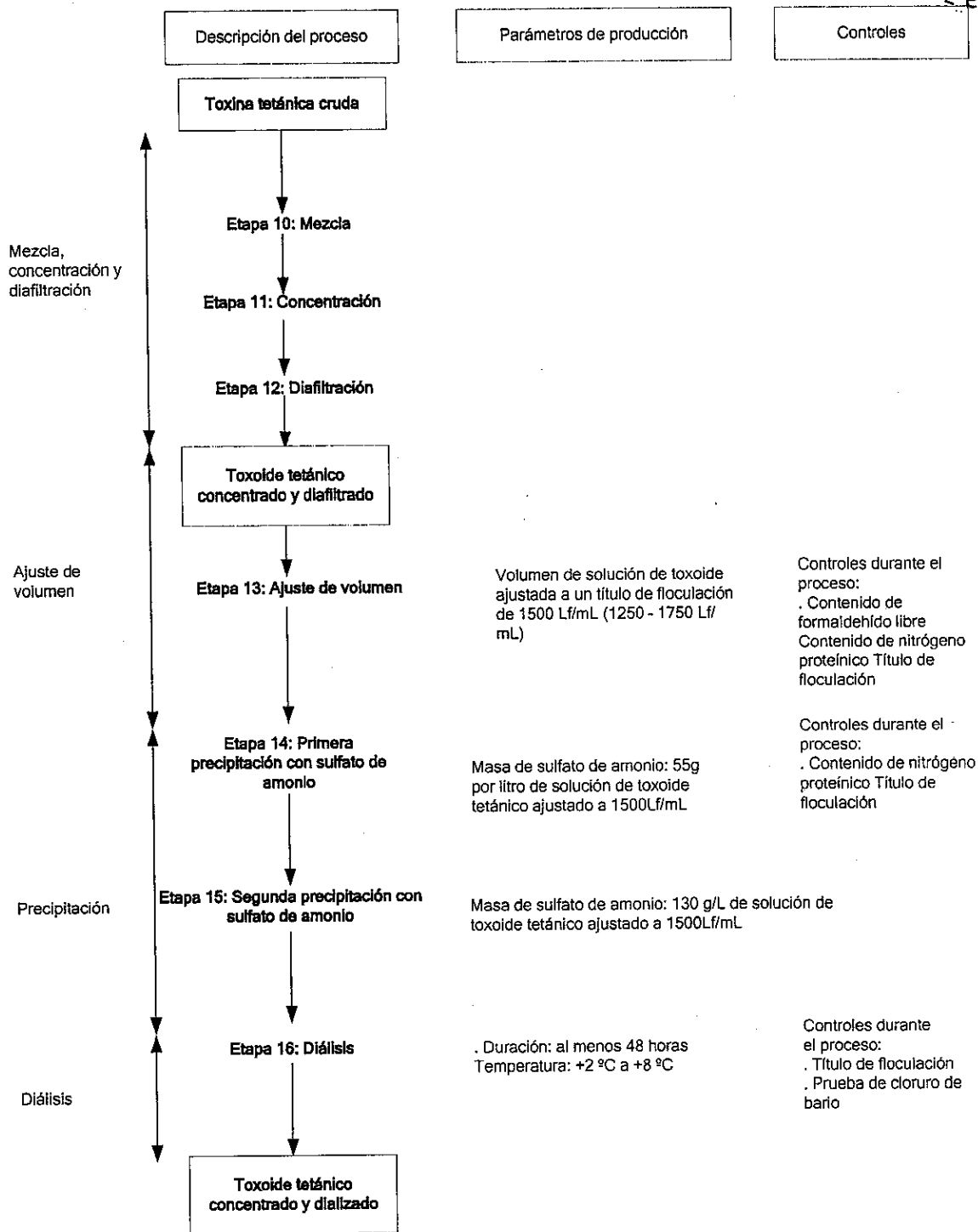
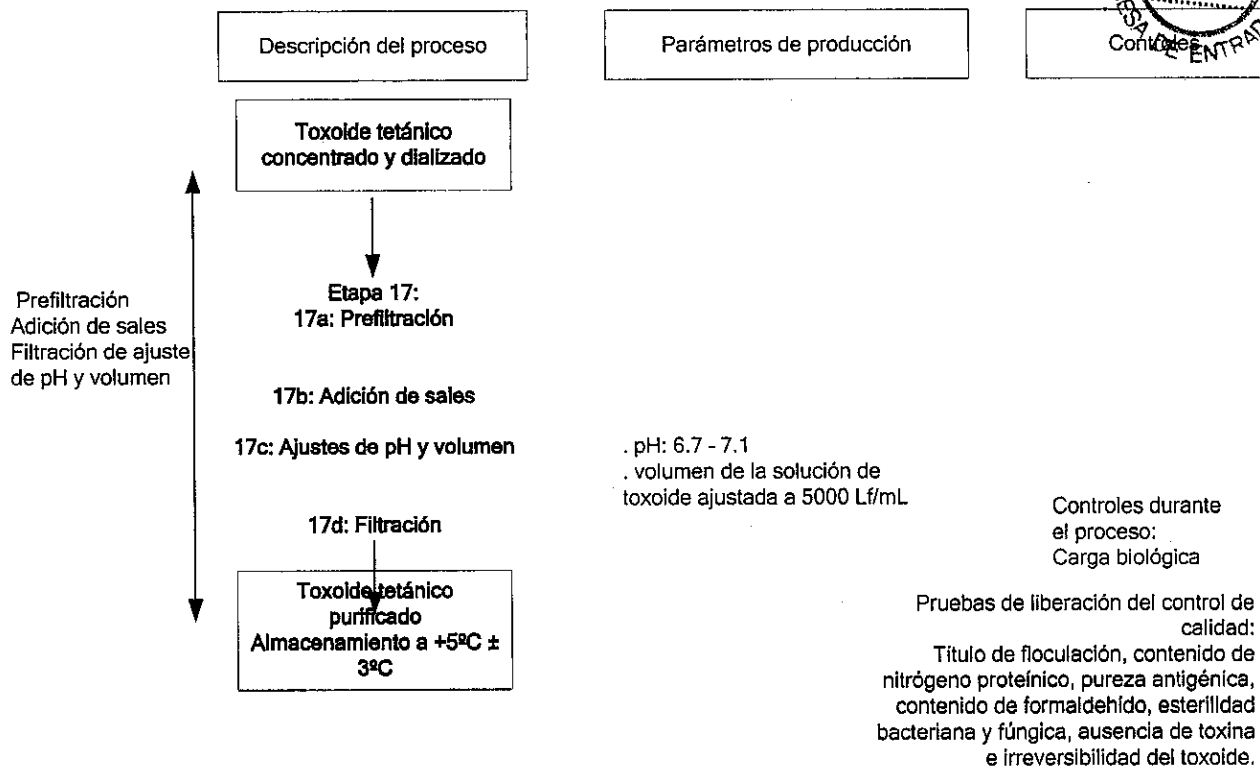
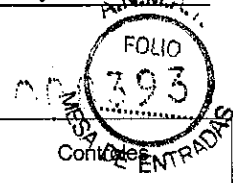


Figura 2: Preparación del toxoide tetánico purificado



1

2



2.2 Mezcla, concentración y diafiltración (etapas 10, 11 y 12)

- Etapa 10: Mezcla

Se pueden agrupar, antes del paso de purificación, desde 3 hasta un máximo de 5 de los lotes de CTT obtenidos.


- Etapa 11: Concentración


La concentración se realiza mediante un módulo de ultrafiltración con un corte de membrana de 10 KDa aproximadamente, para alcanzar un volumen final de 30 L a 70 L.

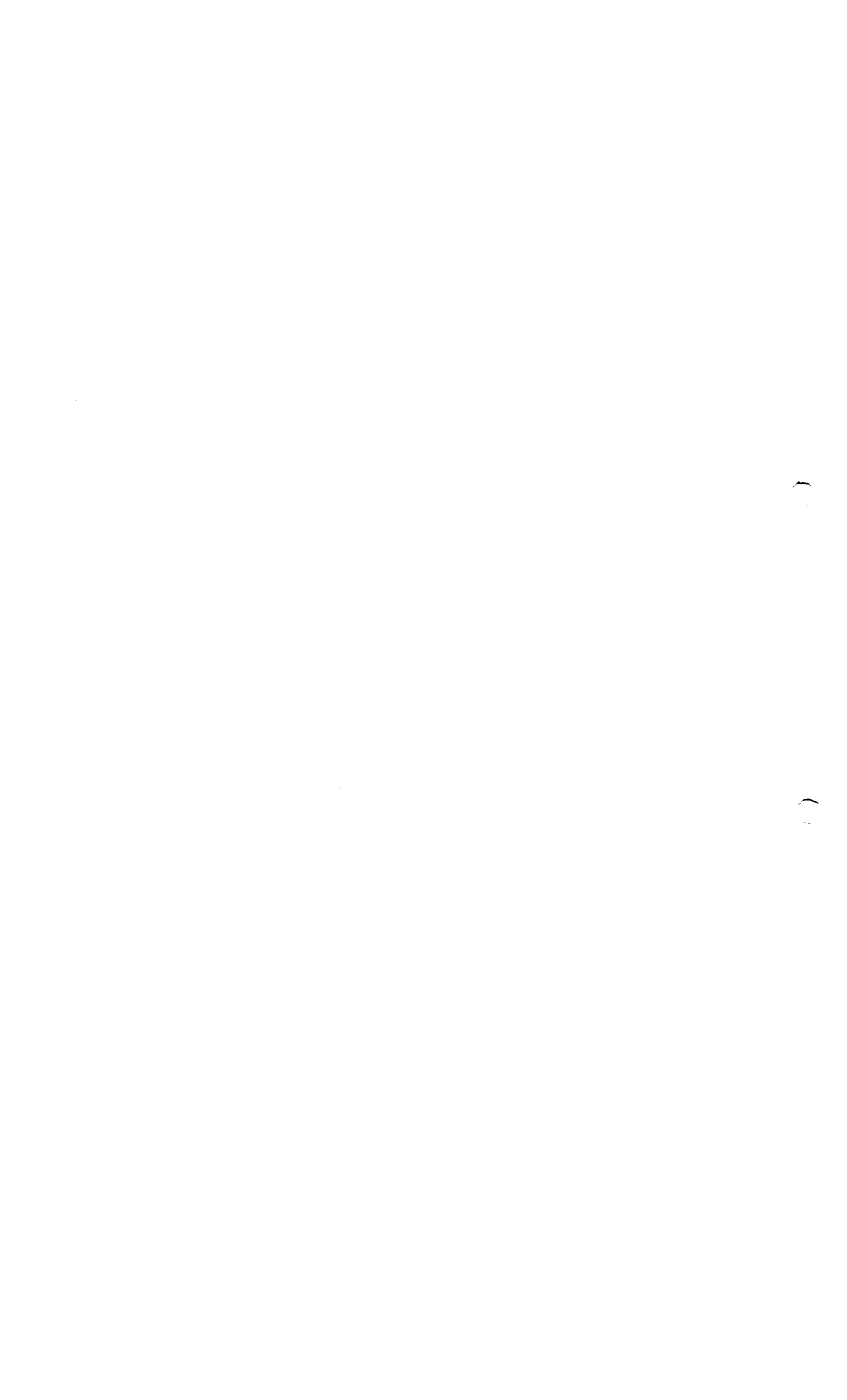
- Etapa 12: Diafiltración

Luego, el concentrado obtenido se diafiltra contra agua fisiológica tamponada (vea el capítulo 5.1).

Al final del paso de diafiltración, el toxoide tetánico concentrado y diafiltrado resultante se transfiere al tanque de precipitación.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





2.3 Ajuste del volumen (Etapa 13)

El volumen de toxoide tetánico concentrado y diafiltrado se ajusta con agua fisiológica tamponada (vea el capítulo 5.1) para alcanzar una concentración de 1500 ± 250 Lf/mL.

Se toman muestras para los controles durante el proceso (vea el capítulo 4.1.2).

2.4 Precipitación (Etapas 14 y 15)

La purificación del toxoide tetánico se lleva a cabo mediante precipitación con sulfato de amonio, que se compone de dos etapas sucesivas de precipitación.

- Etapa 14: Primera precipitación con sulfato de amonio

En el tanque que contiene el volumen ajustado de toxoide tetánico concentrado y diafiltrado, el producto se conserva a temperatura ambiente (por ejemplo, $+19$ °C a $+25$ °C).

Luego, se agrega sulfato de amonio en condiciones de agitación hasta una concentración de 55 g/L de solución de toxoide tetánico concentrado y diafiltrado ajustado a 1500 Lf/mL.

Después de una fase de agitación, comienza una fase de decantación durante un mínimo de 8 horas, mientras la temperatura se mantiene a temperatura ambiente (por ejemplo de $+19$ °C a $+25$ °C). Se toma una muestra para los controles durante el proceso (vea el capítulo 4.1.2).

- Etapa 15: Segunda precipitación con sulfato de amonio

Luego, se agrega sulfato de amonio en condiciones de agitación hasta 130 g/L de solución de toxoide tetánico concentrado y diafiltrado ajustado a 1500 Lf/mL.

Después de una fase de agitación, comienza una fase de decantación durante un mínimo de 8 horas, y la temperatura se mantiene a temperatura ambiente (por ejemplo de $+19$ °C a $+25$ °C).

Después de este período, el precipitado se recolecta por centrifugación y se vuelve a suspender en agua purificada (un litro por kilogramo de precipitado).

2.5 Diálisis (etapa 16)

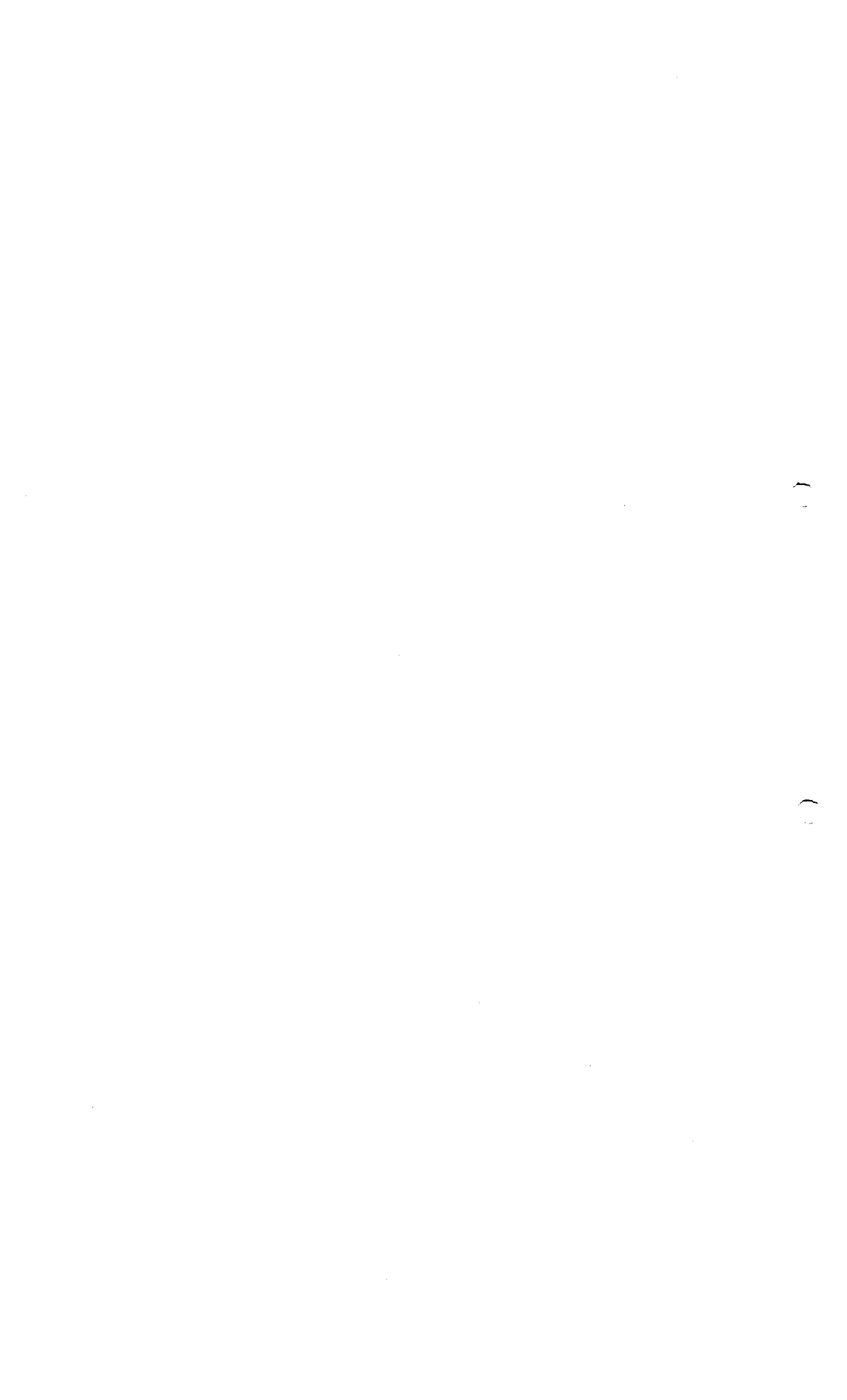
El precipitado suspendido se distribuye en membranas de diálisis. La diálisis se lleva a cabo en una cámara fría (a $+5$ °C \pm 3 °C) contra agua purificada (mediante alimentación continua) durante por lo menos 48 horas.

Al final de la etapa de diálisis, se recolecta el contenido de las membranas de diálisis, se cosecha una muestra para los controles durante el proceso (vea el capítulo 4.1.2) y finalmente se transfiere el toxoide tetánico concentrado y dializado al tanque de filtración.

2.6 Prefiltración, adición de sales, ajuste de pH y volumen y filtración (etapa 17)

- Etapa 17a: Prefiltración

El toxoide tetánico concentrado y dializado se prefiltra a $0,2\mu\text{m}$





- Etapa 17b: Adición de sales

Se prefiltran 10 L de solución de cloruro de sodio y sales de glicina (vea la composición en capítulo 5.2) y se mezclan con el toxoide tetánico concentrado y dializado.

- Etapa 17c: ajuste de pH y volumen

El pH de esta solución final se determina y se ajusta con fosfato disódico 0,3 M (vea el capítulo 5.3) a 6,7 – 7,1.

Luego se ajusta el volumen de la solución tetánica con agua purificada para obtener un título final de aproximadamente 5000 Lf/mL.

- Etapa 17d: Filtración

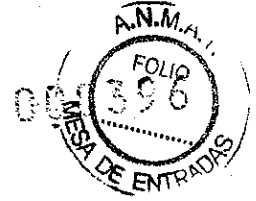
Se toman muestras para un control durante el proceso antes de la filtración (vea el capítulo 4.1.2).

La solución, filtrada a través de un filtro con poros de 0,2 μm , constituye el toxoide tetánico purificado, que se almacena a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ (vea la sección 3.2.S.7.1 Resumen de estabilidad y conclusiones).

Se toman muestras para los controles de calidad (vea la sección 3.2.S.4.1 Especificaciones).

10

11

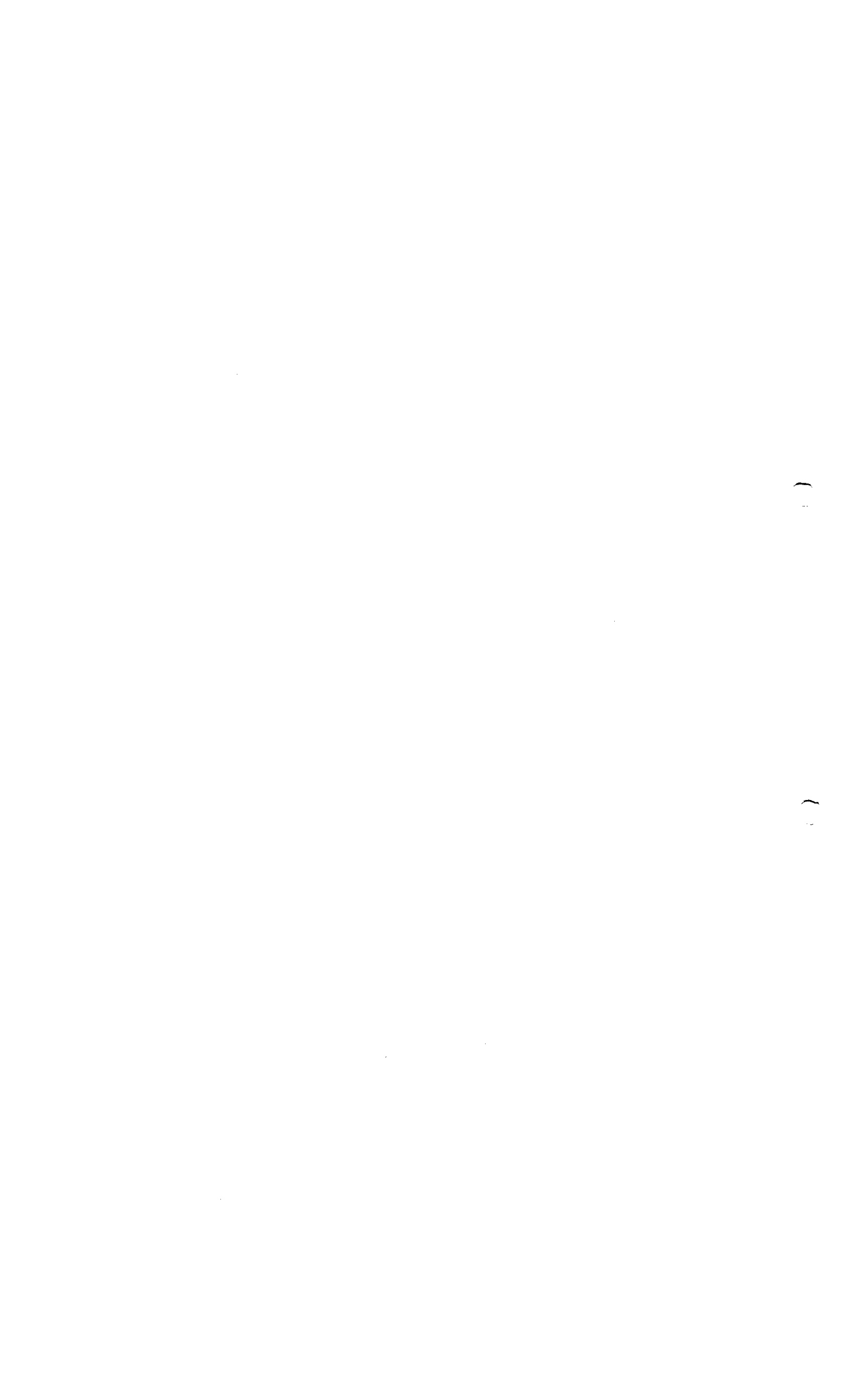


3 Condiciones de llenado y almacenamiento

El toxoide tetánico crudo (CTT) intermedio se puede almacenar a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 16 semanas en tanques de acero inoxidable (vea la sección 3.2.S.2.4 Controles de los pasos críticos e intermedios).

El toxoide tetánico purificado (PTT) se distribuye para almacenarlo en matraces de polipropileno (vea la sección 3.2.S.6 Sistema de cierre del envase).

El principio activo PTT se puede almacenar a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 36 meses (vea la sección 3.2.S.7.1 Resumen de estabilidad y conclusiones).





4 Controles durante el proceso

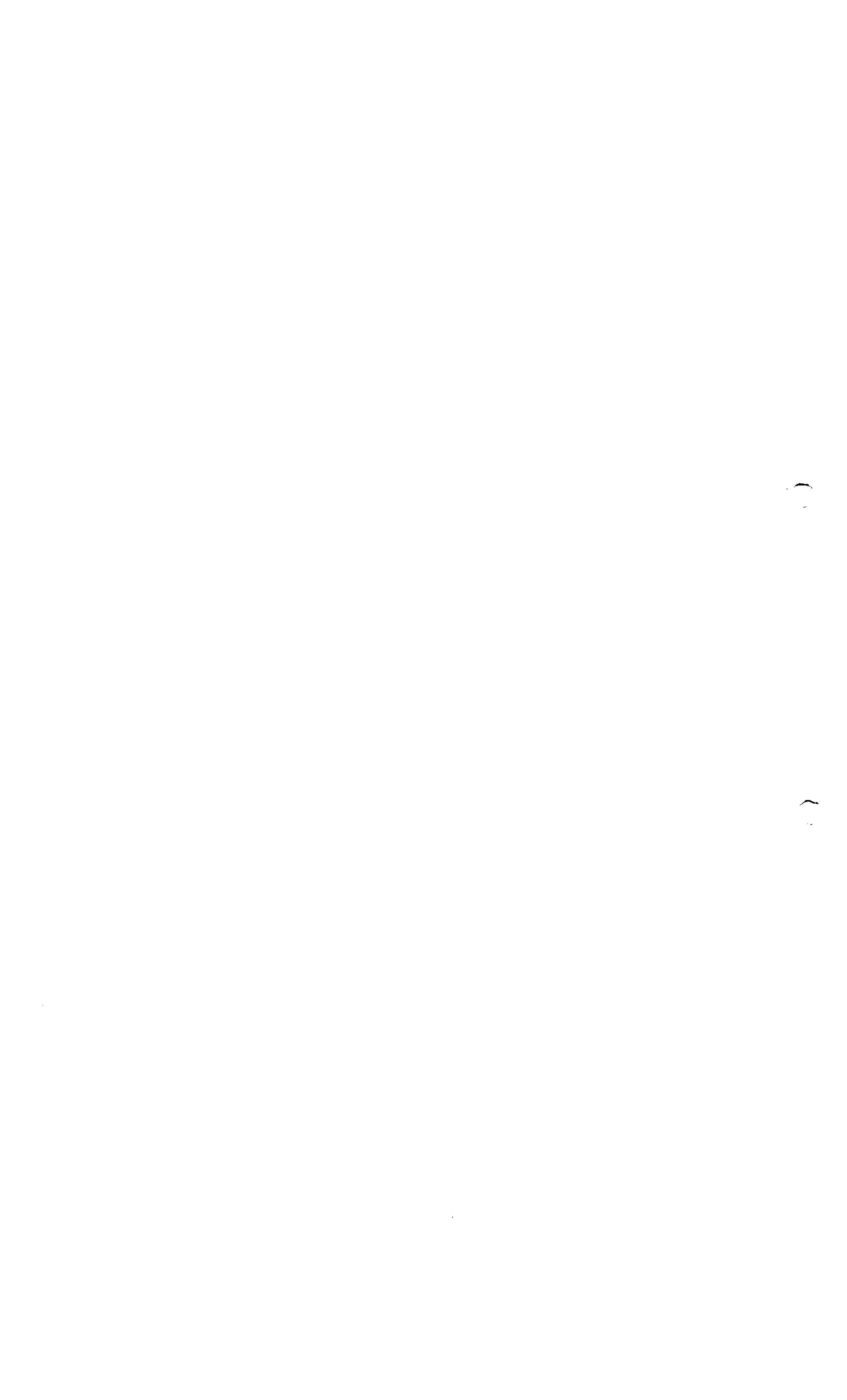
4.1 Panorama de los controles durante el proceso

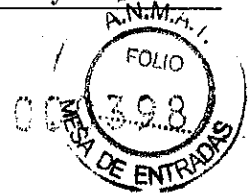
4.1.1 Detoxificación de la toxina tetánica

Los controles durante el proceso aplicados durante la detoxificación de la toxina tetánica se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Controles durante el proceso aplicados en la detoxificación de la toxina tetánica

Pasos de elaboración	Controles durante el proceso		
	Pruebas	Criterios / límites de aceptación	Justificación
Etapa 9: Detoxificación	Título de floculación (Ph. Eur. 2.7.27, edición actual, prueba de Ramon)	400 – 600 Lf/mL	Verificar la cantidad de toxoide
	Contenido de nitrógeno proteico (con base en la monografía 2.5.9 de la Ph. Eur. edición actual, método de Kjeldahl)	0,3 a 1,3 g/L	Verificar la cantidad de proteínas
	Contenido de formaldehído libre (con base en la monografía 2.4.18 de la Ph. Eur. edición actual, método de Nash)	≥ 290 µg/mL	Seguir el proceso de detoxificación
	pH (Ph. Eur. 2.2.3, edición actual)	6,8 – 8,3	Seguir el proceso de detoxificación





4.1.2 Purificación del toxoide tetánico

Los controles durante el proceso aplicados durante la purificación de la toxina tetánica se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Controles durante el proceso aplicados en la detoxificación de la toxina tetánica

Pasos de elaboración	Controles durante el proceso		
	Pruebas	Criterios / límites de aceptación	Justificaciones
Toxoide tetánico concentrado y diafiltrado Etapa 13: Ajuste del volumen	Título de floculación (Ph. Eur. 2.7.27, edición actual, prueba de Ramon) Contenido de nitrógeno proteico (con base en la monografía 2.5.9 de la Ph. Eur. edición actual, método de Kjeldahl) Contenido de formaldehído libre (con base en la monografía 2.4.18 de la Ph. Eur. edición actual, método de Nash)	1250 – 1750 Lf/mL ≤ 4 g/L ≤ 250 µg/mL	Determinar la pureza antigénica Determinar la pureza antigénica Seguir el proceso de eliminación del formaldehído
Etapa 14: Primera precipitación con sulfato de amonio	Título de floculación (Ph. Eur. 2.7.27, edición actual, prueba de Ramon) Contenido de nitrógeno proteico (con base en la monografía 2.5.9 de la Ph. Eur. edición actual, método de Kjeldahl)	No hay criterios de aceptación ≤ 4 g/L	Monitorear el proceso (pureza antigénica) Monitorear el proceso (pureza antigénica)
Etapa 16: Diálisis	Prueba con cloruro de bario (Método interno)	No se detectó sulfato de amonio	Verificar la ausencia de sulfato de amonio después de la diálisis
	Título de floculación (Ph. Eur. 2.7.27, edición actual, prueba de Ramon)	No hay criterios de aceptación	Calcular el volumen teórico de toxoide en 5000 Lf/mL aproximadamente
Toxoide tetánico purificado Etapa 17d: Filtración	Carga biológica (antes de la filtración) (Ph. Eur. 2.6.12, edición actual)	≤ 50 UFC/mL	Monitorear el nivel de contaminación biológica

