



**1.2.6 Controles durante el proceso aplicados para la purificación**

En la tabla 1 se presentan los controles en el proceso aplicados durante la purificación.

Las prueba de contenido de antígeno D, contenido proteico, esterilidad bacteriana y fúngica y pureza están incluidas también en el perfil de control de calidad (vea la sección 3.2.S.2.4 Control de los pasos críticos e intermedios) en la etapa de suspensión viral purificada y concentrada.

**Tabla 1: Controles durante el proceso aplicados para la purificación**

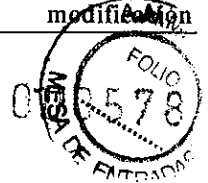
Paso de elaboración	Controles durante el proceso		
	Prueba	Criterios de aceptación	Justificación
Suspensión viral purificada concentrada	Contenido de antígeno D (mediante el método sigmoideo). (Según la Ph. Eur. 2.7.1, edición actual)	Para el cálculo del índice de pureza	Para calcular la pureza del intermedio
	Contenido proteico (Según la Ph. Eur. 2.5.16, edición actual)	Para el cálculo del índice de pureza	Para calcular la pureza del intermedio
	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica (Ph. Eur. 2.6.1, edición actual)	No se observa crecimiento microbiano	Para detectar una posible contaminación.
	Proporción proteína/antígeno D (pureza). Tipo 1: Tipo 2: Tipo 3: (método interno)	< 0,027 µg/UD* < 0,0875 µg/UD < 0,030 µg/UD	Para calcular la pureza del intermedio

\* UD equivale a unidad de antígeno D

ROXANA MONTEMLONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
 APODERADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.





### 1.3 Inactivación de la suspensión viral purificada y concentrada

Para obtener el monovalente (tipo 1, 2 ó 3), se inactiva la suspensión viral purificada y concentrada. Los lotes de monovalente se pueden preparar a partir de uno a tres lotes de suspensión viral purificada y concentrada del mismo serotipo. La dilución de la suspensión viral purificada y concentrada con medio de inactivación se ajusta antes de llevar a cabo la etapa de inactivación.

La suspensión viral purificada diluida se filtra (a través de una membrana de 0,2 µm) y se calienta a entre +36,5 °C y +37,5 °C.

La inactivación viral se realiza en dos etapas de 6 días cada una.

- Primera etapa de inactivación

A la suspensión viral se le añade la solución concentrada de formaldehído diluida a 1:200 con el medio de inactivación para obtener una dilución final de 1:4000. Se incuba la suspensión a entre +36,5 °C y +37,5 °C durante 6 días. Se toman muestras cada 24 horas ± 1 hora para controlar la cinética de inactivación hasta el cuarto día de inactivación. La cinética indica el avance de la inactivación. Al cabo de unos 6 días, la mezcla viral se filtra (a través de una membrana de 0,2 µm) y se transfiere a un tanque para completar el proceso de inactivación.

- Segunda etapa de inactivación

La mezcla se almacena durante 6 días adicionales a entre +36,5 °C y +37,5 °C.

Al final del día 12, se mide el pH y se ajusta si es necesario.

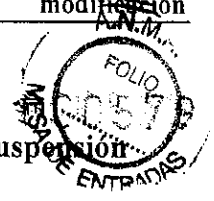
Se filtra la suspensión (a través de una membrana de 0,2 µm) y se almacena en un matraz de vidrio a entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de 36 meses. El producto obtenido es el monovalente de la IPV tipo 1, 2 ó 3. Se toman muestras para las pruebas de control de calidad (vea la sección 3.2.S.2.4 Control de los pasos críticos e intermedios).

#### 1.3.1 Controles durante el proceso aplicados durante la inactivación de la suspensión viral

En la tabla 2 se presentan los controles durante el proceso aplicados para la inactivación de la suspensión viral. Estos controles durante el proceso están incluidos también en el perfil de control de calidad de la sección 3.2.S.2.4 Control de los pasos críticos e intermedios.

○

○



**Tabla 2: Controles durante el proceso aplicados durante la inactivación de la suspensión viral**

Paso de elaboración	Controles durante el proceso		
	Prueba	Criterios de aceptación	Justificación
Monovalente	<b>Cinética de inactivación:</b> T 0 T 24 h T 48 h T 72 h T 96 h Cálculo de la pendiente (T0, T24h, T48h) (método interno)	El título infeccioso disminuye en función lineal del tiempo.  Tipo 1: entre -0,1187 y -0,1758 Tipo 2: entre -0,0955 y -0,1890 Tipo 3: entre -0,1090 y -0,1933	Medición del título infeccioso para obtener información de la evolución de la inactivación.
	<b>Prueba de inactivación                      efectiva:</b> Día 9 Día 12 (método interno)	Sin efecto citopático durante el proceso de amplificación.  Sin efecto citopático durante el proceso de amplificación.	Demostrar la ausencia de poliovirus vivos después de la inactivación.

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
 APODERADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.

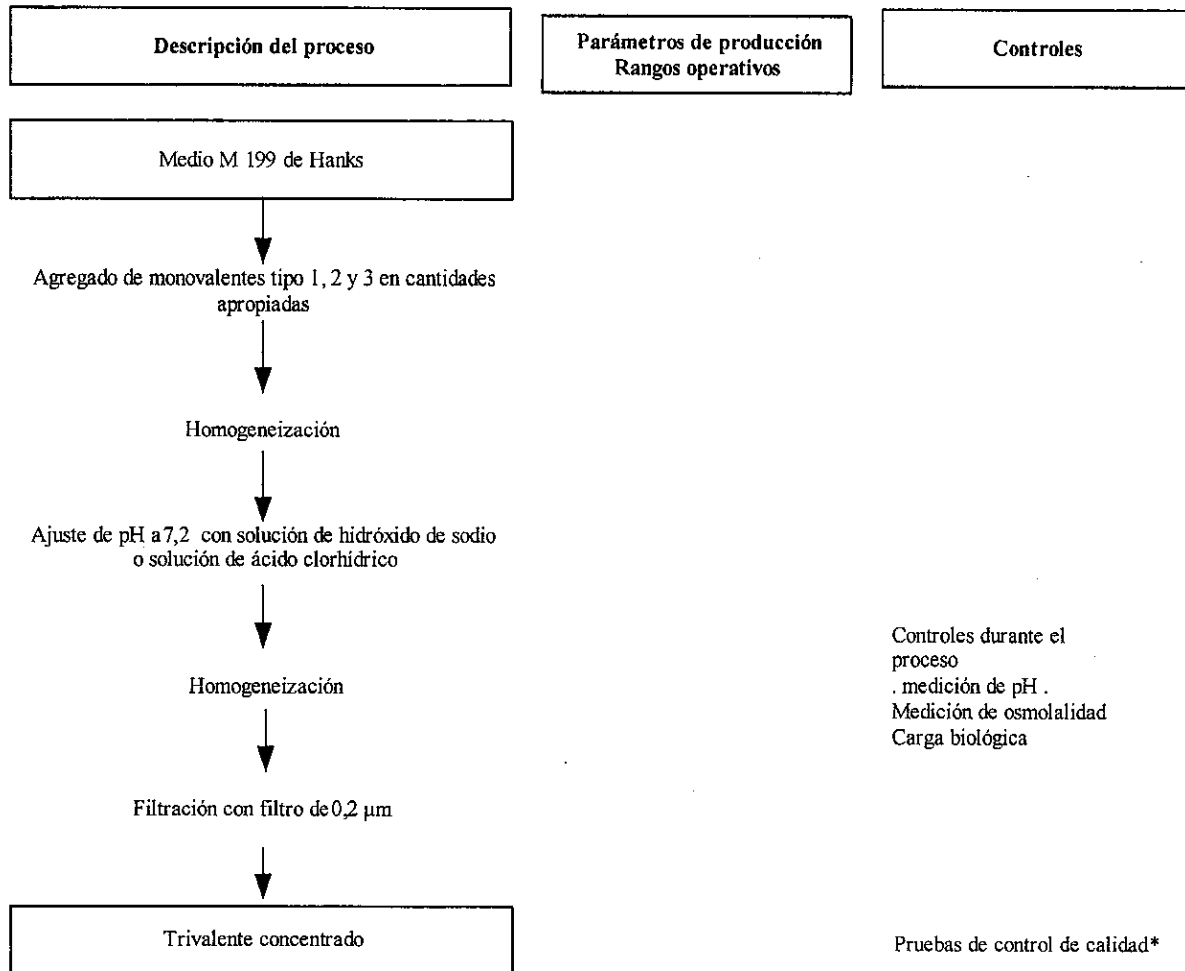




## 2 Preparación del trivalente concentrado

En la figura 3 se presenta el diagrama de flujo del proceso para preparar el trivalente concentrado.

Figura 3: Preparación del trivalente concentrado



\*Las pruebas de control de calidad se detallan en la sección 3.2.S.4.1 –Especificación del principio activo





El trivalente concentrado se prepara en condiciones asépticas.

Se introduce un volumen de medio 199 (Hanks) sin rojo de fenol en el tanque de mezcla y después se agrega el volumen adecuado del monovalente concentrado. Estos volúmenes se calculan basándose en el título de cada lote del tipo de virus.

Tras la homogeneización, se ajusta el pH entre 7,15 y 7,25, si es necesario.

La solución del trivalente se filtra (a través de una membrana de 0,2 µm) para obtener el trivalente concentrado a granel. El intervalo de volumen para el tamaño de lote de trivalente concentrado es de entre 120 L y 300 L. El trivalente concentrado a granel se almacena en matraces de vidrio o en tanques de acero inoxidable a entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de 24 meses.





## 2.1 Controles durante el proceso aplicados para la producción del trivalente concentrado

En la tabla 3 se presentan los controles durante el proceso aplicados para la producción del trivalente concentrado.

**Tabla 3: Controles durante el proceso aplicados para la producción del trivalente concentrado**

Paso de elaboración	Controles durante el proceso		
	Prueba	Criterios de aceptación	Justificación
Preparación del trivalente concentrado	Medición del pH (Ph. Eur. 2.2.3, edición actual)	7,15 – 7,25	Verificar el entorno fisicoquímico.
	Medición de la osmolalidad (Ph. Eur. 2.2.35, edición actual)	320 -360 mOsm/kg	
	Carga biológica (Ph. Eur. 2.6.12, edición actual)	≤ 10 UFC/100 mL	Determinar la biocontaminación antes de la filtración.





### 3 Medios de cultivo, tampones y otros aditivos utilizados durante la preparación del trivalente concentrado

Los medios utilizados para preparar el trivalente concentrado a granel están basados en los medios patentados estándar en polvo: M199 Hanks especial y M199 Hanks sin rojo de fenol.

Los polvos patentados se preparan, se mezclan con otros aditivos y se filtran (a través de una membrana de 0,2 µm). Además, cada solución de medio se filtra antes de usarla (a través de una membrana de 0,2 µm).

- Composición de la solución de tampón de fosfato diluida en agua purificada (utilizada en la etapa de purificación)

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 2H<sub>2</sub>O

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

- Composición del medio de inactivación diluido en agua purificada (utilizado en la etapa de inactivación)

M199 Hanks especial

Polisorbato (Tween) 80 (solución al 5 %).

Glicina

EDTA (sal disódica dihidrato).

- Composición del medio M199 Hanks concentrado diluido en agua purificada (utilizado para obtener la suspensión viral purificada y concentrada)

M199 Hanks especial

Polisorbato (Tween) 80 (solución al 5 %).

Glicina

EDTA disódico

- Solución de formaldehído diluido en agua purificada (utilizada en la etapa de purificación)
- Composición de la solución de formaldehído-NaCl diluida en agua purificada (utilizada en la etapa de purificación)

Formaldehído

NaCl

- Composición del medio M199 Hanks especial (sin rojo de fenol) diluido en agua purificada (utilizado para la preparación del granel trivalente)

M199 Hanks sin rojo de fenol (polvo)

- Otras soluciones

Las soluciones que se presentan a continuación se utilizan para preparar medios, otras soluciones o para ajustar el pH.

- Solución de clorhidrato.
- Solución de cloruro de sodio



- Solución de hidróxido de sodio
- Solución de lejía
- Solución de ácido acético/NaCl.
- Solución de formaldehído



#### 4 Llenado, almacenamiento y transporte

Después de una filtración de 0,2  $\mu\text{m}$ , el trivalente antipoliomielítico concentrado e inactivado se distribuye en matraces de vidrio o en tanques de acero inoxidable mediante presión de nitrógeno a través de sistemas de transferencia equipados con tubos de inyección. Además, se analiza la biocontaminación inicial y la osmolalidad antes de la filtración.

El trivalente antipoliomielítico concentrado e inactivado se mantiene en cuarentena a entre +2 °C y +8 °C a la espera de los resultados satisfactorios de las pruebas de control de calidad (vea la sección 3.2.S.4.1. Especificaciones). El trivalente antipoliomielítico concentrado inactivado y filtrado se almacena a entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de 24 meses (vea la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad) antes de utilizarlo para la elaboración del producto final a granel.





**3.2.S.2.4**

**Control de los Pasos Críticos e Intermedios - IPV**

	
<b>ROXANA MONTEMILONE</b>	<b>CHRISTIAN DOMINGUEZ</b>
<b>DIRECTORA TÉCNICA</b>	<b>APODERADO</b>
<b>SANOFI PASTEUR S.A.</b>	<b>SANOFI PASTEUR S.A.</b>



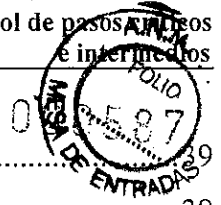


## Sección 3.2.S.2.4 Control de pasos críticos e intermedios

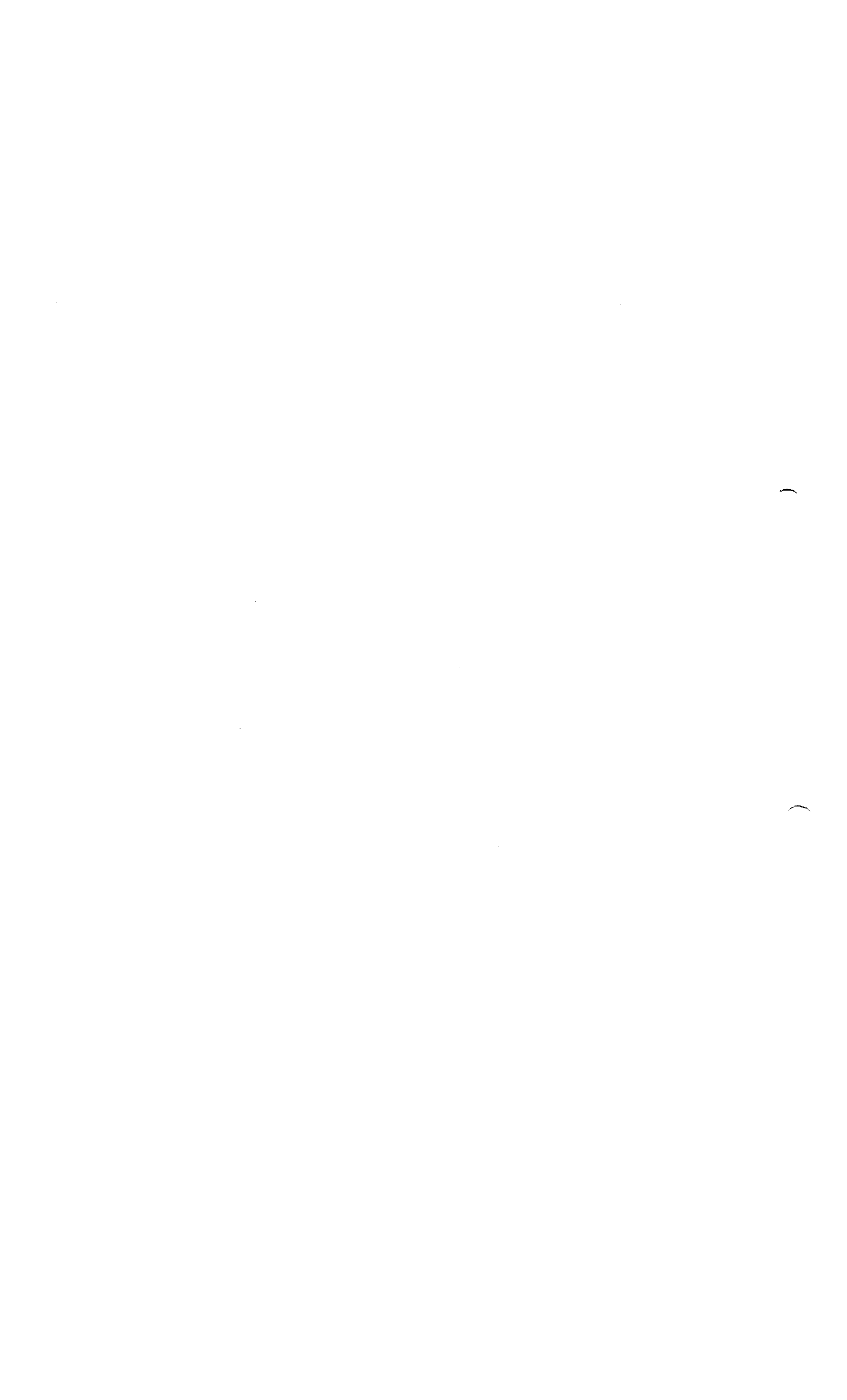
### Índice

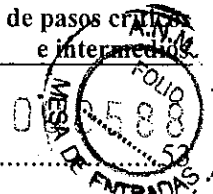
Lista de tablas .....	6
1 Panorama de los pasos críticos del proceso de producción del trivalente concentrado (tipos 1, 2 y 3).....	12
2 Pasos críticos .....	13
3 Productos intermedios .....	14
3.1 Especificaciones.....	14
3.2 Procedimientos analíticos .....	18
3.2.1 Pruebas realizadas sobre las células de control .....	19
3.2.1.1 Observación.....	19
3.2.1.2 Prueba de virus hemadsorbentes .....	19
3.2.1.3 Identificación de células de simio .....	20
3.2.2 Pruebas realizadas en el sobrenadante de las células de control .....	25
3.2.2.1 Prueba de detección de agentes extraños con células .....	25
3.2.2.2 Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo .....	26
3.2.2.3 Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> mediante epifluorescencia en cultivo celular .....	30
3.2.3 Pruebas realizadas sobre la cosecha única.....	34
3.2.3.1 Identificación de poliovirus (tipo 1, 2 o 3).....	34
3.2.3.2 Concentración de poliovirus (tipos 1, 2 y 3).....	35
3.2.3.3 Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica.....	36
3.2.3.4 Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo .....	36
3.2.4 Pruebas realizadas sobre la suspensión viral purificada y concentrada.....	36
3.2.4.1 Contenido proteico .....	36
3.2.4.2 Contenido de antígeno D (mediante el método sigmoideo).....	39





3.2.4.3	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica.....	39
3.2.4.4	Pureza (actividad específica).....	39
3.2.5	Pruebas realizadas sobre el monovalente tipo 1, 2 o 3 .....	39
3.2.5.1	Contenido proteico .....	39
3.2.5.2	Contenido de antígeno D (mediante el método sigmoideo).....	39
3.2.5.3	Pureza.....	39
3.2.5.4	Contenido de formaldehído residual .....	39
3.2.5.5	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica.....	39
3.2.5.6	Cinética de inactivación .....	40
3.2.5.7	Prueba de inactivación efectiva.....	41
3.3	Validación de los procedimientos analíticos.....	44
3.3.1	Métodos de validación de células de control y del sobrenadante celular .....	44
3.3.1.1	Prueba de virus hemadsorbentes .....	44
3.3.1.1.1	Panorama .....	44
3.3.1.1.2	Resultados.....	45
3.3.1.1.3	Especificidad.....	45
3.3.1.1.4	Conclusión .....	46
3.3.1.2	Identificación de células de simio .....	47
3.3.1.2.1	Panorama .....	47
3.3.1.2.2	Condiciones operativas .....	47
3.3.1.2.3	Resultados.....	47
3.3.1.2.4	Conclusión .....	47
3.3.1.3	Prueba de detección de agentes extraños con células .....	48
3.3.1.3.1	Panorama .....	48
3.3.1.3.2	Resultados.....	50
3.3.1.3.3	Especificidad.....	51
3.3.1.3.4	Conclusión .....	52
3.3.1.4	Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo .....	52
3.3.1.4.1	Panorama .....	52
3.3.1.4.2	Verificación de las cualidades de promoción del crecimiento de los medios utilizados.....	53



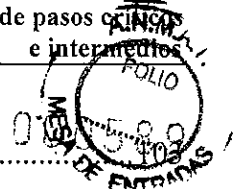


3.3.1.4.3	Cuantificación de UFC en cada cepa.....	53
3.3.1.4.4	Evaluación de una posible interferencia inducida por el producto.....	53
3.3.1.4.5	Adición de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	54
3.3.1.4.6	Adición de <i>Mycoplasma orale</i> .....	55
3.3.1.4.7	Adición de <i>Acheloplasma laidlawii</i> .....	56
3.3.1.4.8	Análisis de los resultados.....	57
3.3.1.4.9	Conclusión.....	57
3.3.1.5	Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> mediante epifluorescencia en cultivo celular.....	57
3.3.1.5.1	Panorama.....	57
3.3.1.5.2	Resultado.....	58
3.3.1.5.3	Conclusión.....	58
3.3.2	Métodos de validación de la cosecha única.....	59
3.3.2.1	Identificación de poliovirus (tipo 1, 2 o 3).....	59
3.3.2.1.1	Panorama.....	59
3.3.2.1.2	Resultado.....	59
3.3.2.1.3	Conclusión.....	61
3.3.2.2	Concentración de poliovirus (tipo 1, 2 o 3).....	61
3.3.2.2.1	Panorama.....	61
3.3.2.2.2	Resultados.....	63
3.3.2.2.3	Conclusión.....	72
3.3.3	Métodos de validación de la suspensión viral purificada y concentrada.....	72
3.3.3.1	Contenido proteico.....	72
3.3.3.1.1	Panorama.....	72
3.3.3.1.2	Resultados.....	74
3.3.3.1.3	Conclusión.....	85
3.3.3.2	Contenido de antígeno D (mediante el método sigmoideo).....	85
3.3.3.2.1	Panorama.....	85
3.3.3.2.2	Resultado.....	87
3.3.3.3	Conclusión.....	102
3.3.4	Métodos de validación del monovalente.....	102
3.3.4.1	Contenido proteico.....	103

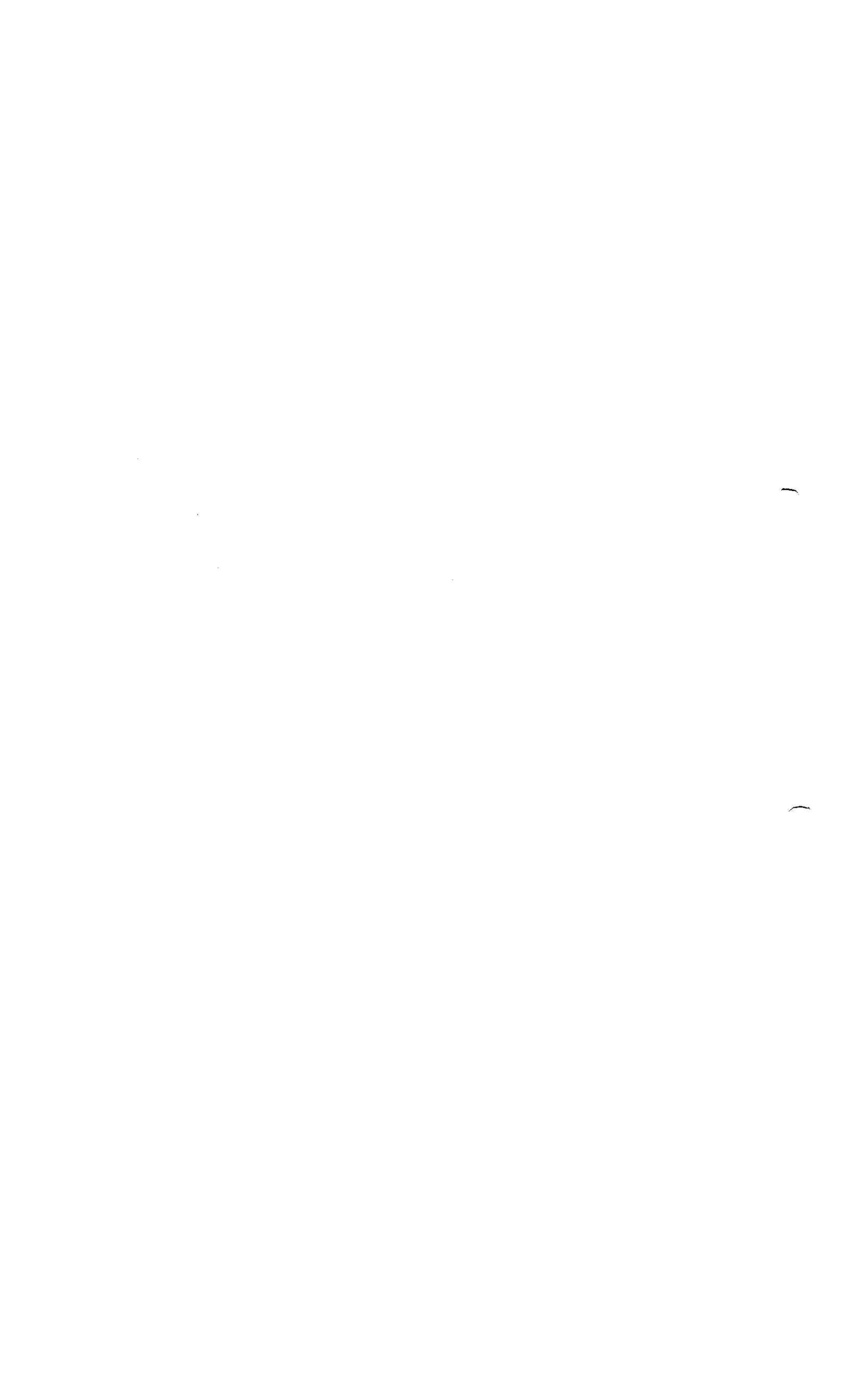
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

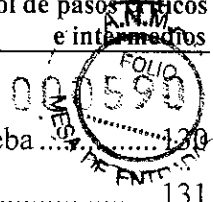
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.



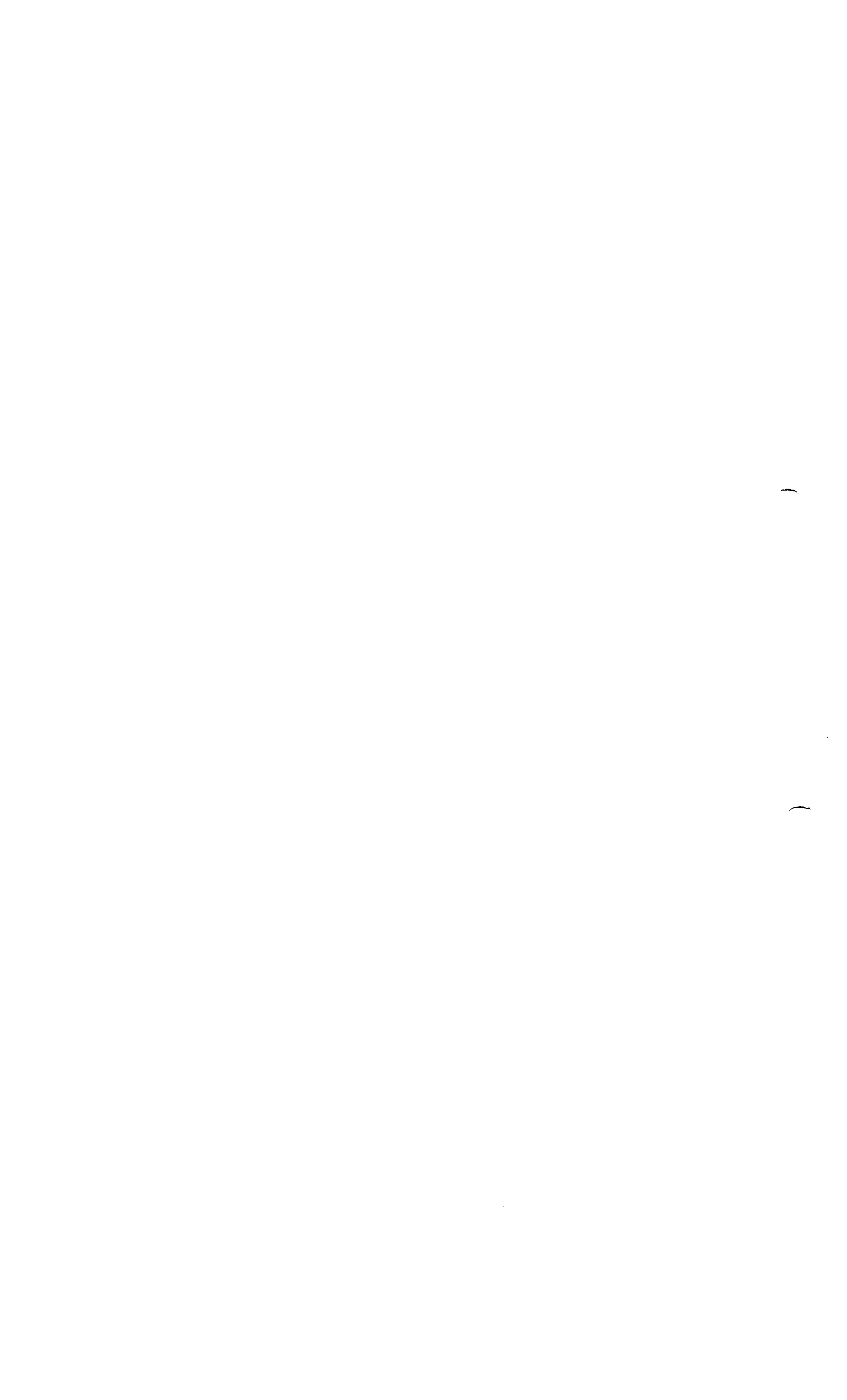


3.3.4.1.1	Panorama .....	
3.3.4.1.2	Resultados .....	104
3.3.4.1.3	Conclusión .....	108
3.3.4.2	Contenido de formaldehído residual .....	108
3.3.4.2.1	Panorama .....	108
3.3.4.2.2	Resultado .....	109
3.3.4.2.3	Conclusión .....	113
3.3.4.3	Cinética de inactivación .....	113
3.3.4.3.1	Panorama .....	113
3.3.4.3.2	Resultado .....	114
3.3.4.3.3	Conclusión .....	115
3.3.4.4	Inactivación efectiva .....	115
3.3.4.4.1	Panorama .....	115
3.3.4.4.2	Resultados .....	116
3.3.4.4.3	Conclusión .....	117
3.4	Análisis de lotes .....	118
3.4.1	Genealogía de los lotes .....	118
3.4.2	Análisis de lotes .....	120
3.5	Justificación de las especificaciones .....	127
3.5.1.1	Células de control y sobrenadantes de células de control .....	127
3.5.1.2	Cosechas únicas de virus (tipo 1, 2 y 3) .....	127
3.5.1.3	Suspensiones virales purificadas y concentradas (tipo 1, 2 y 3) .....	128
3.5.1.4	Monovalentes (tipo 1, 2 y 3) .....	128
3.6	Sistema de cierre del envase .....	129
3.6.1.1	Identidad de los materiales de construcción .....	129
3.6.1.2	Idoneidad .....	129
3.7	Estabilidad .....	130
3.7.1	Estabilidad de la suspensión viral purificada concentrada .....	130
3.7.1.1	Resumen y conclusiones de estabilidad .....	130
3.7.1.1.1	Lotes analizados .....	130
3.7.1.2	Panorama del estudio de estabilidad .....	130





3.7.1.2.1	Parámetros estudiados / criterios de aceptación y frecuencia de prueba	130
3.7.1.2.2	Discusiones	131
3.7.1.3	Datos de estabilidad	131
3.7.2	Estabilidad del monovalente	133
3.7.2.1	Resumen y conclusiones de estabilidad	133
3.7.2.1.1	Panorama de los estudios de estabilidad	133
3.7.2.1.2	Lotes analizados	133
3.7.2.1.3	Parámetros estudiados / criterios de aceptación y frecuencia de pruebas	135
3.7.2.1.4	Discusiones	136
3.7.2.2	Datos de estabilidad	136





## Lista de tablas

Tabla 1: Pasos críticos del proceso de elaboración del trivalente concentrado.....	13
Tabla 2: Especificaciones para las células de control .....	14
Tabla 3: Especificaciones para los sobrenadantes celulares.....	15
Tabla 4: Especificaciones de las cosechas únicas de virus (tipos 1, 2 y 3).....	15
Tabla 5: Especificaciones de las suspensiones virales purificadas concentradas (tipo 1, 2 y 3).....	16
Tabla 6: Especificaciones para los monovalentes (tipos 1, 2 y 3).....	17
Tabla 7: Panorama de las pruebas realizadas en los productos intermedios .....	18
Tabla 8: Preparación de las células .....	32
Tabla 9: Preparación de la amplificación .....	32
Tabla 10: Preparación de las células de siembra .....	33
Tabla 11: Preparación del rango de calibración .....	38
Tabla 12: Prueba de virus hemadsorbentes: resumen de validación .....	44
Tabla 13: Datos brutos para el efecto citopático .....	45
Tabla 14: Datos brutos para la prueba de hemadsorción.....	45
Tabla 15: Resultados estadísticos del efecto citopático .....	46
Tabla 16: Resultados estadísticos de la hemadsorción con virus de la parainfluenza tipo 3 .....	46
Tabla 17: Prueba de detección de agentes extraños con células: resumen de validación .....	49
Tabla 18: Datos brutos para la línea celular continua Vero .....	50
Tabla 19: Datos brutos para células diploides humanas MRC-5 .....	50
Tabla 20: Datos brutos para células primarias de riñón de mono .....	50
Tabla 21: Resultados estadísticos para la línea celular continua Vero.....	51
Tabla 22: Resultados estadísticos para células diploides humanas MRC-5.....	51
Tabla 23: Resultados estadísticos para células primarias de riñón de mono.....	52
Tabla 24: Cepas de <i>Mycoplasma</i> utilizadas durante la validación .....	52



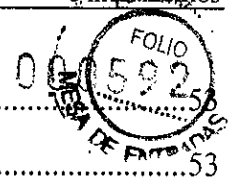


Tabla 25: Medios utilizados (líquidos y sólidos) para la validación .....53

Tabla 26: Cuantificación de UFC en cada cepa .....53

Tabla 27: Resultados obtenidos en el sobrenadante de las células de control.....54

Tabla 28: Resultados obtenidos en la cosecha única.....55

Tabla 29: Resultados obtenidos en el sobrenadante de las células de control.....55

Tabla 30: Resultados obtenidos en la cosecha única.....56

Tabla 31: Resultados obtenidos en el sobrenadante de las células de control.....56

Tabla 32: Resultados obtenidos en la cosecha única.....57

Tabla 33: Tinción de Hoechst: *Mycoplasma orale*.....58

Tabla 34: Tinción de Hoechst: *Mycoplasma hyorhinis* .....58

Tabla 35: Cosecha viral única tipo 1 (lote FA057411) .....60

Tabla 36: Cosecha viral única tipo 2 (lote FA054049) .....60

Tabla 37: Cosecha viral única tipo 3 (lote FA054056) .....60

Tabla 38: Identificación del serotipo de poliovirus .....61

Tabla 39: Resultados de la validación .....62

Tabla 40: Linealidad: títulos infecciosos medidos frente a títulos infecciosos teóricos previstos (log<sub>10</sub>(DICC<sub>50</sub>/mL)) .....64

Tabla 41: Exactitud: Recuperación porcentual promedio .....69

Tabla 42: Exactitud: Recuperación porcentual promedio .....69

Tabla 43: Exactitud: recuperación porcentual promedio .....70

Tabla 44: Concentración del virus de la poliomieltis (log<sub>10</sub> DICC 50/mL).....70

Tabla 45: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 1 .....71

Tabla 46: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 2 .....71

Tabla 47: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 3 .....71



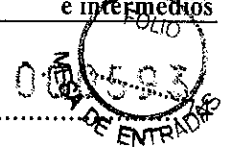


Tabla 48: Contenido proteico: resumen de validación.....

Tabla 49: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 1 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )..... 75

Tabla 50: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 2 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )..... 79

Tabla 51: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 3 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )..... 81

Tabla 52: Correspondencia entre el volumen de la muestra de prueba y el nivel de concentración ..... 83

Tabla 53: Exactitud del tipo 1: porcentaje de recuperación ..... 83

Tabla 54: Exactitud del tipo 2: porcentaje de recuperación ..... 83

Tabla 55: Exactitud del tipo 3: porcentaje de recuperación ..... 84

Tabla 56: Precisión: concentración de proteína en la muestra del tipo 1 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) ..... 84

Tabla 57: Características de repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus..... 84

Tabla 58: Contenido de antígeno D, resumen de validación..... 86

Tabla 59: Promedios del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 1. 88

Tabla 60: Medias del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 2..... 88

Tabla 61: Medias del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 3..... 88

Tabla 62: Resultados de la reactividad cruzada entre los tres tipos ..... 88

Tabla 63: Linealidad: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada diluida ( $\text{UD}/\text{mL}$ ).. 89

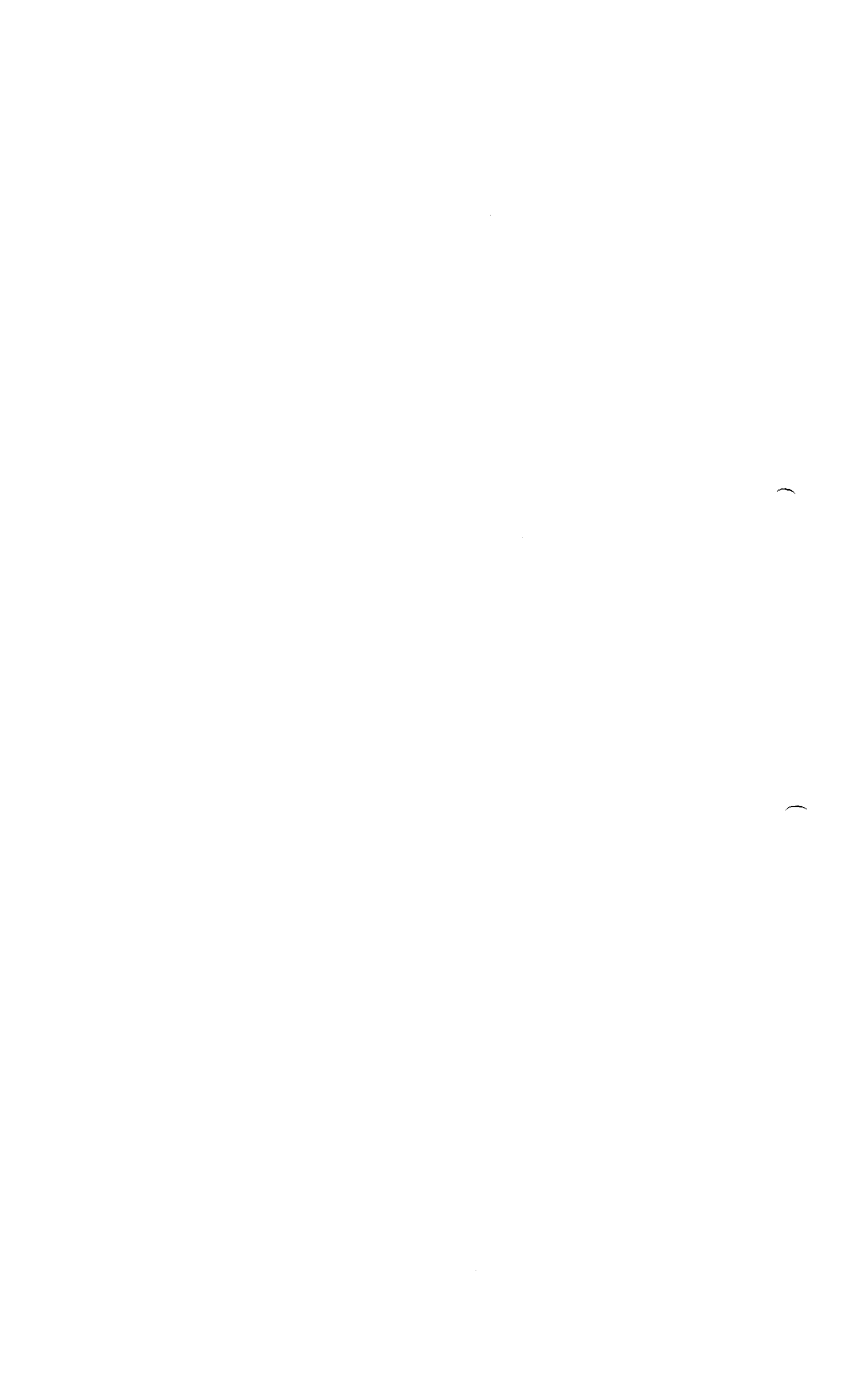
Tabla 64: Linealidad: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada con agregado ( $\text{UD}/\text{mL}$ )..... 90

Tabla 65: Linealidad: títulos teóricos y medidos de antígeno D en la suspensión viral concentrada diluida y con agregado ( $\text{UD}/\text{mL}$ ) ..... 92

Tabla 66: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulación teóricos previstos de antígeno D, tipo 1 ..... 99

Tabla 67: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulación teóricos previstos de antígeno D, tipo 2 ..... 99

Tabla 68: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulación teóricos previstos de antígeno D, tipo 3 ..... 100



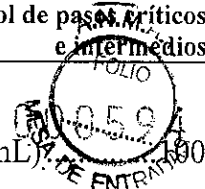


Tabla 69: Precisión: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada (UD/mL) .....100

Tabla 70: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 1 .....101

Tabla 71: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 2 .....101

Tabla 72: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 3 .....102

Tabla 73: Contenido proteico, resumen de validación .....104

Tabla 74: Linealidad: concentración de proteína en la muestra (µg/mL) .....105

Tabla 75: Recuperación porcentual promedio .....107

Tabla 76: Precisión: concentración de proteína en la muestra (µg/mL) .....107

Tabla 77: Características de repetibilidad y precisión intermedia .....107

Tabla 78: Contenido de formaldehído residual, resumen de validación .....109

Tabla 79: Concentración de formaldehído en la muestra (µg/mL) .....109

Tabla 80: Factor de concentración calculado a partir del ensayo .....112

Tabla 81: Recuperación porcentual promedio .....112

Tabla 82: Concentración de formaldehído medida en la vacuna (µg/mL) .....112

Tabla 83: Características de repetibilidad y precisión intermedia .....113

Tabla 84: Cinética de inactivación, resumen del procedimiento de validación .....114

Tabla 85: Concentraciones del virus de la poliomielitis (log<sub>10</sub> DICC<sub>50</sub>/mL) .....114

Tabla 86: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la cinética de inactivación .....115

Tabla 87: Inactivación efectiva, resumen del procedimiento de validación .....116

Tabla 88: Resultados de los límites positivos .....116

Tabla 89: Resumen de los límites positivos .....116

Tabla 90: Genealogía del monovalente tipo 1 .....118

Tabla 91: Genealogía del monovalente tipo 2 .....119

Tabla 92: Genealogía del monovalente tipo 3 .....119

Tabla 93: Resultados del análisis de lotes para las células de control: producción de los lotes de tipo 1 .....120

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.



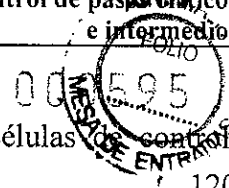


Tabla 94: Resultados del análisis de lotes para los sobrenadantes de las células de control: Producción de los lotes de tipo 1 ..... 120

Tabla 95: Resultados del análisis de lotes para la cosecha viral única: producción de los lotes de tipo 1 ..... 121

Tabla 96: Resultados del análisis de lotes para la producción de suspensión viral purificada y concentrada de los lotes de tipo 1 ..... 121

Tabla 97: Resultados del análisis de lotes para el monovalente de tipo 1 ..... 122

Tabla 98: Resultados del análisis de lotes para las células de control: producción de los lotes de tipo 2 ..... 122

Tabla 99: Resultados del análisis de lotes para los sobrenadantes de las células de control: producción de los lotes de tipo 2 ..... 123

Tabla 100: Resultados del análisis de lotes para la cosecha viral única: producción de los lotes de tipo 2 ..... 123

Tabla 101: Resultados del análisis de lotes para la suspensión viral purificada y concentrada: producción de los lotes de tipo 2 ..... 123

Tabla 102: Resultados del análisis de lotes para el monovalente de tipo 2 ..... 124

Tabla 103: Resultados del análisis de lotes para las células de control: producción de los lotes de tipo 3 ..... 124

Tabla 104: Resultados del análisis de lotes para los sobrenadantes de las células de control: producción de los lotes de tipo 3 ..... 125

Tabla 105: Resultados del análisis de lotes para la cosecha viral única: producción de los lotes de tipo 3 ..... 125

Tabla 106: Resultados del análisis de lotes para la suspensión viral purificada y concentrada: producción de los lotes de tipo 3 ..... 125

Tabla 107: Resultados del análisis de lotes para el monovalente de tipo 3 ..... 126

Tabla 108: Composición del sistema de cierre del envase para el almacenamiento de la cosecha cruda, la suspensión viral purificada y concentrada y el monovalente (tipo 1, 2 o 3) ..... 129

Tabla 109: Lote de suspensión viral purificada concentrada incluido en el estudio de estabilidad ..... 130

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.

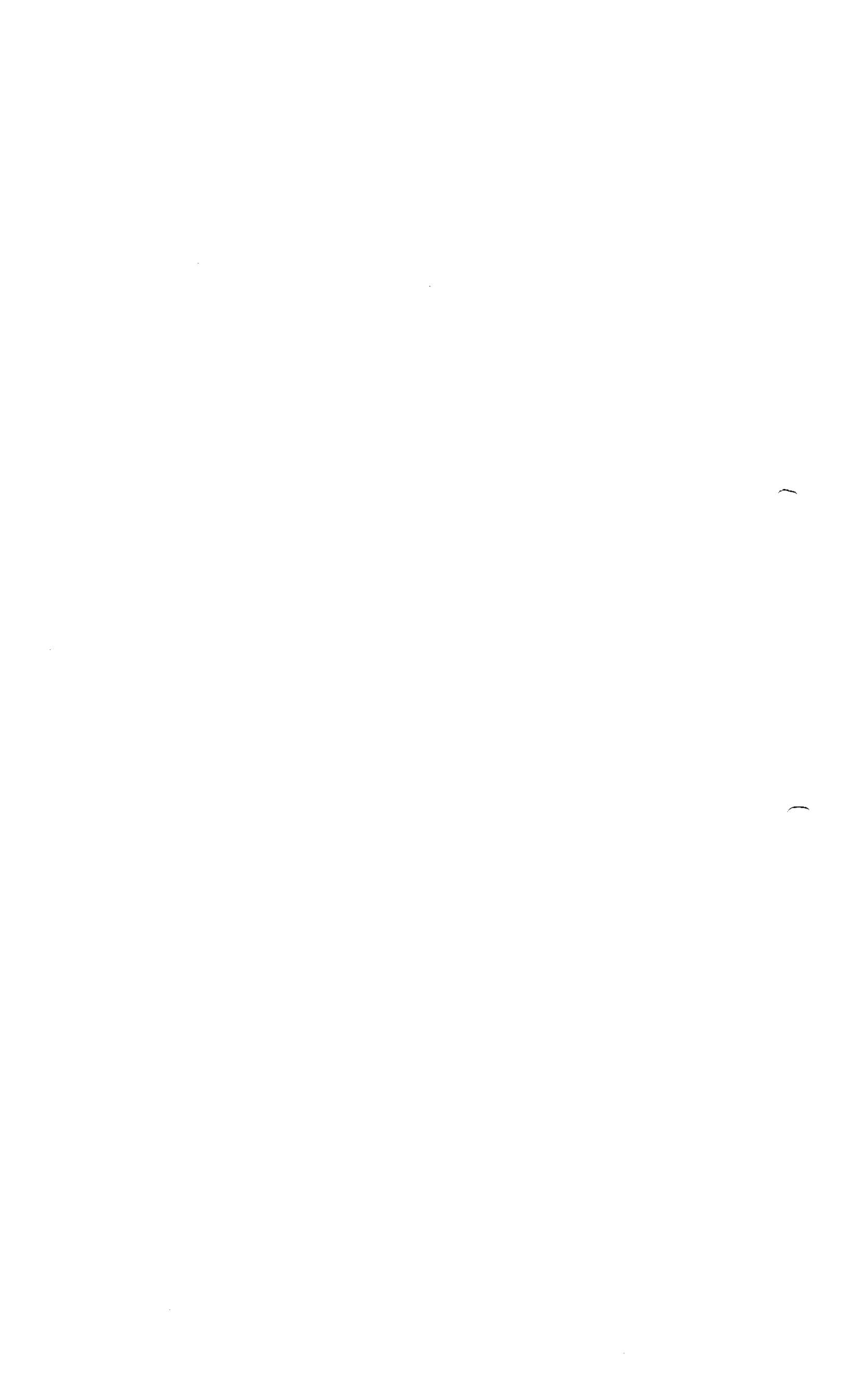




Tabla 110: Parámetros estudiados / criterios de aceptación y frecuencia de pruebas (meses).....130

Tabla 111: Resultados de estabilidad para los lotes de suspensión viral purificada y concentrada almacenados a +5 °C ± 3 °C.....132

Tabla 112: Panorama de los estudios de estabilidad del monovalente de poliomielitis.....133

Tabla 113: Lotes de monovalente tipo 1 incluidos en los estudios de estabilidad .....134

Tabla 114: Lotes de monovalente tipo 2 incluidos en los estudios de estabilidad .....134

Tabla 115: Lotes de monovalente tipo 3 incluidos en los estudios de estabilidad .....134

Tabla 116: Lotes de monovalente tipo 1, tipo 2 y tipo 3 incluidos en los estudios adicionales de estabilidad.....134

Tabla 117: Parámetros estudiados / especificaciones y frecuencia de pruebas (meses) para el estudio inicial de estabilidad (estudio 1) .....135

Tabla 118: Parámetros estudiados / especificaciones y frecuencia de pruebas (meses) para el estudio adicional de estabilidad (estudio 2).....135

Tabla 119: Resultados obtenidos para el estudio de estabilidad (estudio 1) de los lotes de monovalente del tipo 1 almacenados a +5 °C ± 3 °C.....137

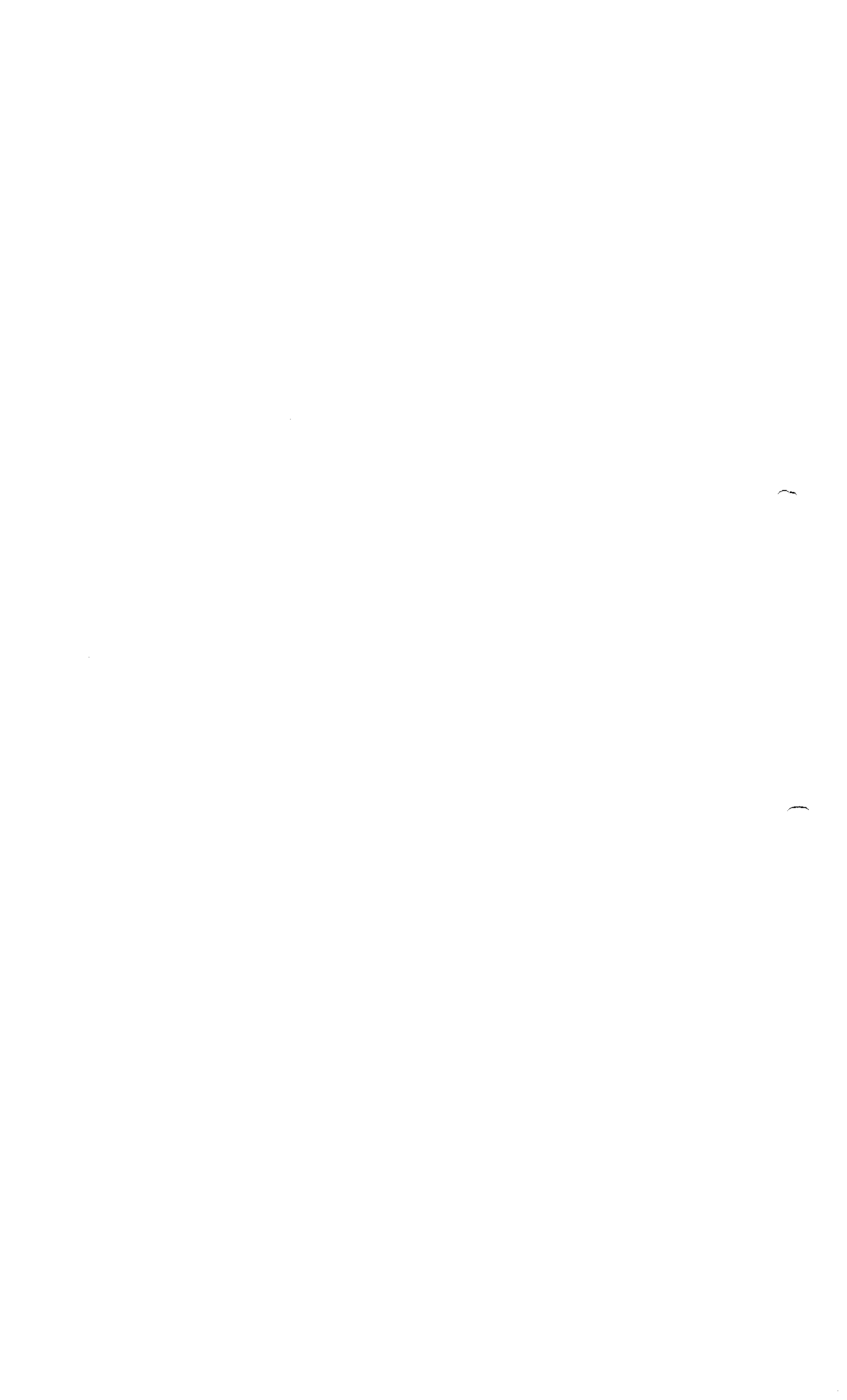
Tabla 120: Resultados obtenidos para el estudio de estabilidad (estudio 1) de los lotes de monovalente del tipo 2 almacenados a +5 °C ± 3 °C.....138

Tabla 121: Resultados obtenidos para el estudio de estabilidad inicial (estudio 1) de los lotes de monovalente del tipo 3 almacenados a +5 °C ± 3 °C.....139

Tabla 122: Resultados obtenidos para el estudio de estabilidad (estudio 2) de los lotes de monovalente del tipo 1, 2 y 3 almacenados a +5 °C ± 3 °C.....140

  
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 Panorama de los pasos críticos del proceso de producción del trivalente concentrado (tipos 1, 2 y 3)

El principio activo, llamado trivalente concentrado, se obtiene al mezclar cantidades definidas de monovalentes de tipo 1, 2 y 3. Cada monovalente se produce por replicación de poliovirus en células Vero. La cosecha única obtenida de esta manera se filtra, concentra, purifica e inactiva con formaldehído.

El proceso de elaboración de monovalentes se describe en cinco pasos que se detallan a continuación (ver las secciones 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular y 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación, llenado, almacenamiento y transporte):

- Cultivo de células Vero (pasos A a E): el objetivo de estos pasos es producir el cultivo de células Vero en el 142° pasaje.
- Producción del cultivo viral y de la cosecha: el objetivo de estos pasos es obtener la cosecha única.
- Paso de concentración: el objetivo de este paso es obtener un volumen adecuado para la purificación por cromatografía.
- Paso de purificación: el objetivo de este paso es purificar y concentrar la cosecha única. Este paso puede afectar la calidad de la suspensión viral purificada y concentrada.
- Paso de inactivación: el objetivo de este paso es inactivar el virus. Este paso puede afectar la calidad del monovalente de tipo 1, 2 o 3.

Se aplican pasos de control de calidad a los siguientes productos intermedios de la producción (ver el capítulo 3.1):

- La cosecha única.
- La suspensión viral purificada y concentrada.
- El monovalente de tipo 1, 2 o 3.
- Además, se aplican pruebas de control de calidad a las células de control y a los sobrenadantes de las células de control.
- Se presentan a continuación las especificaciones, los métodos analíticos de los productos intermedios y los datos de estabilidad para las suspensiones virales purificadas y concentradas y para los monovalentes de los tipos 1, 2 y 3.





## 2 Pasos críticos

Con baseBasándose en los resultados de validación que demuestran que el proceso de elaboración es reproducible y está controlado (ver la sección 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 trivalente concentrado.

**Tabla 1: Pasos críticos del proceso de elaboración del trivalente concentrado**

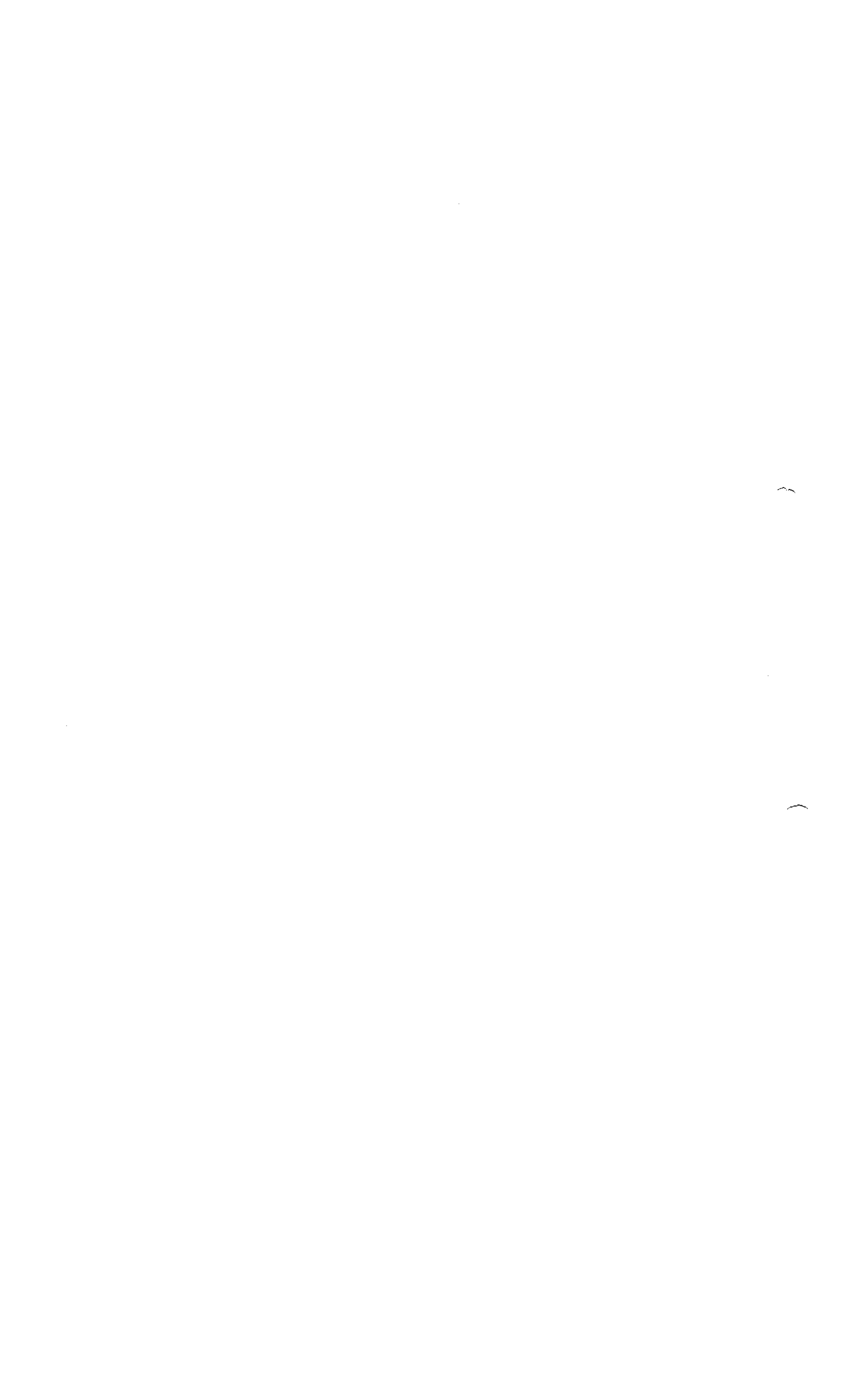
Pasos críticos	Control crítico	Objetivo del paso
Cultivo viral	El paso de cultivo viral se controla con los parámetros de producción: temperatura, pH, duración, M.D.I.*	Garantizar la óptima replicación y propagación de los poliovirus.
Suspensión purificada, GM: cromatografía Hiper cerámica DEAE GM	El paso de suspensión purificada GM se controla con los parámetros de producción: pH, conductividad del concentrado 1 y del tampón de fosfatos, caudal de elución y volumen del soporte.	Garantizar la purificación óptima en la columna cromatográfica con soporte cerámico Hyper D con DEAE, GM.
Suspensión purificada, Sepharose: cromatografía con Sepharose CL6B	El paso de suspensión purificada Sepharose se controla con los parámetros de producción: altura del gel y caudal del tampón de fosfatos.	Garantizar la purificación óptima en la columna cromatográfica con Sepharose CL6B.
Inactivación	El paso de inactivación se controla con los parámetros de producción: temperatura, contenido de formaldehído, duración.	Evitar la agregación de virus (requisitos de la OMS y de la Ph. Eur.) y garantizar la inactivación efectiva de poliovirus

\* M.D.I.: multiplicidad de infección.

*Nota: el estudio de estabilidad de productos intermedios (graneles de cosecha cruda, suspensión viral purificada concentrada y monovalente) se considera también un paso crítico. Se ofrece información de los estudios de estabilidad en el capítulo 3.7 y en la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad.*

Estos pasos llevan a cabo de acuerdo con los parámetros de producción y se someten a controles durante el proceso (se detallan en la sección 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular, 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación, llenado, almacenamiento y transporte y en la sección 3.2.S.2.5 Validación y/o evaluación del proceso).

Por otra parte, durante los distintos pasos del proceso de elaboración, la verificación de los parámetros de producción, el monitoreo de los controles durante el proceso y los controles de liberación realizados sobre los productos intermedios permiten mantener bajo control estos pasos críticos.





### 3 Productos intermedios

Los productos intermedios incluidos en la elaboración del trivalente concentrado son:

- Células de control y sobrenadantes de células de control.
- Cosechas únicas de virus (tipos 1, 2 y 3).
- Suspensiones virales purificadas concentradas (tipos 1, 2 y 3).
- Monovalentes (tipos 1, 2 y 3).

Cada producto intermedio está sometido a pruebas de control de calidad excepto la cosecha cruda, que es un producto intermedio que no se libera. Los demás productos intermedios deberán cumplir las especificaciones presentadas a continuación.

#### 3.1 Especificaciones

Las especificaciones de los productos intermedios se presentan de la tabla 2 a la tabla 6.

**Tabla 2: Especificaciones para las células de control**

Pruebas	Requisitos	Métodos	Criterios de aceptación
Observación	Ph. Eur. 0214, edición actual. TRS 910	Según la Ph. Eur. 2.6.16, edición actual Detección del efecto citopático mediante microscopía óptica.	Ausencia de efecto citopático causado por agentes extraños.
Prueba de virus hemadsorbentes	Ph. Eur. 0214, edición actual. TRS 910	Según la Ph. Eur. 2.6.16, edición actual Contacto con glóbulos rojos de cobayo.	Ausencia de hemadsorción.
Identificación de células de simio	Ph. Eur. 0214, edición actual TRS 910	Según la Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Análisis de isoenzimas (lactato deshidrogenasa, fosfogluconato deshidrogenasa, glucosa fosfato isomerasa) por enfoque isoeléctrico (IEF).	Identificación positiva.



000600  
 FOLIO  
 MESA DE ENTENDIMIENTOS

**Tabla 3: Especificaciones para los sobrenadantes celulares**

Pruebas	Requisitos	Métodos	Criterios de aceptación
<b>Prueba de agentes extraños utilizando células:</b> - Línea celular continua Vero - Células diploides humanas MRC-5 - Células primarias de riñón de mono	Ph. Eur. 0214, edición actual. TRS 910	Según la Ph. Eur. 2.6.16, edición actual Inoculación de los sobrenadantes en las monocapas de cada tipo de célula. Detección del efecto citopático.	Ausencia de efecto citopático para cada tipo de célula.
<b>Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo</b>	/	Según la Ph. Eur. 2.6.7, edición actual Inoculación en dos medios (líquido y sólido). Incubación en condiciones aerobias y anaerobias.	Sin crecimiento de <i>Mycoplasma</i>
<b>Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por epifluorescencia en cultivo celular</b>	/	Según la Ph. Eur. 2.6.7, edición actual Epifluorescencia.	No se detectó <i>Mycoplasma</i> por epifluorescencia en cultivo celular.

**Tabla 4: Especificaciones de las cosechas únicas de virus (tipos 1, 2 y 3)**

Pruebas	Requisitos	Métodos	Criterios de aceptación
		Verificación de la neutralización del efecto citopático del poliovirus en células sensibles (células Hep-2) con suero específico del tipo.	Positiva: poliovirus tipo 1, 2 o 3.
	Ph. Eur. 0214, edición actual	Observación del efecto citopático del poliovirus en células sensibles (células Hep-2) y cálculo de la dosis infecciosa 50 % de cultivo de tejido (DICC <sub>50</sub> ).	$\geq 10^7$ DICC <sub>50</sub> /mL.
<b>Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica</b>	Ph. Eur. 0214, edición actual TRS 910	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual Filtración por membrana. Utilización de 2 medios diferentes.	No se observa crecimiento microbiano.
<b>Prueba de detección de <i>Mycoplasma</i> por el método de cultivo</b>	Ph. Eur. 0214, edición actual. TRS 910	Según la Ph. Eur. 2.6.7, edición actual Inoculación en dos medios (líquido y sólido). Incubación en condiciones aerobias y anaerobias.	Sin crecimiento de <i>Mycoplasma</i> .

