



6 Justificación de las especificaciones

Se realizan las pruebas de acuerdo con la monografía 1219 de la Ph. Eur. "Haemophilus type b conjugate vaccine" (vacuna conjugada contra *Haemophilus* tipo b).

- Prueba de identificación de *Haemophilus* tipo b.

La prueba, realizada para verificar la identidad del PRP, se considera positiva cuando se forman líneas de inmunoprecipitación únicamente con el antígeno y su antisuero específico. Esta especificación cumple con los requisitos de la Ph. Eur. monografía 1219.

- Distribución del tamaño molecular: (coeficiente de partición K_D)

El tamaño molecular del PRP es un parámetro importante para evaluar la calidad de la preparación.

El método por cromatografía de alta presión (HP-SEC) corresponde a una técnica reciente, recomendada como una alternativa a la cromatografía de baja presión (LP-SEC) para la prueba de distribución del tamaño molecular de la Ph. Eur., monografía 1219 "Haemophilus type b conjugate vaccine" (vacuna conjugada contra *Haemophilus* tipo b).

Se estableció el criterio de aceptación ($K_D \leq 0.31$) mediante un estudio estadístico de los resultados de 60 lotes industriales, teniendo en cuenta el proceso y la capacidad analítica. La evaluación estadística consistió en el cálculo del límite superior de tolerancia después de verificar la normalidad de la población. El límite superior del intervalo de tolerancia (1 % de riesgo) fue de 0,309, con un K_D medio obtenido de 0,2269 y una desviación estándar de 0,0027.

- Contenido de ribosa

Se puede calcular la calidad del polisacárido mediante la medición del contenido de ribosa, ya que es un componente del PRP; el contenido teórico de ribosa es del 40 %.

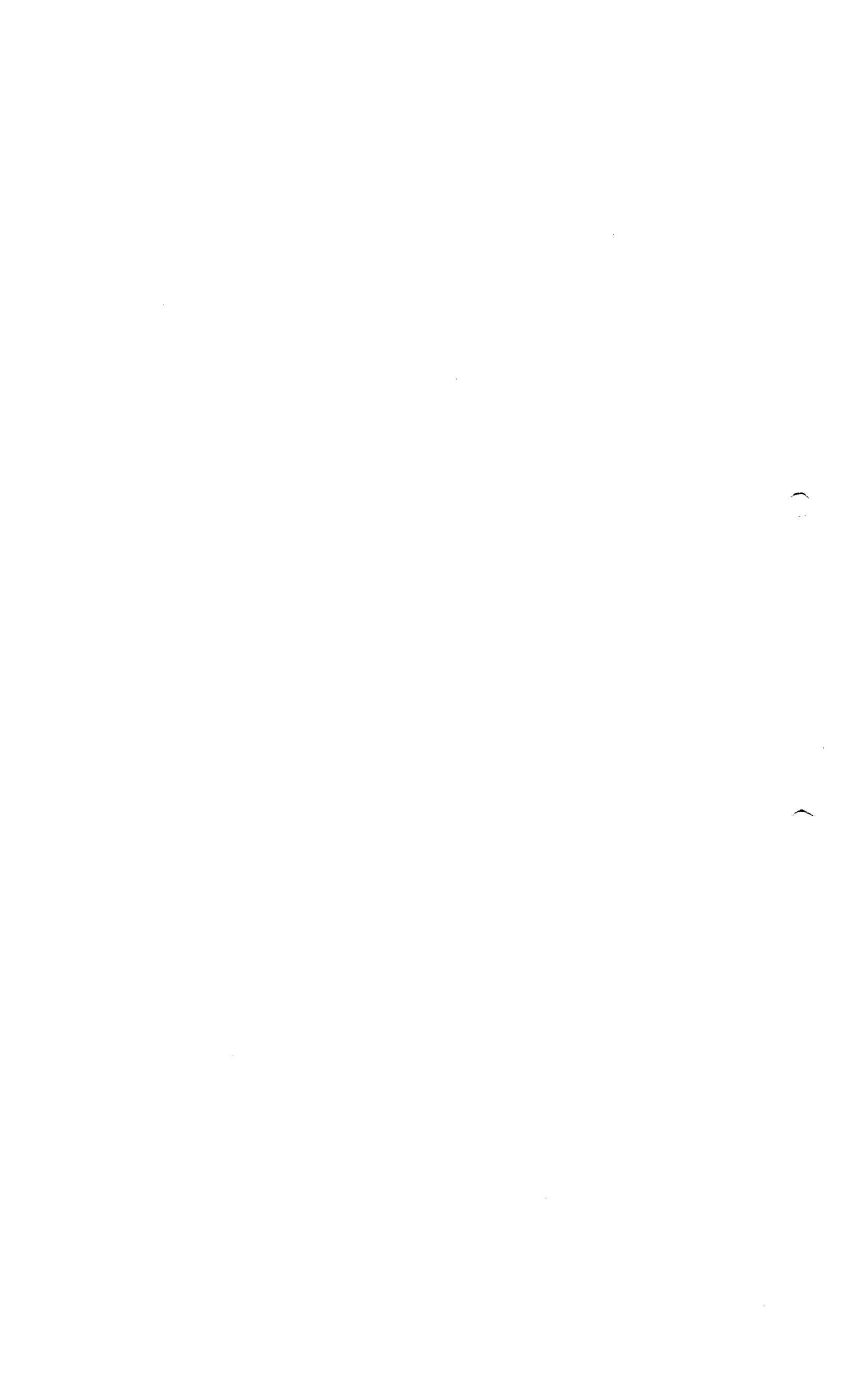
Se estableció el criterio de aceptación (≥ 35 %) mediante un estudio estadístico de los resultados de 110 lotes industriales, teniendo en cuenta el proceso y la capacidad analítica. La evaluación estadística consistió en el cálculo del límite inferior de tolerancia después de verificar la normalidad de la población. El límite inferior de tolerancia fue del 34,5 %, con un contenido de ribosa medio obtenido del 39,25 % y una desviación estándar de 1,566.

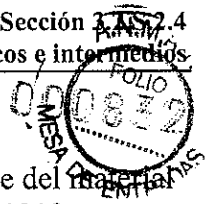
- Contenido de fósforo

Se calcula el contenido de fósforo para determinar el contenido de polisacárido. El contenido teórico de fósforo es del 8,4 %.

Se estableció el criterio de aceptación (7,5 - 9,4 %) mediante un estudio estadístico de los resultados de 110 lotes industriales, teniendo en cuenta el proceso y la capacidad analítica. La evaluación estadística consistió en calcular los límites de tolerancia después de verificar la normalidad de la población. Los límites de tolerancia del intervalo fueron del 7,5 al 9,4 %; se obtuvo un contenido medio de fósforo del 8,44 % y una desviación estándar de 0,315.

- Contenido proteico





Se mide el contenido proteico para determinar la contaminación residual proveniente del material bacteriano. Esta especificación cumple con los requisitos de la Ph. Eur. monografía 1219.

- Contenido de ácidos nucleicos

Se mide el contenido de ácidos nucleicos para determinar la contaminación residual proveniente del material bacteriano y para verificar su eliminación. Esta especificación cumple con los requisitos de la Ph. Eur. monografía 1219.

- Contenido de endotoxinas bacterianas

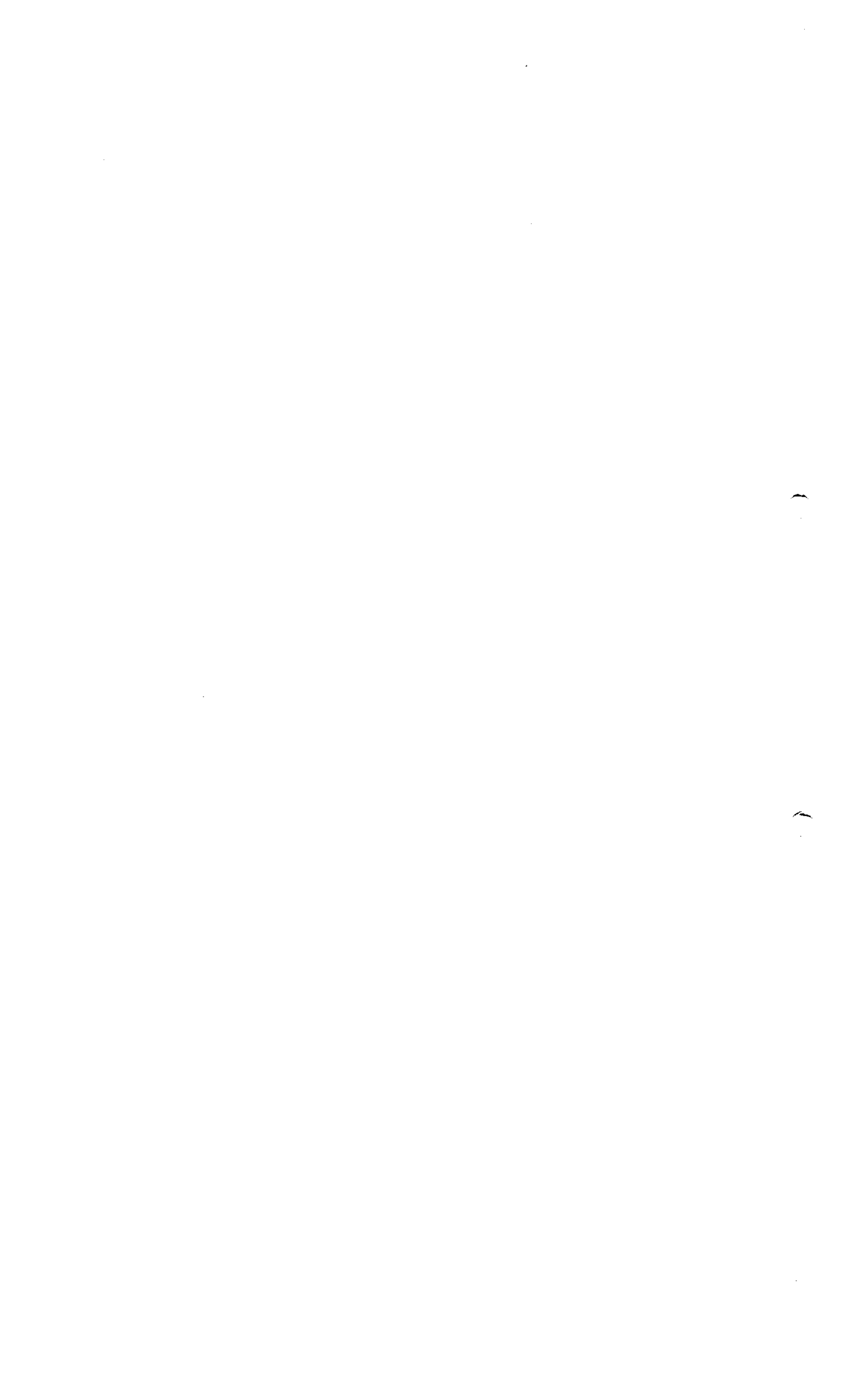
El contenido de endotoxinas bacterianas se mide para detectar los posibles contaminantes con endotoxinas que provienen de bacterias gram negativas. Los criterios de aceptación aplicados por Sanofi Pasteur; es decir <10 UI/ μ g de polisacárido, cumplen con la revisión propuesta de la monografía 1219 de la Ph. Eur. (Farmacopea Europea 22.4).

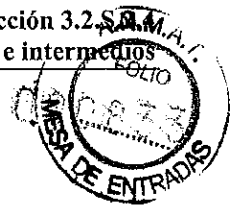
- Prueba de pirógenos

Como prueba complementaria de la medición de endotoxinas, se realiza la prueba de pirógenos para comprobar la ausencia de actividad pirogénica en la preparación.

- Reactivos residuales

No se realiza la prueba del contenido de formaldehído residual, ya que un estudio de validación específico ha demostrado su eliminación total. Además, la prueba del contenido de fenol residual no se lleva a cabo en el PRP sino en el PRP-T.



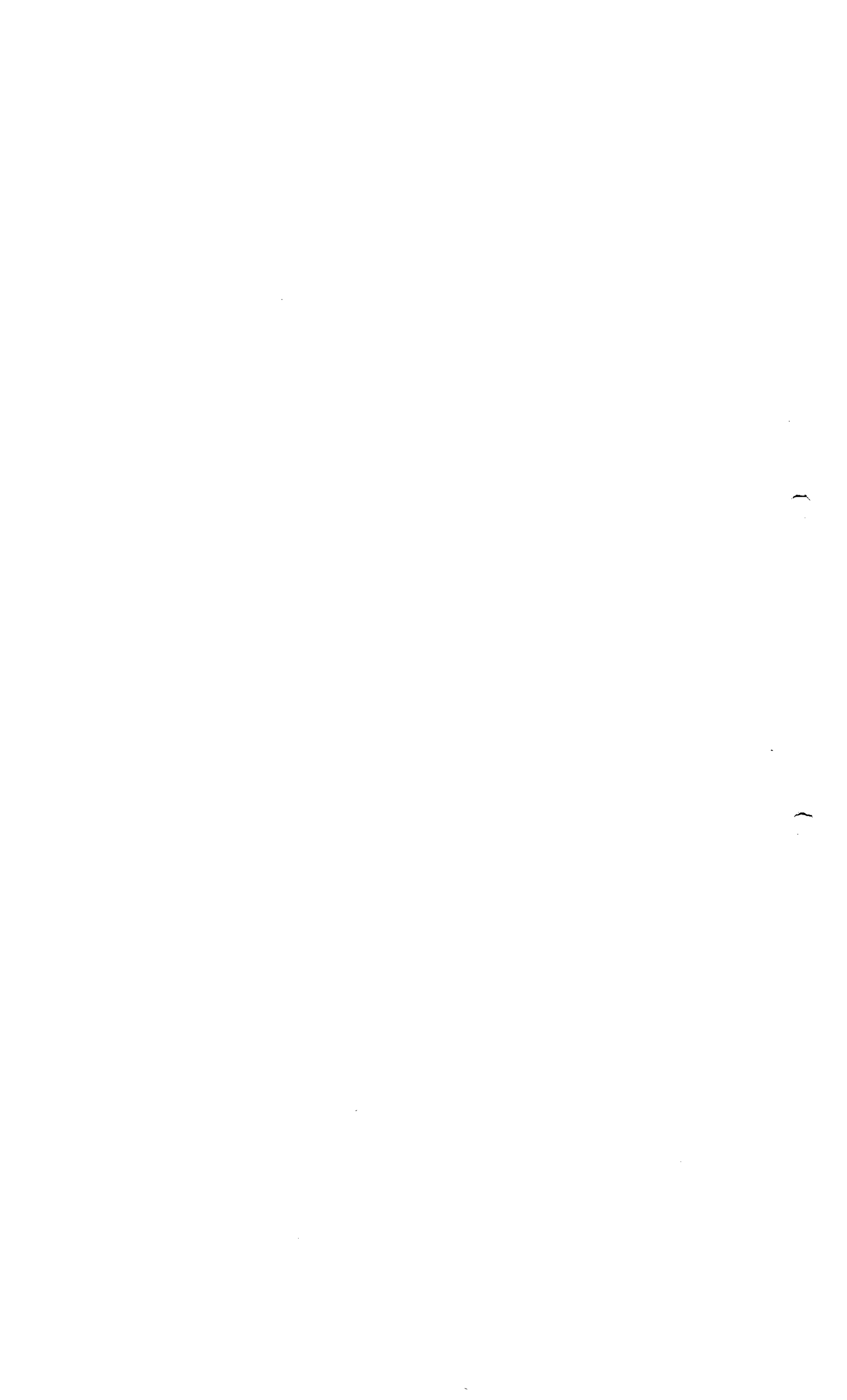


7 Sistema de cierre del envase

La composición del sistema de cierre del envase para los productos intermedios almacenados se presenta en detalle en la tabla 32.

Tabla 32: Composición del sistema de cierre del envase para almacenar los intermedios

Producto	Sistema de cierre del envase
Polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b	Envase de vidrio con tapón de goma
Microgránulos de ceftriaxona	Envase de acero inoxidable
Producto intermedio	Envase de policarbonato





8 Estabilidad

8.1 Estudio de estabilidad del PRP después del almacenamiento del microgránulo de ceftriaxona

8.1.1 Resumen de estabilidad y conclusiones

8.1.1.1 Protocolo del estudio

Durante el proceso de elaboración, los microgránulos de ceftriaxona (fin de la etapa 1.6, vea la sección 3.2.S.2.2 Cultivo celular y cosecha) se pueden almacenar durante 9 meses. Para validar las condiciones de almacenamiento (temperatura y duración), se realizaron estudios de estabilidad en tres lotes industriales de PRP elaborados con tres lotes de microgránulos de ceftriaxona almacenados durante, por lo menos, 9 meses a ≤ -20 °C.

Se almacenaron los tres lotes de PRP durante 60 meses a ≤ -35 °C, lo cual corresponde a las condiciones de almacenamiento del PRP, con el mismo diseño del estudio y plan de prueba descritos en el capítulo 8.3 para el estudio de estabilidad del PRP. El PRP producido después del almacenamiento de los microgránulos de ceftriaxona debe cumplir con las especificaciones presentadas en el capítulo 8.3. El estudio de estabilidad para los tres lotes de PRP se ha concluido.

8.1.1.2 Diseño del estudio

Se evaluaron las condiciones de almacenamiento para el producto intermedio analizando los lotes de polisacárido de *Haemophilus* tipo b producidos después de almacenar los microgránulos de ceftriaxona a ≤ -20 °C. Las características de los tres lotes de microgránulos de ceftriaxona, así como de los tres lotes de PRP relacionados, se presentan en la tabla 33.

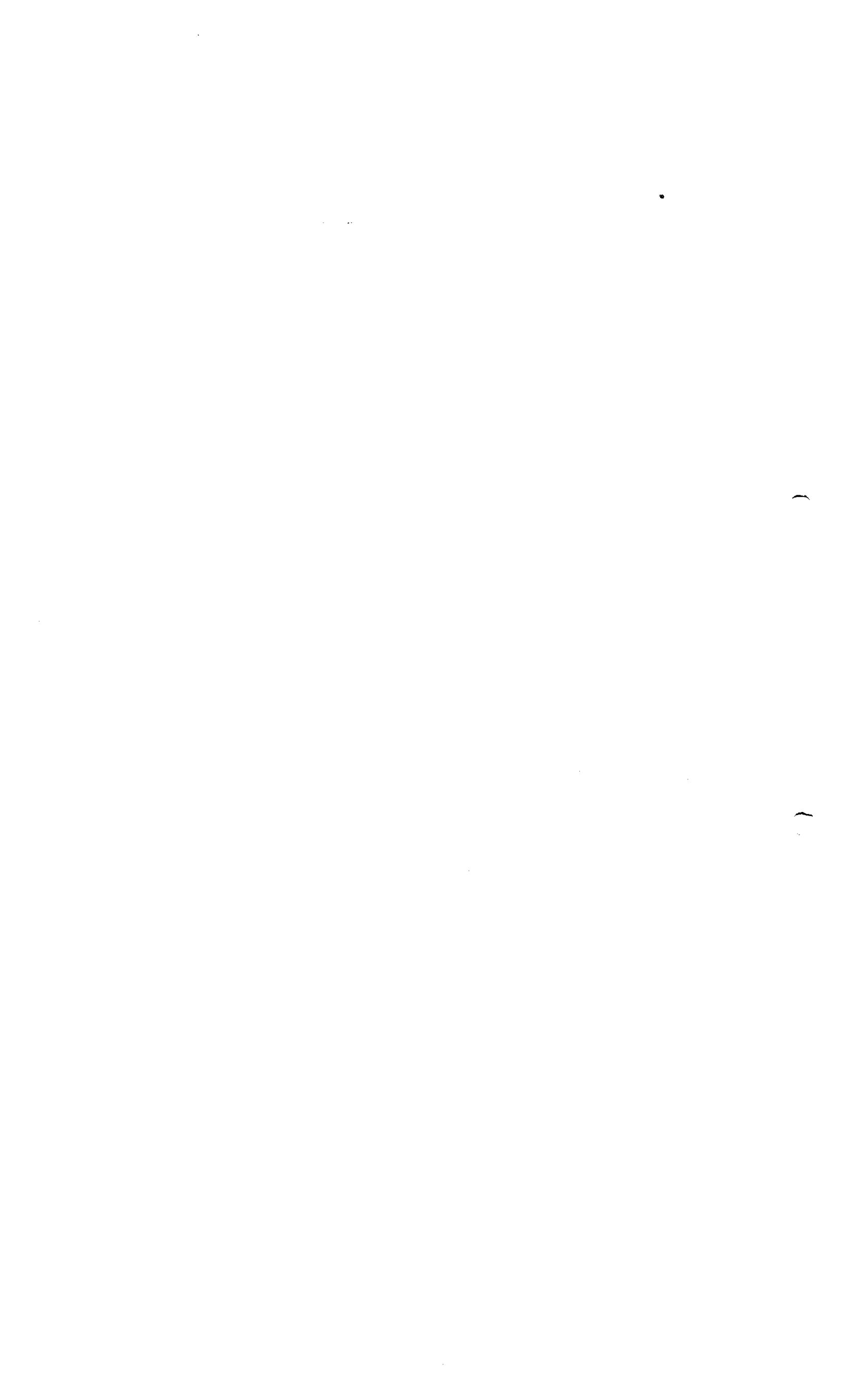




Tabla 33: Información general sobre los lotes de microgránulos de ceftriaxona y de PRP relacionados

Nombre del producto	Microgránulo de ceftriaxona		
Número de lote	FA007820	FA009478	FA177598
Duración del almacenamiento antes del uso	19 meses	16 meses	9 meses
Recipiente	Acero inoxidable		
Nombre del producto	Lotes relacionados de polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b		
Número de lote	FA035341* 11 feb. 2000	FA035342* 16 feb. 2000	FA199674 14 ene 2005
Tipo de lote	Lotes industriales		
Recipiente	Envase de vidrio lleno para imitar las condiciones normales de almacenamiento.		
Vida útil	60 meses a ≤ 35 °C para el PRP		

* Esos dos lotes corresponden a los lotes de PRP almacenados en un estudio de estabilidad para determinar la vida útil del PRP (vea capítulo 7.3)

8.1.1.3 Pruebas seleccionadas y criterios de aceptación

Las pruebas seleccionadas y los criterios de aceptación utilizados en los estudios de estabilidad del PRP se proporcionan en el capítulo 8.3.1.3.

8.1.1.4 Procedimientos analíticos

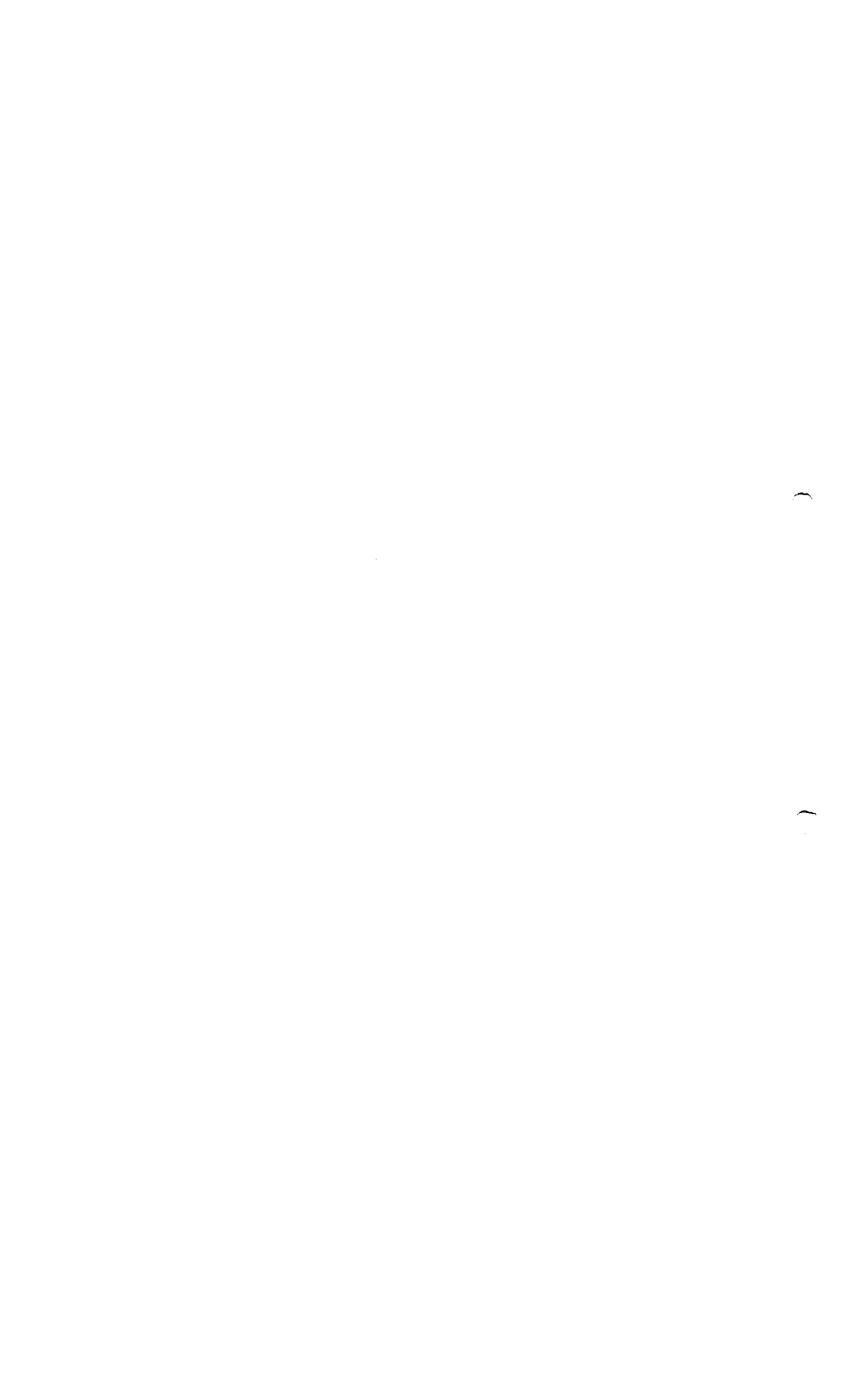
Los procedimientos analíticos utilizados en los estudios de estabilidad del PRP se presentan en el capítulo 8.3.1.4.

8.1.1.5 Discusión y conclusión

Todos los lotes de PRP elaborados después de almacenar los microgránulos de ceftriaxona durante, por lo menos, 9 meses a ≤ -20 °C en envases de acero inoxidable cumplen con las especificaciones y son estables cuando se almacenan en condiciones de largo plazo (≤ -35 °C).

Almacenar los microgránulos de ceftriaxona durante al menos 9 meses a ≤ -20 °C en recipientes de acero inoxidable no afecta la calidad del PRP.

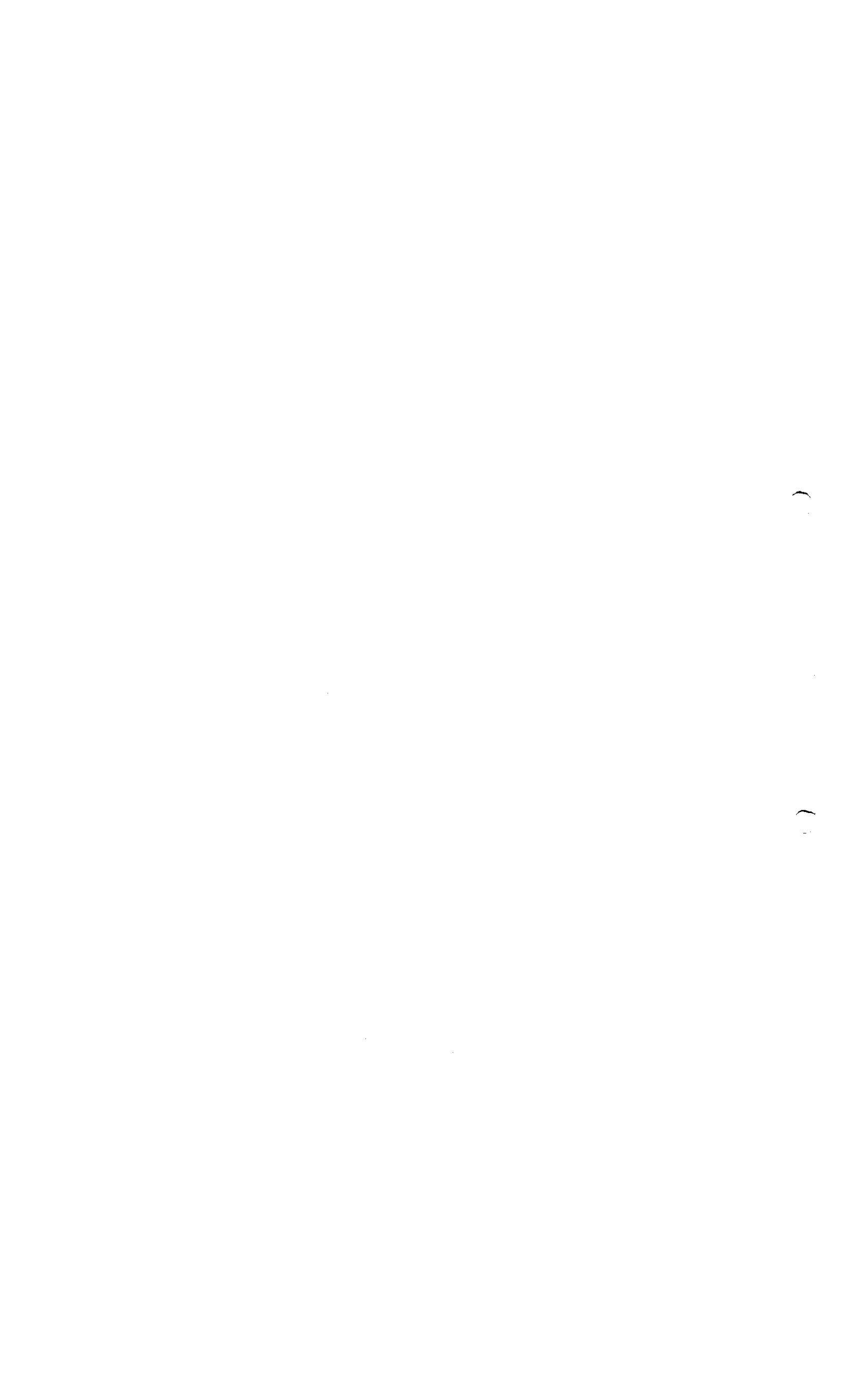
Si bien los lotes de PRP elaborados a partir de microgránulos de ceftriaxona almacenados durante 19 meses, 16 meses y 9 meses son estables, se selecciona la vida útil de 9 meses a ≤ -20 °C para los microgránulos de ceftriaxona.





8.1.2 Datos de estabilidad

Los resultados obtenidos para los 3 lotes de polisacárido de *Haemophilus* tipo b (PRP) elaborados con microgránulos de ceftriaxona almacenados a ≤ 20 °C se presentan en la tabla 40, en la tabla 41 y en la tabla 34.



sanofi pasteur

Granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b

Sección 3.2.S.2.4

Control de pasos críticos e intermedios

Tabla 34: Resultados de estabilidad para el lote FA199674 de PRP almacenado a $\leq 35^{\circ}\text{C}$, elaborado a partir de microgránulos de cetrimida almacenados

Pruebas	Criterios de aceptación*	T0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses
Humedad residual	Para cálculo (%)	6,49	6,54	6,30	6,23	6,49	6,77	4,15	6,26	6,57	6,62
Contenido de fósforo	6,8-9 %	7,35	6,62†	7,26	6,81	7,18	7,20	7,24	7,35	7,33	7,38
Contenido de ribosa	$\geq 32\%$	37,9	34,4	36,0	36,5	34,3	34,6	35,0	Prueba Iatípica: 46,7 Prueba 2: 36,1 Prueba 3: 35,4 Prueba 4: 34,6 Promedio de 3 pruebas: 35,4	35,2	35,4
Contenido proteico	$\leq 1,0\%$	$< 0,11$	$< 0,11$	$< 0,11$	$< 0,11$	$< 0,11$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,11$	$< 0,11$
Contenido de ácidos nucleicos	$\leq 1,0\%$	0,13	0,15	0,13	0,13	0,15	0,12	0,14	0,17	0,14	0,14
Contenido de endotoxinas bacterianas	$< 25 \text{ UI}/\mu\text{g}$	0,80	0,90	1,25	1,63	1,16	0,62	1,48	0,38	1,29	1,20
Distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (% de polisacárido eluido antes de K_D de 0,30)	$> 50\%$ de monómero	69,4	66,0	63,6†	61,1	61,2	65,0	59,5	65,1	63,4	62,8
Identificación de <i>Haemophilus</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura)	(0,02 - 0,00 - 0,17)	R1: (0,46 - 0,46 - 0,24) R2: (0,11 - 0,08 - 0,22) Suma para 6 conejos =	(0,18 - 0,08 - 0,00)	(0,08 - 0,17 - 0,05)	(0,04 - 0,03 - 0,10)	(0,13 - 0,19 - 0,10)	(0,16 - 0,01 - 0,31)	R1: (0,55 - 0,36 - 0,30) R2: (0,35 - 0,20 - 0,21) Suma para 6 conejos:	(0,15 - 0,19 - 0,28)	(0,18 - 0,08 - 0,13)

RA 9302397

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Información confidencial/propietaria

Página 54 de 73




sanofi pasteur
Granel de polisacárido conjugado de Haemophilus tipo b


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

	≤+1,15 °C para la prueba en 3 conejos)	0,19	+1,58°C que cumple con la Ph. Eur.§	0,26	0,31	0,17	0,41	0,47	+1,96 °C que cumple con la Ph. Eur.§	0,61	0,39
--	--	------	-------------------------------------	------	------	------	------	------	--------------------------------------	------	------

*
†
‡
§

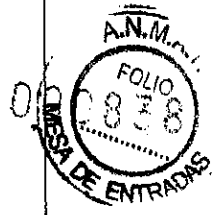
Vea la explicación incluida en el capítulo 8.3.1.3 para consultar las diferencias en relación con los criterios de aceptación de las pruebas de aprobación del PRP (capítulo 1)
Vea explicación en el capítulo 8.3.1.5
Prueba realizada a los 7 meses
La temperatura Δ fue superior a los +1,15 °C para la prueba en los 3 conejos iniciales. Aun así, la suma fue inferior a 2,65 °C, como se recomienda en la Ph. Eur. 2.6.8 la prueba se repitió después. Según los requisitos de la Ph. Eur., se calculó la suma de las diferencias de la temperatura medida en los 6 conejos y el resultado obtenido es inferior a 2,80 °C, lo que demuestra el cumplimiento de la Ph. Eur. 2.6.8.

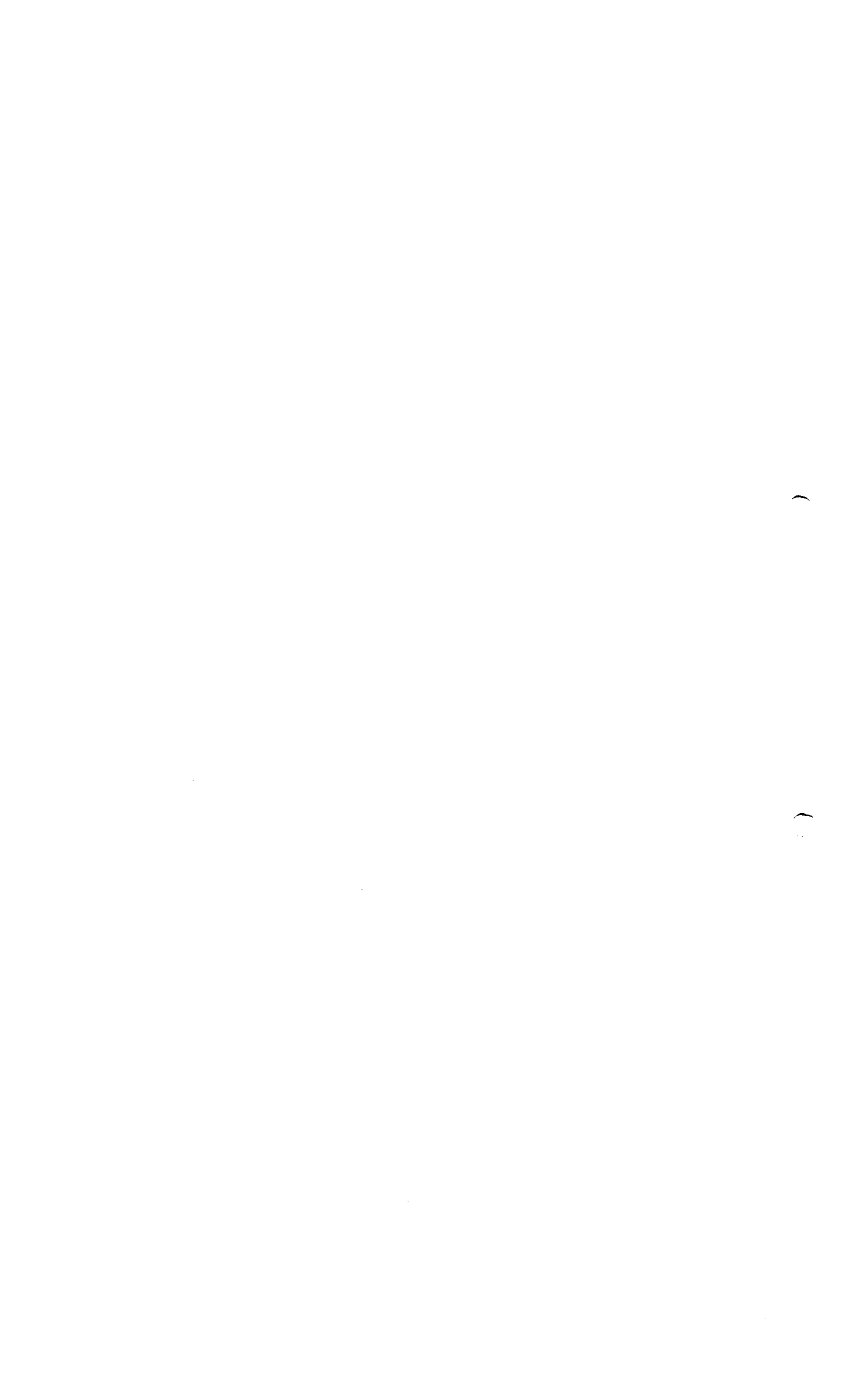

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

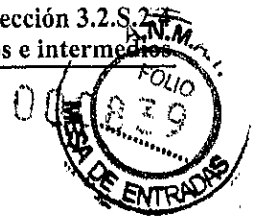

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA 0302397

Información confidencial/proprietaria
Página 55 de 73







8.2 Estudio de estabilidad del PRP tras el almacenamiento del producto intermedio

8.2.1 Resumen y conclusiones de estabilidad

8.2.1.1 Diseño de estabilidad

Durante el proceso de elaboración, el producto intermedio (fin de la etapa 1.7, vea la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación) se puede almacenar durante 3 meses. Para validar las condiciones de almacenamiento del producto intermedio, se realizó un estudio en 3 lotes de producción consecutivos. Estos lotes de producto intermedio fueron divididos en dos partes:

- Se purificaron 2/3 de cada lote hasta la etapa de polisacárido (PRP) de *Haemophilus* tipo b sin almacenamiento (que corresponde al momento T0 del estudio del producto intermedio);
- se desecó 1/3 de cada lote durante, por lo menos, 10 horas (tal como se describe en la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación) y se almacenó a una temperatura de ≤ -20 °C durante 3 meses antes del proceso de purificación del PRP (que corresponde al momento de 3 meses del estudio del producto intermedio).

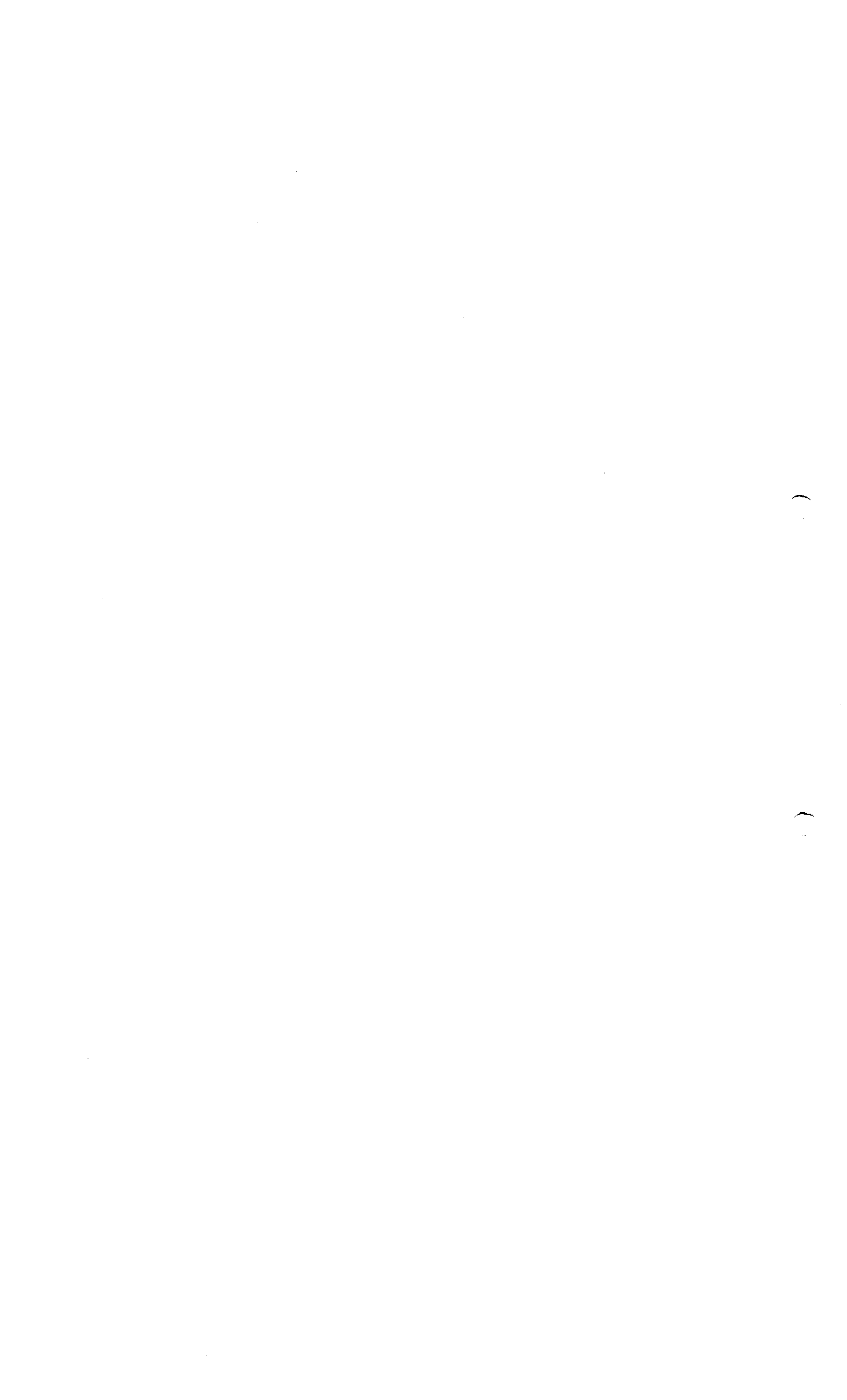
Al final del proceso de purificación (final de la etapa 1.10, de la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación), los lotes de PRP producidos, sin almacenamiento y después del almacenamiento del producto intermedio, deben cumplir con las especificaciones que se presentan en el capítulo 8.3.

8.2.1.2 Protocolo de estabilidad

Se evaluaron las condiciones de almacenamiento para el producto intermedio analizando los lotes de polisacárido de *Haemophilus* tipo b producidos después de la purificación (tal como se describe en la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación). Las características de los seis lotes de PRP se presentan en la tabla 35.

Tabla 35: Información general sobre los lotes de polisacárido de *Haemophilus* tipo b

Lote de producto intermedio	FA077657 02 jul. 2001		FA077660 09 jul. 2001		FA077662 16 jul. 2001	
	FA084751	FA077670	FA084752	FA077671	FA084754	FA077673
Duración de la desecación	Sin desecación	70 h	Sin desecación	71 h 30	Sin desecación	72 h 10
Duración del almacenamiento antes del proceso de purificación	Toda la noche	3 meses	Toda la noche	3 meses	Toda la noche	3 meses
Temperatura de	+5°C	-20°C	+5°C	-20°C	+5°C	-20°C





Lote de producto intermedio	FA077657 02 jul. 2001		FA077660 09 jul. 2001		FA077666 16 jul. 2001	
Lote de PRP	FA084751	FA077670	FA084752	FA077671	FA084754	FA077673
almacenamiento						
Recipiente	/	Policarbonato	/	Policarbonato	/	Policarbonato

8.2.1.3 Pruebas seleccionadas y criterios de aceptación

Las pruebas seleccionadas y los criterios de aceptación utilizados en los estudios de estabilidad del PRP se presentan en el capítulo 8.3.1.3.

8.2.1.4 Procedimientos analíticos

Los procedimientos analíticos utilizados en los estudios de estabilidad del PRP se presentan en el capítulo 8.3.1.4.

8.2.1.5 Discusión y conclusiones

Todos los lotes de PRP purificados sin almacenamiento o después del almacenamiento del producto intermedio durante 3 meses a ≤ -20 °C cumplen con las especificaciones.

La duración del almacenamiento de 3 meses a ≤ -20 °C del producto intermedio no afecta la calidad del PRP.

Con base en estos datos, se puede concluir que el producto intermedio es estable durante 3 meses de almacenamiento a ≤ -20 °C.

8.2.2 Datos de estabilidad

Los resultados obtenidos para los 6 lotes de PRP se presentan en la tabla 36 (lotes producidos sin almacenamiento del producto intermedio y lotes producidos con almacenamiento del producto intermedio durante 3 meses en un envase de policarbonato).



sanofi pasteur
Granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b

Tabla 36: Resultados del control de calidad del polisacárido de *Haemophilus* tipo b después del almacenamiento/sin almacenamiento del producto intermedio

Pruebas	Criterios de aceptación*	Lotes del producto intermedio					
		FA077657		FA077660		FA077662	
		Lotes de PRP (indicación de almacenamiento/sin almacenamiento del producto intermedio antes de la purificación)					
		Sin almacenamiento del producto intermedio FA084751	Almacenamiento de 3 meses del producto intermedio FA077670	Sin almacenamiento del producto intermedio FA084752	Almacenamiento de 3 meses del producto intermedio FA077671	Sin almacenamiento del producto intermedio FA084754	Almacenamiento de 3 meses del producto intermedio FA077673
Contenido de fósforo	6,8 - 9 %	7,5		7,3		7,3	7,4
Contenido de ribosa	≥ 32 %	34,5		34,4		35,5	34,7
Contenido proteico	≤ 1,0 %	< 0,06		< 0,06		< 0,06	< 0,06
Contenido de ácidos nucleicos	≤ 1,0 %	0,07		0,12		0,13	0,12
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 25 UI/µg de polisacárido	0,27		0,49		2,16	5,93
Distribución del tamaño molecular: polisacárido eluido antes de KD 0,30	≥ 50%	68,6		70,6		67,9	72
Prueba de identificación de <i>Haemophilus</i> tipo b	Positivo	Positivo		Positivo		Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura ≤ +1,15 °C para la prueba en 3 conejos)	0,30		0,60		0,95	0,90

Veá la explicación incluida en el capítulo 8.3.1.3 para consultar las diferencias en relación con los criterios de aceptación de las pruebas de aprobación del PRP (capítulo 1)

ROXANA MONTEILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0302397

Información confidencial/proprietaria
Página 58 de 73







8.3 Estudio de estabilidad del polisacárido de *Haemophilus* tipo b (PRP)

8.3.1 Resumen y conclusiones de estabilidad

8.3.1.1 Protocolo del estudio

Los estudios de estabilidad del intermedio de PRP se resumen en la tabla 37.

Tabla 37: Panorama de los estudios de estabilidad del PRP

Polisacárido de <i>Haemophilus</i> tipo b (PRP)		
Objetivo	Avalar la vida útil del PRP a ≤ 35 °C	Confirmar la vida útil del PRP a ≤ -35 °C para los lotes de PRP reprocesados (vea la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación)
Pruebas	Contenido de ribosa Contenido de fósforo Contenido proteico Contenido de ácidos nucleicos Contenido de endotoxinas bacterianas Prueba de pirógenos Distribución del tamaño molecular Prueba de identificación de <i>Haemophilus</i> tipo b Humedad residual	Contenido de ribosa Contenido de fósforo Contenido proteico Contenido de ácidos nucleicos Contenido de endotoxinas bacterianas Prueba de pirógenos Distribución del tamaño molecular Prueba de identificación de <i>Haemophilus</i> tipo b Humedad residual
Diseño del estudio	Número de lotes: 3 Estudio a ≤ -35 °C Calendario (meses): T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24, T36, T48, T60 y T66	Número de lotes: 3 Estudio a ≤ -35 °C Calendario (meses): T0, T3, T6, T9, T12, T18, T24, T36, T48, T60 y T66
Estado	Completado	Completado

8.3.1.2 Diseño del estudio

Se evaluó la estabilidad de tres lotes de PRP analizando el producto almacenado a ≤ 35 °C durante un período de 66 meses. Las características de los lotes se presentan en la tabla 38.





Tabla 38: Información general del producto de los lotes de PRP

Número de lote	FA035341 11 feb. 2000	FA035342 16 feb. 2000	FA049762 21 jul. 2000
Tipo de lote	Lotes industriales		
Recipiente	Envase de vidrio lleno para imitar las condiciones normales de almacenamiento.		
Vida útil	60 meses a ≤ -35 °C		

Se evaluó la estabilidad de tres lotes reprocesados de polisacárido de *Haemophilus* tipo b analizando el producto almacenado a ≤ 35 °C durante un período de 66 meses, para demostrar que el posible reprocesamiento (vea capítulo 1.5 de la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación) no tiene impacto sobre la estabilidad del PRP. Las características de los lotes se presentan en la tabla 39.

Tabla 39: Información general del producto de los lotes de PRP reprocesados

Número de lote	Hi2096R 25 nov. 1998	Hi2120R 16 dic. 1998	Hi2122R 18 dic. 1998
Tipo de lote	Lotes industriales		
Recipiente	Envase de vidrio lleno para imitar las condiciones normales de almacenamiento.		
Vida útil	60 meses a ≤ -35 °C		

8.3.1.3 Selección de pruebas y criterios de aceptación

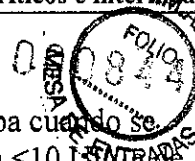
Las pruebas seleccionadas corresponden a las que se aplican para el control de liberación y a las que se les agregan pruebas de humedad residual, ya que esta prueba se utiliza para expresar los resultados cuantitativos del peso seco del polisacárido.

Los criterios de aceptación corresponden a los que se proporcionan en el capítulo 1, excepto para el contenido de fósforo (6,89 %), el contenido de ribosa (≥ 32 %), la distribución del tamaño molecular (porcentaje del polisacárido eluido antes de K_D 0,30 superior al 50 %) y las endotoxinas (< 25 UI/ μ g de polisacárido).

Los criterios de aceptación para los contenidos de fósforo y ribosa corresponden a los criterios aplicados cuando se encontraba vigente la determinación de la humedad residual por termogravimetría, antes de la prueba de Karl Fisher y el contenido de GC. Puesto que los lotes almacenado en estos estudios de estabilidad se elaboraron antes de este cambio, el método de la humedad residual (Ph. Eur. 2.2.34 "Thermal analysis" [análisis térmico]) permaneció sin cambios durante los estudios de estabilidad, al igual que los criterios de aceptación para el contenido de fósforo y ribosa.

El criterio de aceptación para la distribución del tamaño molecular corresponde al criterio que se aplica con el método inicial mediante LP-SEC, ya que los estudios de estabilidad comenzaron cuando el método estaba vigente.





El criterio de aceptación para endotoxinas refleja la especificación que se utilizaba cuando se realizó el estudio. La especificación de liberación ha cambiado desde entonces (a <10 UI/μg de polisacárido) en cumplimiento de la revisión propuesta de la monografía 1219 de la Ph. Eur. (Farmacopea Europea 22.4).

8.3.1.4 Procedimientos analíticos

Los procedimientos analíticos utilizados en los estudios de estabilidad del PRP se incluyen en el capítulo 2, excepto la distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC, el procedimiento analítico utilizado para este análisis se presenta al final de esta sección.

El método para la humedad residual corresponde a la Ph. Eur. 2.2.34 "Thermal analysis" (análisis térmico), termogravimetría.

Los datos de validación de los procedimientos analíticos se presentan en el capítulo 3, excepto la distribución del tamaño molecular mediante LPSEC, los datos de validación para este análisis se presentan al final de esta sección.

8.3.1.5 Discusiones

- PRP sin reprocesamiento

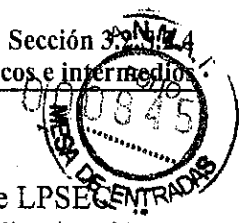
Características fisicoquímicas:

La humedad residual, el contenido de fósforo, el contenido de ribosa y el contenido de ácido nucleico permanecen estables cuando el polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b se almacena a ≤ -35 °C durante 66 meses, sin tendencias que destacar.

Para el lote FA049762, no se pudieron realizar las pruebas de contenido de ácido nucleico ni de humedad residual en el momento de medición de 66 meses debido a la falta de muestra remanente. En consecuencia, los cálculos de los contenidos de fósforo y ribosa se realizaron con el peso bruto del polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b. Este problema no afecta la evaluación de la estabilidad del PRP, ya que el momento de medición de 66 meses se encuentra más allá de la vida útil.

Se observaron algunos resultados fuera de las especificaciones para los contenidos de fósforo y ribosa, que no fueron confirmados estadísticamente en el siguiente momento de medición. Estos resultados fuera de las especificaciones no se deben a una falta de estabilidad del PRP, sino a la falta de exactitud del método analítico de termogravimetría para determinar la humedad residual (productos volátiles). De hecho, se expresan los contenidos de fósforo y ribosa en el porcentaje del peso seco, según el contenido de productos volátiles determinados por la termogravimetría. Se demostró que el método termogravimétrico subestimó sistemáticamente el contenido de productos volátiles. Para el uso de rutina, la determinación del contenido de productos volátiles por termogravimetría (Ph. Eur. 2.2.34 "Thermal analysis" [análisis térmico]) se reemplazó por métodos específicos para los solventes residuales y de agua (por Karl Fisher y CG), que permiten obtener el contenido de fósforo y ribosa cercano a sus valores teóricos. Dichos métodos se aplican actualmente para los controles durante el proceso del PRP (vea la sección 3.2.S.2.2 Cultivo celular y cosecha).





Se destaca una ligera disminución en la distribución del tamaño molecular mediante LPSEC (polisacárido eluido antes de K_D 0,30) durante el almacenamiento a ≤ -35 °C. Esta disminución es inferior al 10 % con respecto a los valores T0 y los resultados se mantienen dentro de los criterios de aceptación después de 66 meses de almacenamiento.

Características de seguridad:

Los resultados del contenido de endotoxinas, la identificación de *Haemophilus* y la prueba de pirógenos se encuentran dentro de las especificaciones después del almacenamiento del polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b durante 66 meses a ≤ -35 °C.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio de estabilidad, podemos concluir que se mantiene la calidad del granel de polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b. El PRP es estable después de un almacenamiento de 66 meses a ≤ -35 °C.

- PRP después del reprocesamiento

No se realizaron algunas pruebas en el momento de medición de 66 meses debido a la falta de muestra remanente. Este problema no afecta la evaluación de la estabilidad del PRP, ya que el momento de medición de 66 meses se encuentra más allá de la vida útil.

Además, si bien el almacenamiento comenzó a los 9 meses después de la elaboración, no se pudieron realizar los momentos de medición de los 3 y 6 meses.

Características fisicoquímicas:

La humedad residual, el contenido de ribosa, el contenido de ácidos nucleicos y la distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (porcentaje de polisacáridos eluidos antes de K_D 0,30) permanecen estables cuando el polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b se almacena a ≤ -35 °C durante 66 meses, sin tendencias que destacar.

Se observaron algunos resultados fuera de las especificaciones para el contenido de fósforo y ribosa, que no fueron confirmados en el siguiente momento de medición (vea las discusiones de "PRP sin reprocesamiento" para consultar las explicaciones).

Características de seguridad:

Los resultados del contenido de endotoxinas, la identificación de *Haemophilus* y la prueba de pirógenos se encuentran dentro de las especificaciones después del almacenamiento del polisacárido purificado de *Haemophilus* tipo b durante 66 meses a ≤ -35 °C.

8.3.1.6 Conclusión

Los resultados proporcionados sobre el PRP reprocesado y no reprocesado permiten avalar una vida útil de 60 meses a ≤ -35 °C.

8.3.2 Datos de estabilidad

- PRP sin reprocesamiento

Los resultados obtenidos para los 3 lotes se presentan en la tabla 40, en la tabla 41 y en la tabla 42.

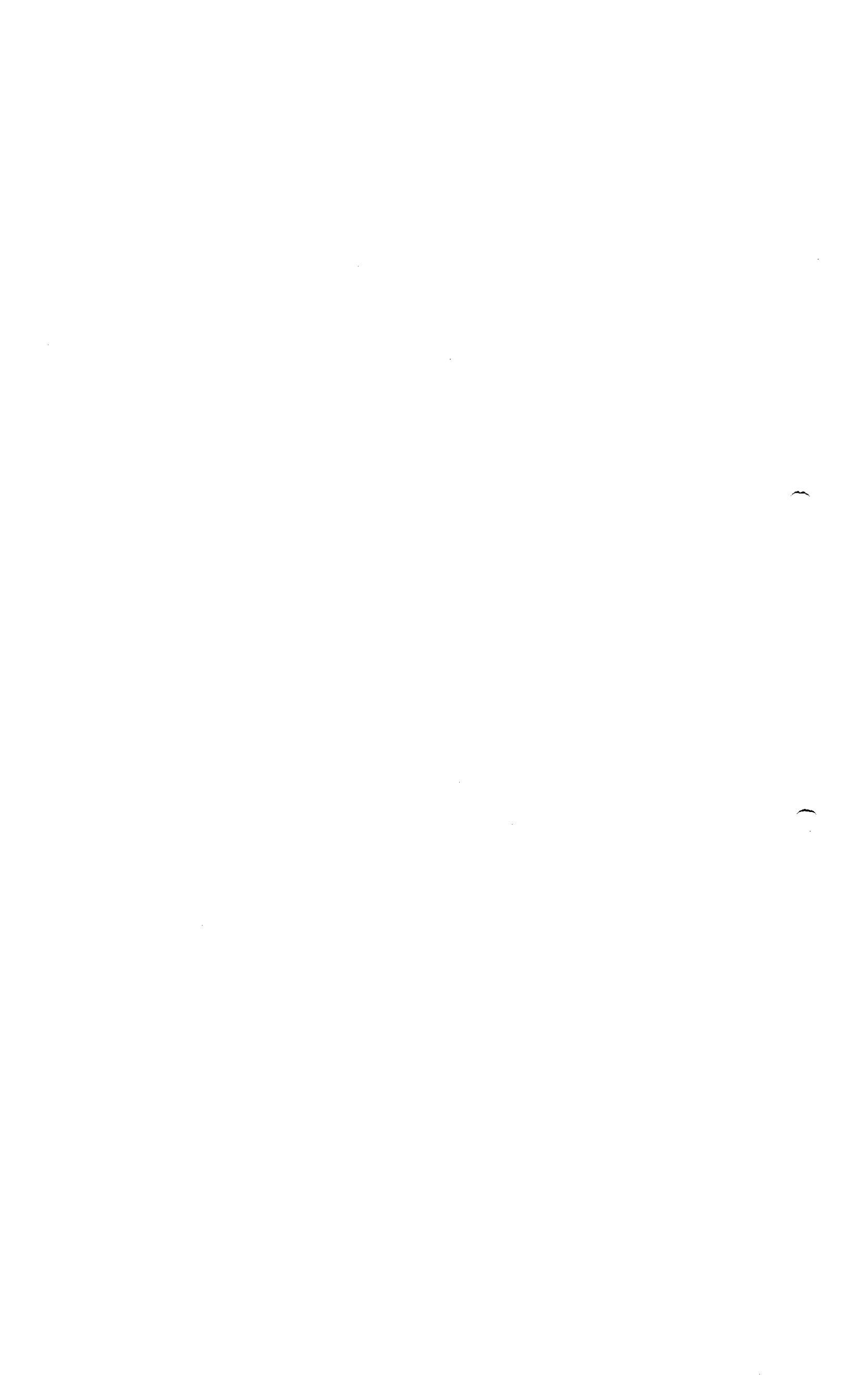


Tabla 40: Resultados de estabilidad para el PRP almacenado a ≤ 35 °C: Lote FA035341

Pruebas	Criterios de aceptación	10	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses	66 meses
Humedad residual	Para cálculo (%)	12,72	12,08	13,04	12,18	5,14	10,97	11,26	12,96	12,72	10,46	15,21
Contenido de fósforo	6,8-9 %	6,97	6,98	7,06	6,92	6,10*	6,86	7,13	R1: 6,12 R2: 7,09*	7,13	6,79	7,35
Contenido de ribosa	≥ 32 %	34,1	33,6	32,7	34,8	30,5*	30,1	32,7	34,5	33,2	34,7†	35,8
Contenido proteico	$\leq 1,0$ %	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,05$	$< 0,06$	$< 0,11$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$
Contenido de ácidos nucleicos	$\leq 1,0$ %	0,11	0,111	0,1	0,200	0,104	0,135	0,119	0,131	0,111	0,112	0,094
Contenido de endotoxinas	< 25 UI/ μ g	9,2	13,09	9,68	11,57	8,51	17,00	14,5	5,69	13,66	3,98	7,37
Distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (% de polisacárido eluido antes de K_p de 0,30)	> 50 % de monómero	78	81,9	86,6	74,1	76,8	68,6	71,1‡	69,1	68,7§	68,7	73,1
Identificación de <i>Haemophilus</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura $\leq +1,15$ °C para la prueba en 3 conejos)	(0,05 - 0,40 - 0,25) 0,70	(0,10 - 0,00 - 0,05) 0,15	(0,15 - 0,35 - 0,20) 0,70	(0,30 - 0,15 - 0,45) 0,90	(0,10 - 0,30 - 0,30) 0,70	R1: (0,70 - 0,65 - 0,80) 2,15 R2: (0,25 - 0,25 - 0,30) 0,80 R3: (0,55 - 0,35 - 0,40) 1,30**	(0,20 - 0,15 - 0,00) 0,35	(0,20 - 0,15 - 0,00) 0,35	(0,25 - 0,40 - 0,35) 1,00	(0,08 - 0,41 - 0,27) 0,76	(0,00 - 0,12 - 0,11) 0,23

Investigación realizada; vea la explicación en el capítulo 8.3.1.5

Realizada a los 61 meses

Realizada a los 25 meses

Realizada a los 49 meses

La temperatura Δ fue superior a los $+1,15$ °C para la prueba en los 3 conejos iniciales. Aun así, la suma fue inferior a $2,65$ °C, como se recomienda en la Ph. Eur. 2.6.8 la prueba se repitió después. Según los requisitos de la Ph. Eur., se calculó la suma de las diferencias de la temperatura medida en los 6 conejos. La temperatura Δ fue superior a los $2,80$ °C pero inferior a los $4,30$ °C, según lo requiere la Ph. Eur. 2.6.8, la prueba se repitió nuevamente. Se calculó la suma de las diferencias de la temperatura medida en los 9 conejos. La temperatura Δ obtenida es inferior a $4,45$ °C, lo que muestra el cumplimiento con la Ph. Eur. 2.6.8.

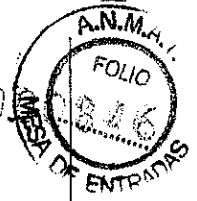
ROXANA MONTEILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

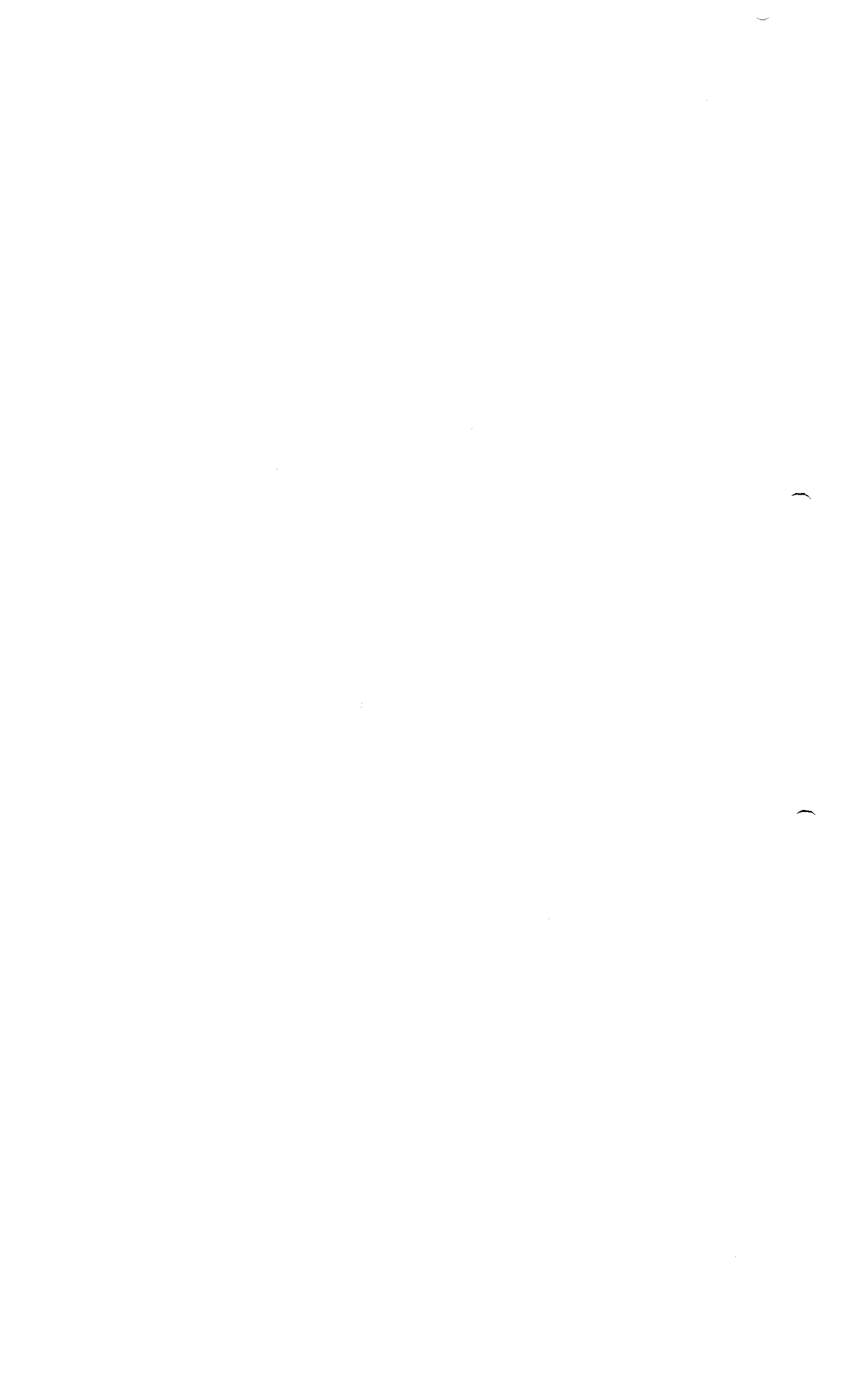
CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RNA_0302397

Información confidencial/proprietaria

Página 63 de 73





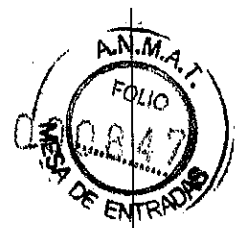
sanofi pasteur
Granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b

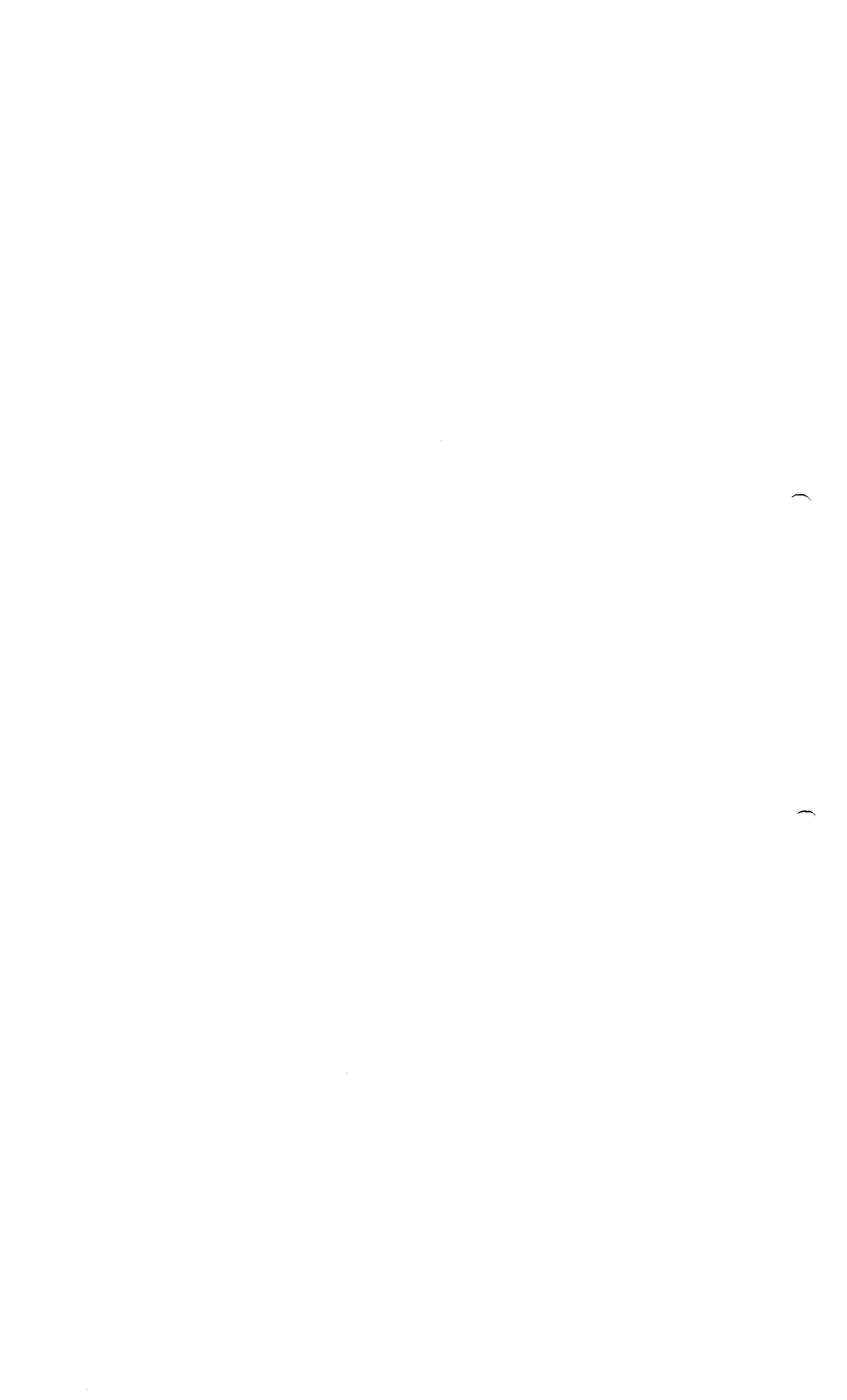
Tabla 41: Resultados de estabilidad para el PRP almacenado a $\leq 35^{\circ}\text{C}$: Lote FA035342

Pruebas	Criterios de aceptación	T0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses	66 meses
Humedad residual	Para cálculo (%)	13,44	13,73*	14,52	14,71	15,89†	15,10	12,69	15,61	17,23	15,63‡	17,03
Contenido de fósforo	6,8-9 %	7,53	7,42	6,7§	6,65§	6,41§	7,41	6,90	6,90	7,43	7,06	7,08
Contenido de ribosa	≥ 32 %	38,8	34,6	34,9	35,7	37,1	33,7	32,1	33,6	35,5	36,5‡	38,9
Contenido proteico	$\leq 1,0$ %	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,05$	$< 0,06$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,13$
Contenido de ácidos nucleicos	$\leq 1,0$ %	0,13	0,161	0,133	0,175	0,212	0,206	0,143	0,123	0,142	0,139	0,136
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 25 UI/µg	2,6	2,1	2,2	1,5	1,1	2,0	1,7	1,1	1,5	0,9	5,1
Distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (% de polisacárido eluido antes de K_p de 0,30)	> 50 % de monómero	75,4	77,4	81,9	77,0	73,9	70,8	72,9	68,0	69,0	70,5	67,1
Identificación de <i>Haemophilus</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura $\leq +1,15^{\circ}\text{C}$ para la prueba en 3 conejos)	(0,05 - 0,40 - 0,25) 0,70	(0,00 - 0,30) 0,30	(0,00 - 0,30) 0,35	(0,30 - 0,05) 0,35	(0,10 - 0,25) 0,20	(0,15 - 0,05) 0,45	(0,05 - 0,25) 0,10	(0,20 - 0,15) 0,35	(0,15 - 0,05 - 0,00) 0,20	(0,23 - 0,38 - 0,04) 0,66	(0,01 - 0,12 - 0,06) 0,19

* Realizada a los 5 meses
 † Realizada a los 13 meses
 ‡ Realizada a los 61 meses
 Investigación realizada; vea la explicación en el capítulo 8.3.1.5

ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
 CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.





sanofi pasteur
Granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b

Tabla 42: Resultados de estabilidad para el PRP almacenado a ≤ -35 °C: Lote FA049762

Pruebas	Criterios de aceptación	T0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses	66 meses
Humedad residual	Para cálculo (%)	10,56	9,56	4,35	10,17	8,58	6,21	11,24	11,81	10,45	10,81	NR*
Contenido de fósforo	6,8-9 %	7,1	7,4	6,5†	7,1	6,9	7,1	R1: 5,7 R2: 7,5†	7,4	6,6	7,6	7,0 en GSS
Contenido de ribosa	≥ 32 %	35,3	33,0	32,1	36,4	32,8	31,8†	33,6	35,3	33,5	34,6	37,2 en GS
Contenido proteico	$\leq 1,0$ %	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,05$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,06$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,12$	$< 0,11$	NR
Contenido de ácidos nucleicos	$\leq 1,0$ %	0,09	0,09	0,08	0,07	0,09	0,08	0,10	0,10	0,09	0,09	NR
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 25 UI/ μ g	0,5	0,1	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3
Distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (% de polisacárido eluido antes de Kp de 0,30)	> 50 % de monómero	77,6	74,8	76,9	64,2	76,4	69,9	69,0	61,5	66,4	65,9	68,3
Identificación de <i>Haemophilus</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura $\leq +1,15$ °C para la prueba en 3 conejos)	(0,30 - 0,20 - 0,30) 0,80	(0,20 - 0,15 - 0,20) 0,55	(0,10 - 0,10 - 0,30) 0,50	(0,20 - 0,35 - 0,30) 0,85	(0,35 - 0,30 - 0,35) 1,00	(0,00 - 0,25 - 0,00) 0,25	(0,15 - 0,25 - 0,25) 0,65	(0,15 - 0,00 - 0,00) 0,15	(0,00 - 0,10 - 0,30) 0,40	(0,18 - 0,04 - 0,12) 0,34	(0,18 - 0,13 - 0,38) 0,68

NR: No realizada

Investigación realizada; vea la explicación en el capítulo 8.3.1.5

No quedan muestras para repetir la prueba 3

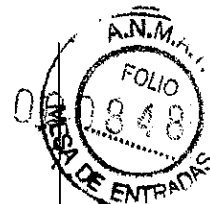
GS: expresado en peso bruto debido a la falta de muestra remanente

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0302397

Información confidencial/proprietaria
Página 65 de 73

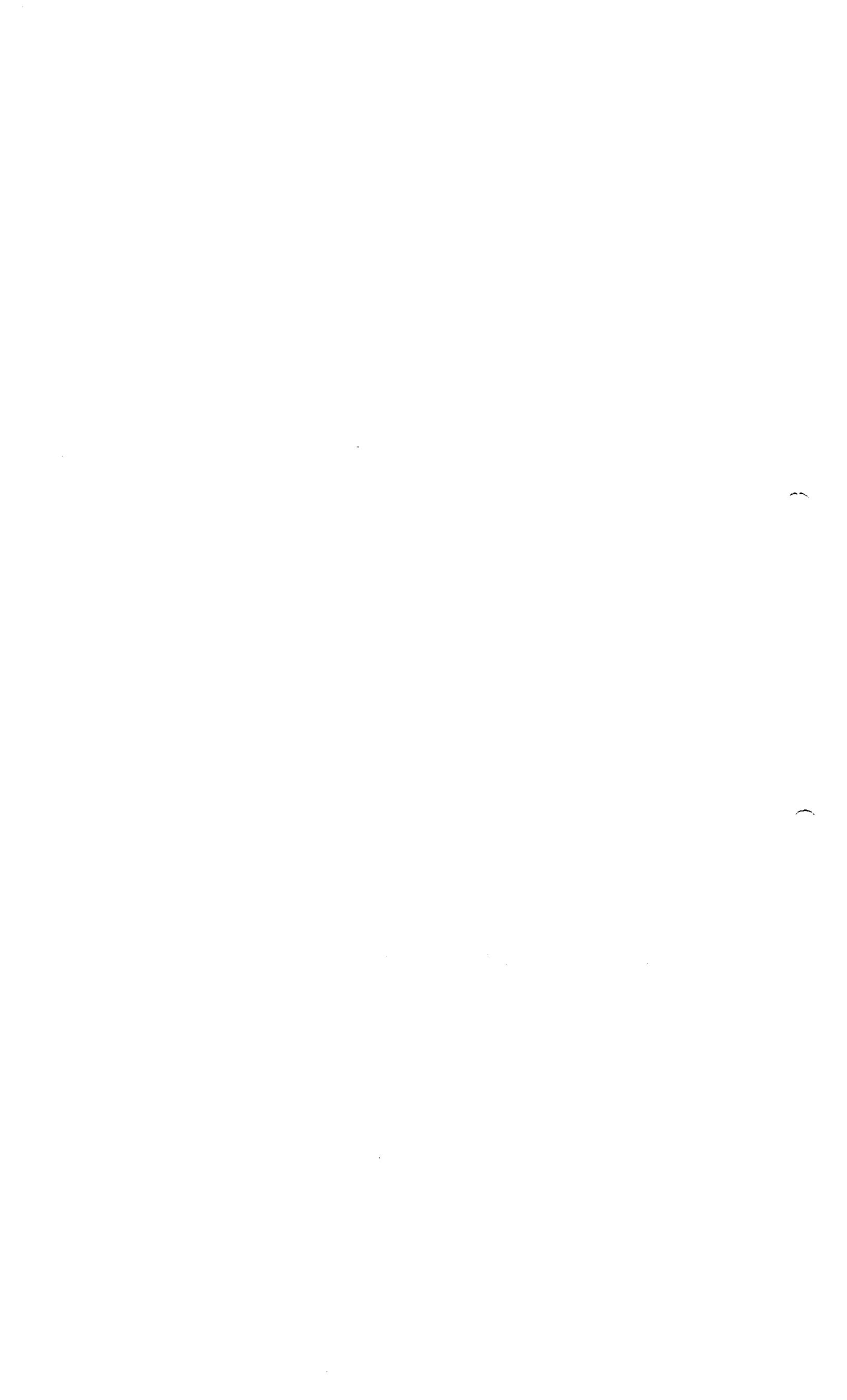






- PRP con reprocesamiento

Los resultados obtenidos para los 3 lotes se presentan en la tabla 43, en la tabla 44 y en la tabla 45.



sanofi pasteur
Granel de polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b

Tabla 43: Resultados de estabilidad para el PRP reprocesado almacenado a ≤ -35 °C: Lote Hi2096R

Pruebas	Criterios de aceptación	T ₀	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses	66 meses
Humedad residual	Para cálculo (%)	5,96	NR*	NR	7,29	7,73	7,05	6,54	4,54	6,58	7,05	NR
Contenido de fósforo	6,8-9 %	7,1	NR	NR	7,4	7,4	6,9	R1: 6,7 R2: 7,1 R3: 7,6	7,0	7,3	NR	NR
Contenido de ribosa	≥ 32 %	35,4	NR	NR	37,7	33,7	32,2	3,7	34,8	33,9	NR	NR
Contenido proteico	$\leq 1,0$ %	$< 0,1$	NR	NR	$< 0,1$	$< 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,06$	$< 0,11$	NR	NR
Contenido de ácidos nucleicos	$\leq 1,0$ %	0,1	NR	NR	0,12	0,08	0,1	0,11	0,09	0,09	NR	NR
Contenido de endotoxinas	< 25 UI/ μ g	6,7	NR	NR	6,5	1,4	12,4	6,7	7,01	10,3	6,3	12,0
Distribución del tamaño molecular mediante LP-SEC (% de polisacárido eluido antes de K _D de 0,30)	> 50 % de monómero	62,7	NR	NR	74,9	71,6	56,9	83,3	66,3	67,0	62,4	67,2
Identificación de <i>Haemophilus</i>	Positivo	Positivo	NR	NR	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura $\leq +1,15$ °C para la prueba en 3 conejos)	(0,15 - 0,15 - 0,30) 0,60	NR	NR	(0,35 - 0,25 - 0,20) 0,80	(0,20 - 0,40 - 0,40) 1,00	(0,20 - 0,40 - 0,40) 1,00	(0,10 - 0,40 - 0,25) 0,75	(0,10 - 0,40 - 0,25) 0,75	(0,20 - 0,20 - 0,25) 0,65	R1: (0,90 - 0,80 - 0,50) 2,20 R2: (0,25 - 0,05 - 0,55) 0,85 R3: (0,40 - 0,10 - 0,40) 0,90 Suma para 9 conejos = +3,95°C que cumple con la Ph. Eur.†	(0,00 - 0,15 - 0,35) 0,50

* NR: No se realizó (debido al inicio del almacenamiento de 9 meses después de la elaboración o debido a la falta de muestra remanente)

† La temperatura Δ fue superior a los $+1,15$ °C para la prueba en los 3 conejos iniciales. Aun así, la suma fue inferior a $2,65$ °C, como se recomienda en la Ph. Eur. 2.6.8 la prueba se repitió después. Según los requisitos de la Ph. Eur., se calculó la suma de las diferencias de la temperatura medida en los 6 conejos. La temperatura Δ fue superior a los $2,80$ °C pero inferior a los $4,30$ °C, según lo requiere la Ph. Eur. 2.6.8, la prueba se repitió nuevamente. Se calculó la suma de las diferencias de la temperatura medida en los 9 conejos. La temperatura Δ obtenida es inferior a $4,45$ °C, lo que muestra el cumplimiento con la Ph. Eur. 2.6.8.



ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANOFI PASTEUR S.A.

