



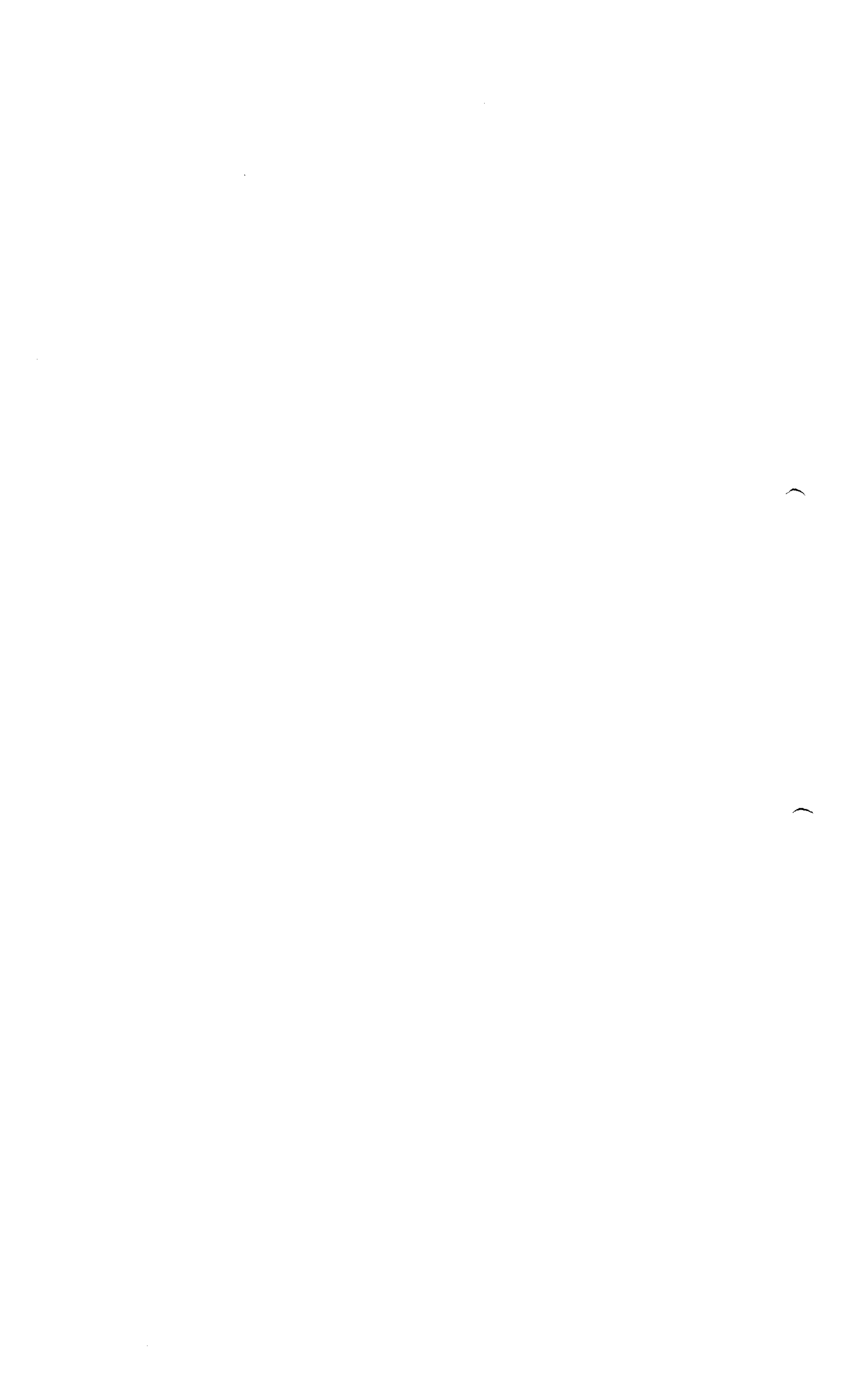
Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad. Introducción.

1 Introducción

Los pasos de elaboración críticos para los atributos de calidad del producto medicinal (vea la sección 3.2.P.3.4 Control de los pasos críticos e intermedios) son:

- Elaboración del producto final a granel (PFAG), que incluye:
 - Esterilización de los componentes del producto final a granel
 - Proceso de mezcla
- Llenado del producto final a granel.

Los diagramas de flujo del proceso correspondientes a estos pasos críticos se recuerdan a continuación.



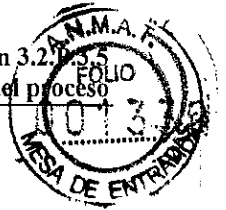
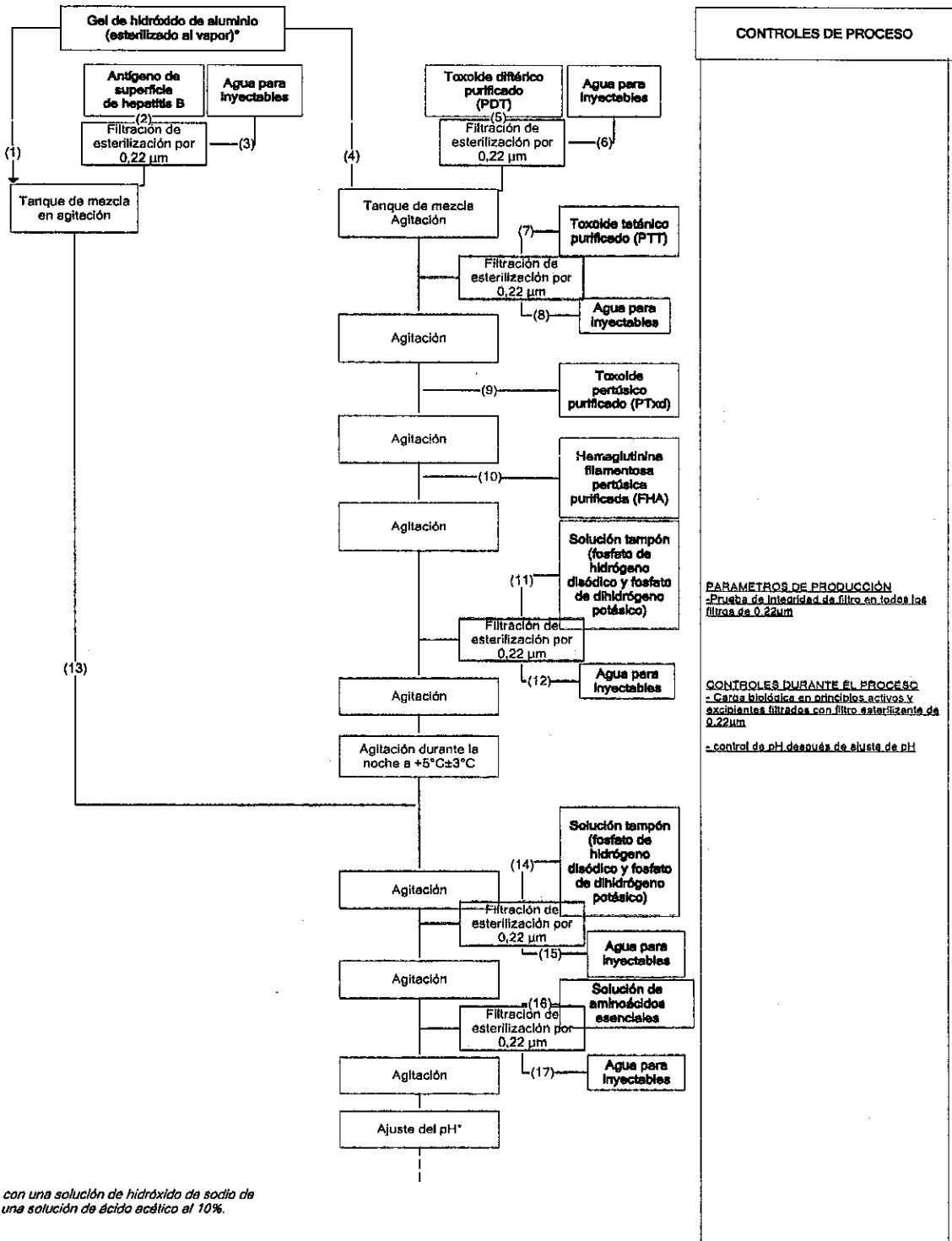
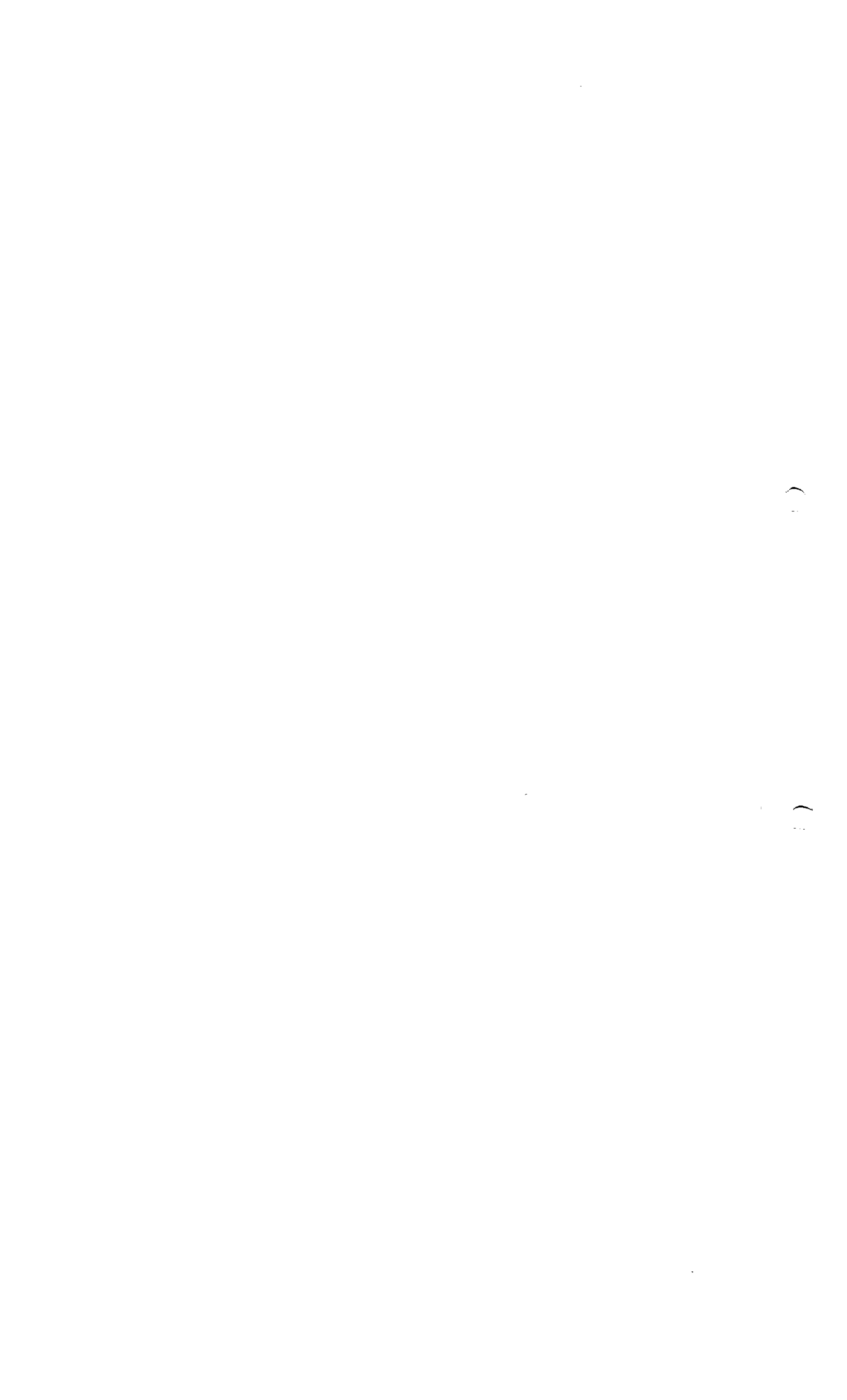


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso del producto final a granel (parte 1)



* Ajuste con una solución de hidróxido de sodio de 2,5 M o una solución de ácido acético al 10%.



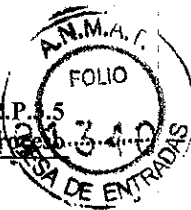
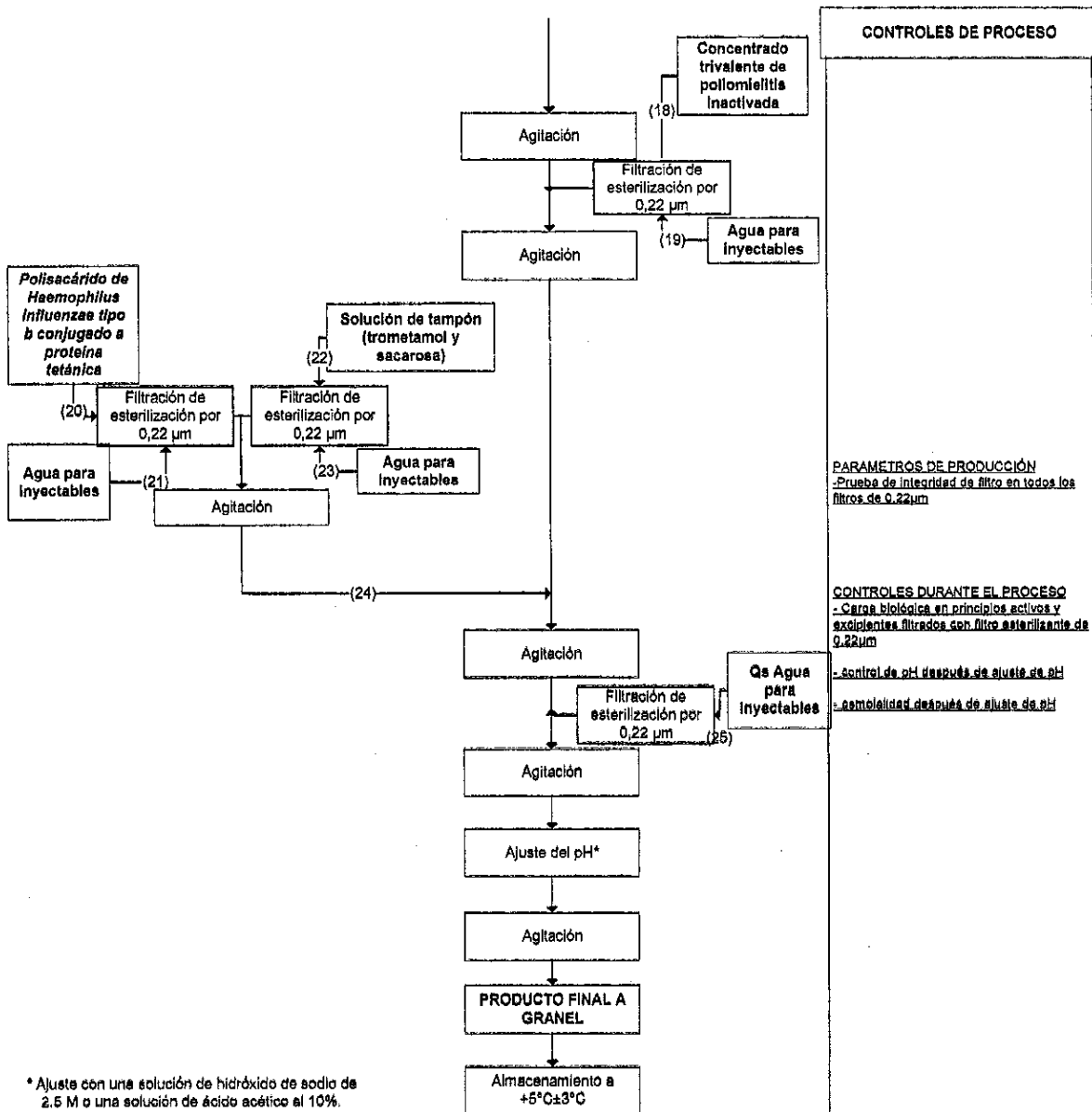


Figura 2: Diagrama de flujo del proceso del producto final a granel (parte 2)



* Ajuste con una solución de hidróxido de sodio de 2,5 M o una solución de ácido acético al 10%.

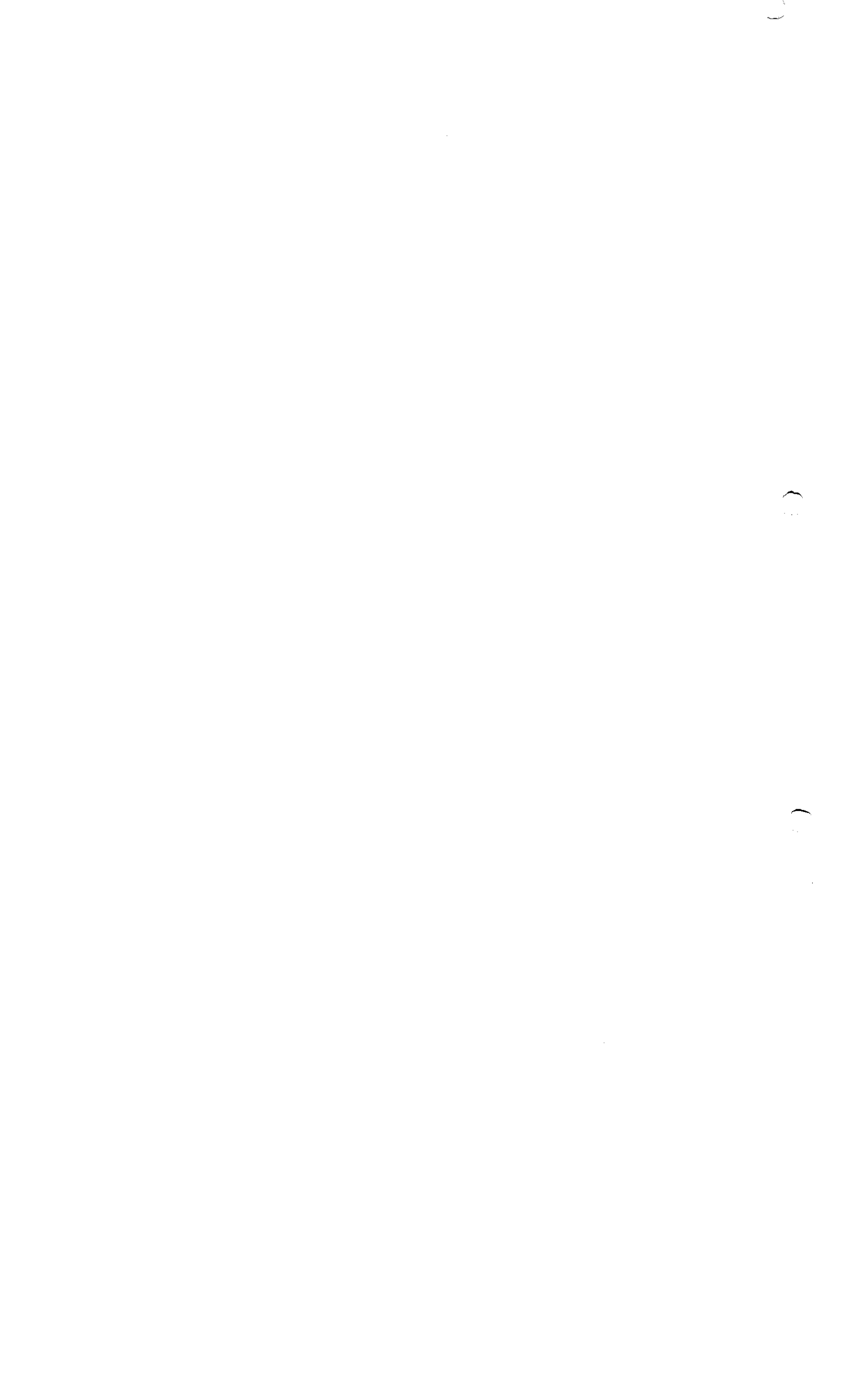




Figura 3: Diagrama de flujo del llenado en jeringas sin aguja acoplada

Figura 3: Diagrama de flujo del llenado en jeringas sin aguja acoplada

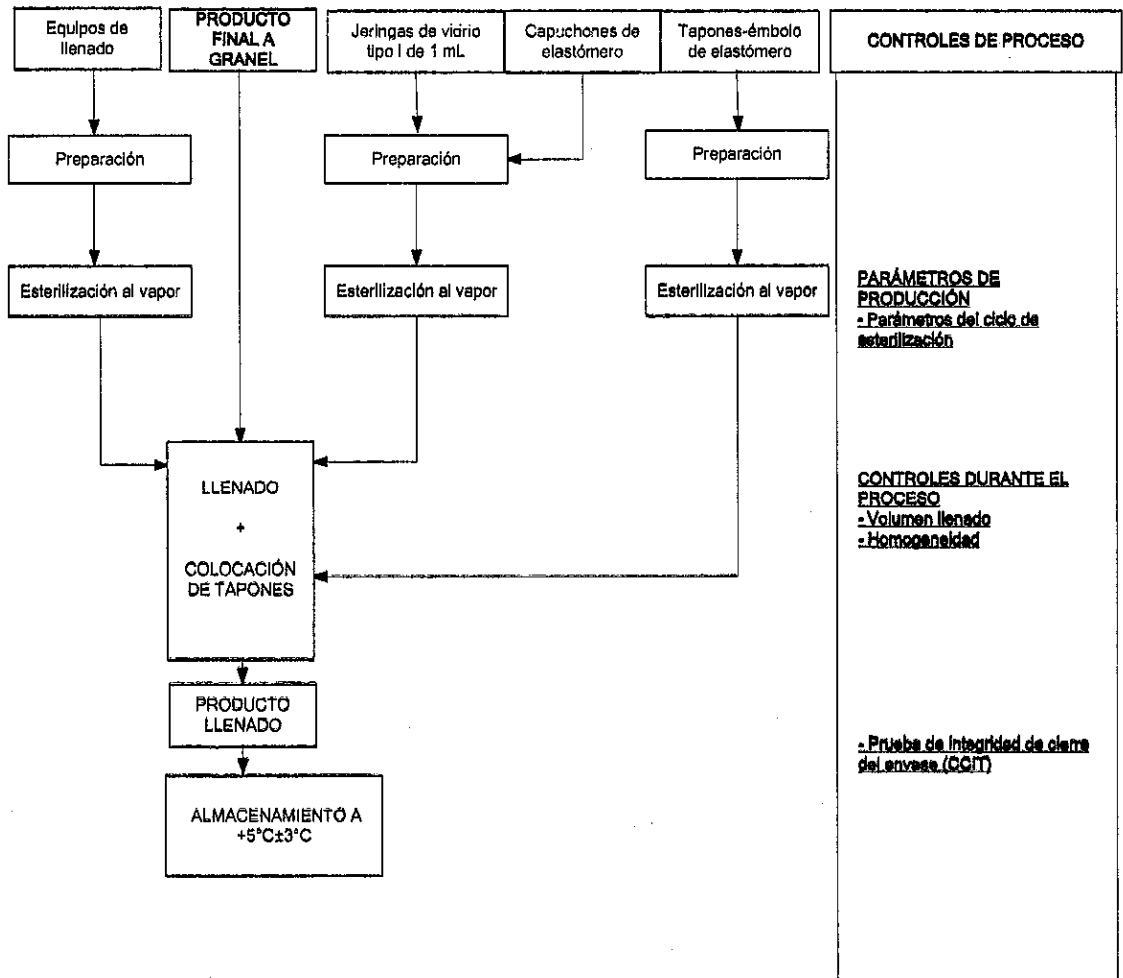
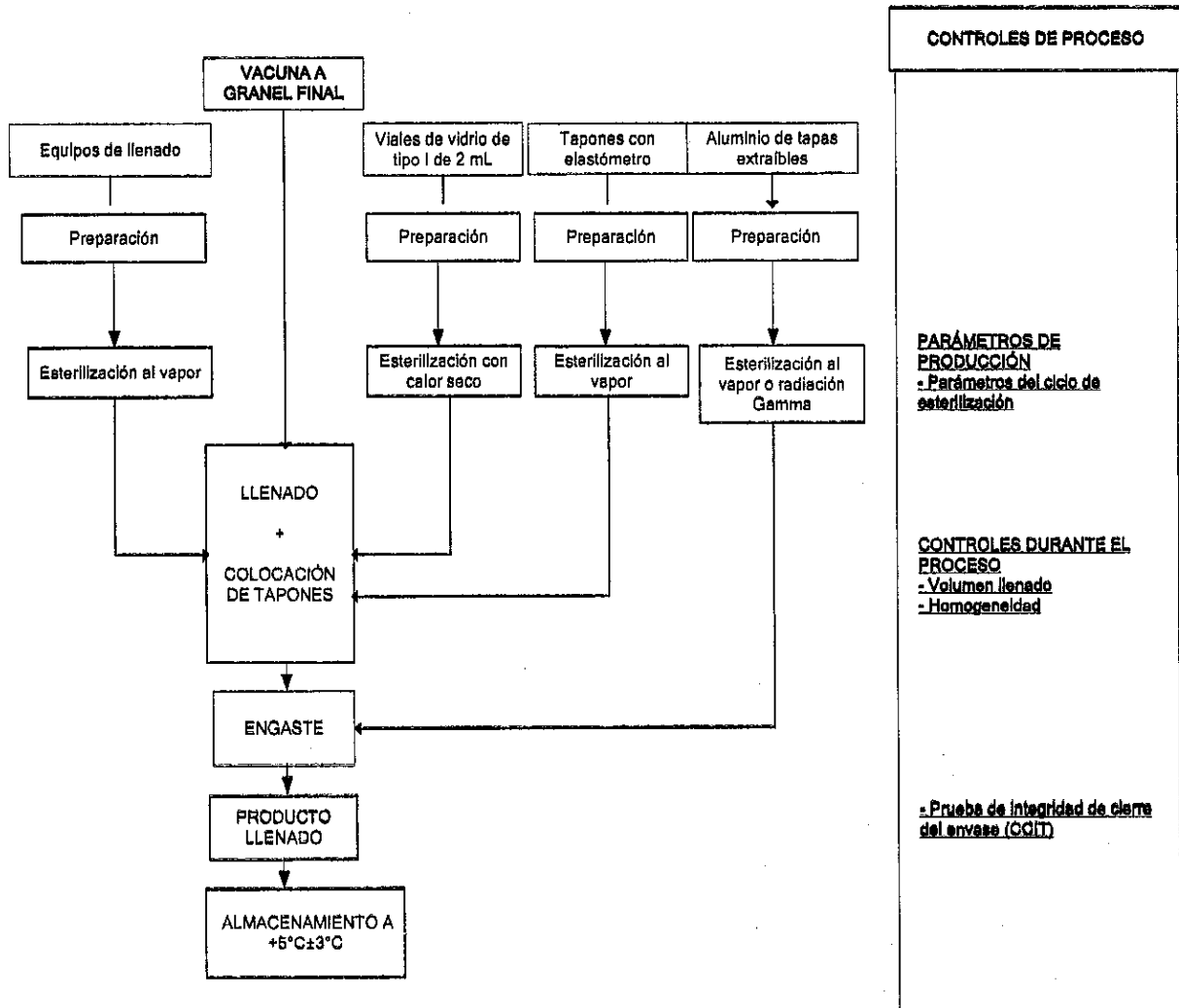






Figura 4: Diagrama de flujo del llenado en viales







Se ha llevado a cabo la validación de estos pasos críticos de la elaboración para demostrar que el proceso de elaboración de la vacuna Hexaxim permite obtener de manera uniforme un producto que cumple sus especificaciones y atributos de calidad predeterminados.

En la Tabla 1 se describen los diferentes estudios de validación realizados en las plantas de Marcy l'Étoile (MLE), Val de Reuil (VDR) y Anagni.

Tabla 1: Presentación de los estudios de validación realizados para la vacuna Hexaxim

Plantas de elaboración	Pasos críticos	Atributos de calidad	Pruebas de validación
Marcy l'Étoile	Esterilización con vapor de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio	Calidad microbiana	- Validación física para garantizar la distribución y penetración del calor. - Comprobación de ausencia de crecimiento de indicadores biológicos.
	Filtraciones esterilizantes de los excipientes y de los principios activos *	Calidad microbiana	- Estudios a escala reducida (retención bacteriana, compuestos extraíbles y compatibilidad química). - Estudios a escala industrial (evaluación de la adsorción de principios activos en el filtro esterilizante).
	Introducción aséptica del PTxd y de la FHA	Calidad microbiana	- Estudio mediante una prueba de simulación del proceso utilizando medio digerido de caseína de soja.
	Mezcla	Calidad microbiana	- Estudio mediante una prueba de simulación del proceso utilizando medio digerido de caseína de soja.
		Adsorción de antígenos en suspensión de gel de hidróxido de aluminio	- Evaluación de la adsorción de los antígenos en diferentes etapas del paso de mezcla.
	Llenado del P FAG	Calidad microbiana	- Estudio mediante una prueba de simulación del proceso utilizando medio digerido de caseína de soja.
		Homogeneidad de la vacuna Hexaxim en cada envase final	- Estudio con lotes de vacuna que incluyen capacidad, homogeneidad, conformidad y reproducibilidad.
Uniformidad del volumen extraíble			
Val de Reuil	Llenado del P FAG	Calidad microbiana	- Estudio del proceso de llenado mediante el llenado con medios simulados (medio digerido de caseína de soja).
		Homogeneidad de la vacuna Hexaxim en cada envase final	- Estudio con lotes de vacuna que incluyen capacidad, homogeneidad, conformidad y reproducibilidad.
		Uniformidad del volumen extraíble	
Anagni	Llenado del P FAG	Calidad microbiana	- Estudio del proceso de llenado mediante el llenado con medios simulados (medio digerido de caseína de soja).
		Homogeneidad de la vacuna Hexaxim en cada envase final	- Estudio con lotes de vacuna que incluyen capacidad, homogeneidad, conformidad y reproducibilidad.
		Uniformidad del volumen extraíble	

* Excepto para el PTxd y la FHA preadsorbidos, que se introducen asépticamente.





2 Estudios de validación en la planta de Marcy l'Étoile

En los párrafos siguientes se resumen los estudios de validación realizados en la planta de Marcy l'Étoile con objeto de respaldar la producción del PFAG y el llenado de jeringas.

2.1 Esterilización con vapor de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio

La suspensión de gel de hidróxido de aluminio se esteriliza con vapor con los parámetros del ciclo de esterilización configurados para asegurar $F_0 > 15$ y alcanzar un nivel de garantía de esterilidad de 10^{-6} (Ph. Eur., edición actual, 5.1.1).

El ciclo utilizado para la esterilización de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio se validó realizando tres corridas consecutivas.

- Para cada corrida, el registro de temperatura se llevó a cabo utilizando sondas calibradas y se calculó el valor automatizado de F_0 . Se utilizaron siete sondas (cinco sondas en diferentes lugares del tanque y dos sondas en los circuitos adyacentes) para cubrir todos los posibles puntos fríos y más difíciles de esterilizar en el tanque.
- Para cada corrida, no se comprobó crecimiento alguno de indicadores biológicos.

Esta validación se llevó a cabo en el tanque de elaboración llenado con el volumen de rutina de 250 L de suspensión de gel de hidróxido de aluminio. El tanque estaba sometido a agitación para garantizar la distribución y penetración del calor.

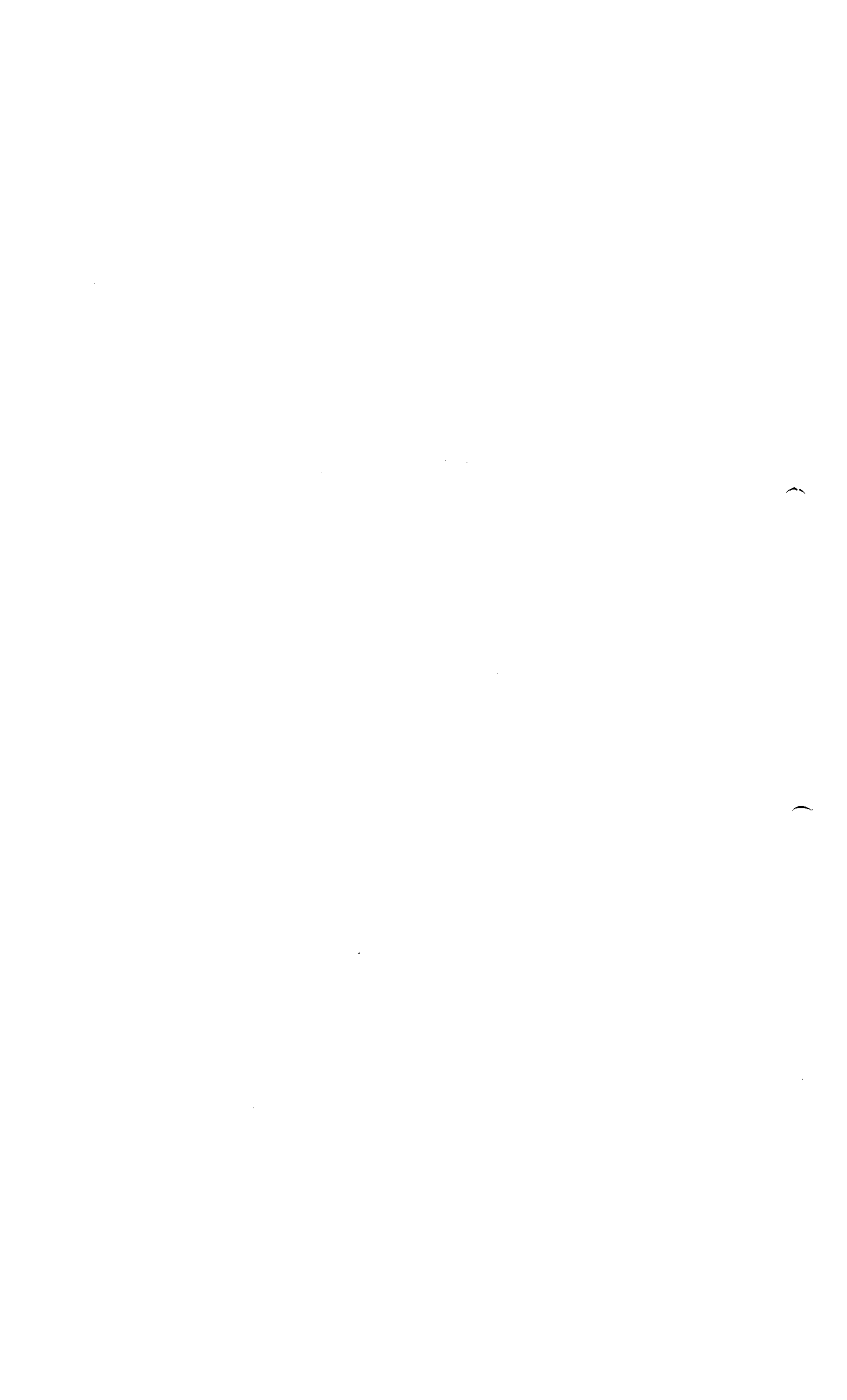
Los resultados de validación referidos a la esterilización de la suspensión de gel de hidróxido de aluminio se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Resultados de la validación inicial de la esterilización del tanque de adyuvante

Corridas del ciclo de esterilización	Fecha de esterilización	F_0 al final del ciclo y en la sonda más fría	Indicadores biológicos	Conformidad
Corrida 1	13/01/2009	31	Estéril	Cumple
Corrida 2	13/01/2009	39	Estéril	
Corrida 3	14/01/2009	36	Estéril	

Conclusión

Todos los resultados cumplen los criterios de aceptación definidos en la Ph. Eur., edición actual, 5.1.1. Por tanto, la carga de esterilización queda validada.





2.2 Validación de las filtraciones esterilizantes de los principios activos y excipientes

El PFAG de la vacuna Hexaxim se elabora mediante una mezcla secuencial y aséptica de principios activos y excipientes.

Antes de su introducción en el tanque de mezcla, cada componente, excepto el PTxd y la FHA preadsorbidos y la suspensión de gel de hidróxido de aluminio, se filtra a través de un filtro esterilizante de 0,22 μm .

Se llevaron a cabo estudios para validar las filtraciones esterilizantes:

- A escala reducida (retención bacteriana, evaluación de compuestos extraíbles de los filtros, evaluación de la compatibilidad química de cada componente de la vacuna con el filtro utilizado). Estos estudios se llevan a cabo en las condiciones más desfavorables de filtración en cuanto a máxima duración de la filtración y máximo caudal, y desafío bacteriano.
- A escala industrial, para probar que no exista adsorción de principios activos en el filtro. Este estudio se llevó a cabo en las condiciones operativas industriales más desfavorables en cuanto a superficie de filtración y caudal de filtración.

La validación del proceso de filtración busca demostrar que de esta etapa se obtiene, de modo uniforme, un producto estéril, sin que se afecte su calidad.

2.2.1 Estudios a escala reducida

- Introducción

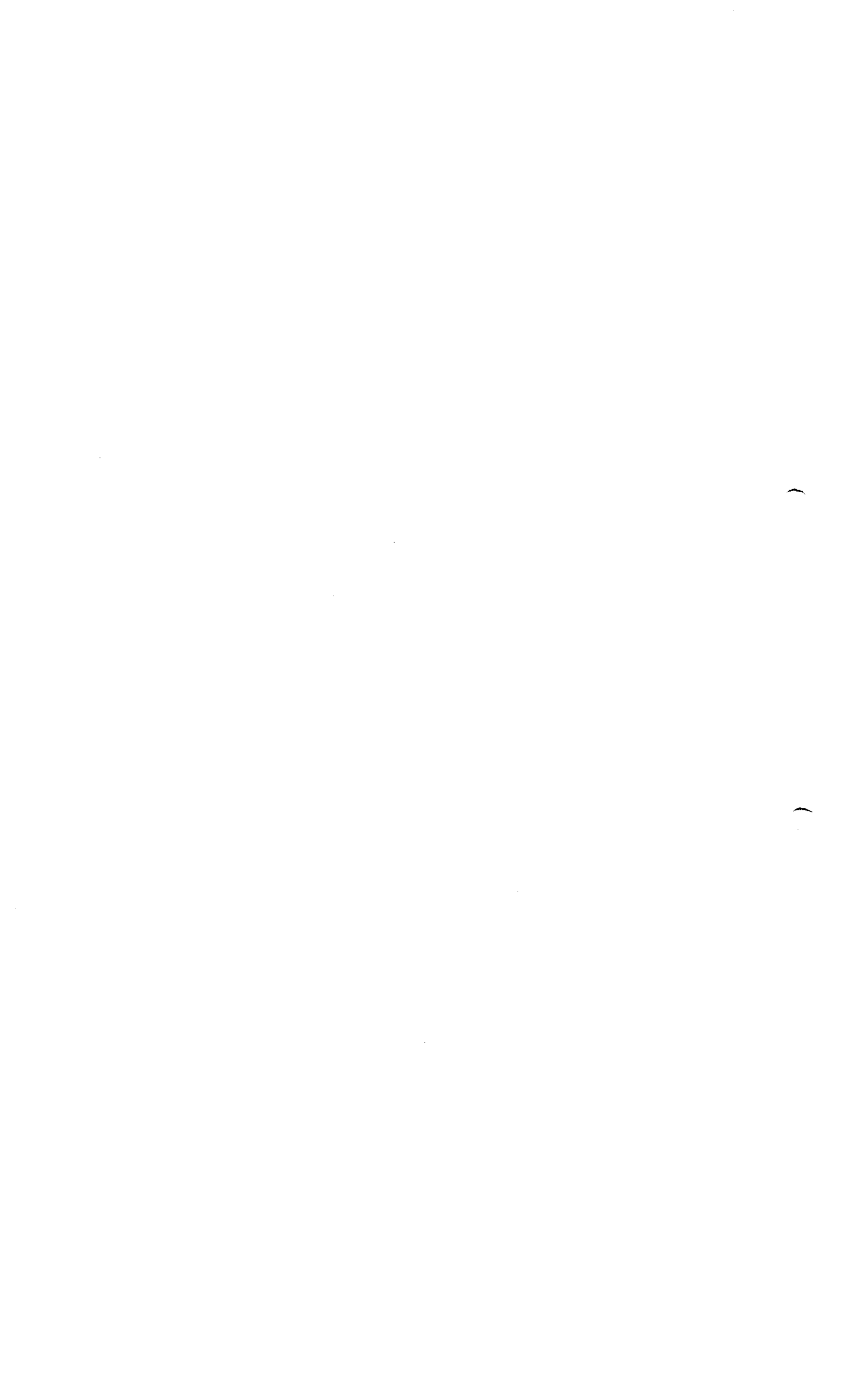
Un estudio de validación a escala reducida comprende:

- Estudio de retención bacteriana

Este estudio se realizó para probar la capacidad uniforme de retención bacteriana del filtro de membrana con grado de esterilización (0,22 μm) y comprobar que tras el paso de la filtración estéril se obtiene un producto estéril en las condiciones más desfavorables de desafío.

Con este fin, en el protocolo se utilizaron las condiciones más desfavorables de producción. El procedimiento de análisis se definió conforme a los requisitos normativos, es decir, condiciones de procesamiento a escala reducida e inoculación en producto real. Los fundamentos del análisis se adaptaron a partir de una combinación de los enfoques descritos en la "Guía de productos medicinales estériles elaborados mediante procesamiento aséptico" de la FDA y en el informe técnico n.º 26 de la PDA (Asociación de Fármacos Parenterales).

La capacidad de retención bacteriana de los filtros se valida en tres filtros de membrana de 0,22 μm . Al producto se le agregó *Brevundimonas diminuta* a razón de una concentración mínima de 10^7 microorganismos por cm^2 de membrana de filtración. El filtrado tiene que ser estéril.





La integridad de los filtros se ensaya antes y después del desafío. Debe demostrarse la integridad de cada filtro.

Se realizaron pruebas preliminares antes de la validación de la retención bacteriana:

- Se llevó a cabo una evaluación preliminar de la viabilidad de *Brevundimonas diminuta* en contacto con el producto.
- Se realizó un control positivo con un filtro de un tamaño de poro que debería permitir que lo atravesara la pequeña bacteria *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146).
- Estudio de los compuestos extraíbles del filtro

Las condiciones seleccionadas para el estudio de los compuestos extraíbles del filtro constituyen las condiciones más desfavorables en comparación con las condiciones del proceso normal.

La evaluación de compuestos extraíbles puede determinarse con un disolvente modelo.

Después de la extracción, la cantidad de residuos no volátiles (NVR) se midió mediante un análisis gravimétrico y se determinó la naturaleza de los compuestos extraíbles no volátiles en el residuo mediante espectroscopia infrarroja. Los componentes orgánicos presentes en las soluciones de extracción se sometieron al análisis de carbono orgánico total (TOC).

Los resultados del estudio se consideraban aceptables si:

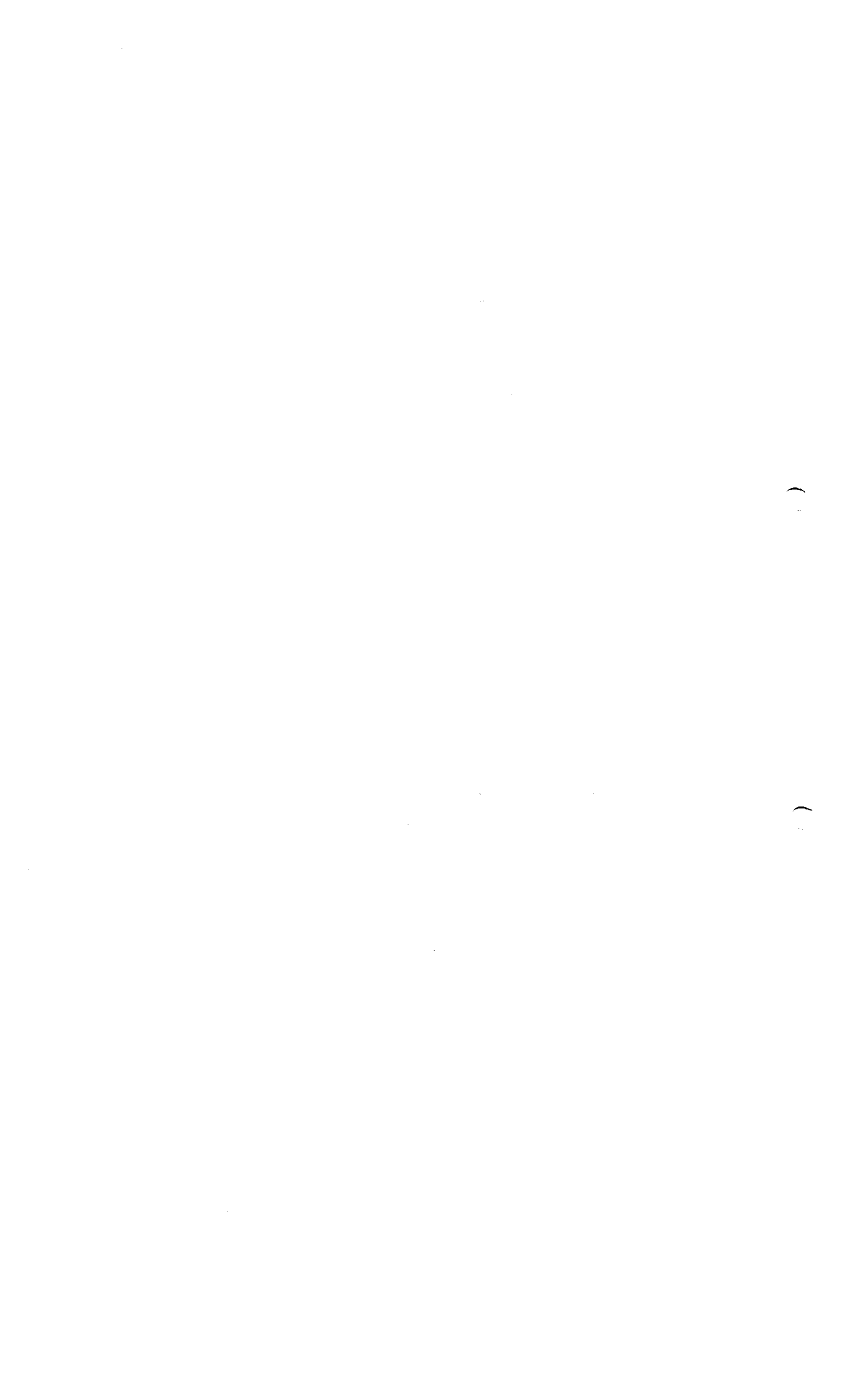
- Todos los compuestos extraíbles eran componentes normales del filtro o aditivos/agentes de procesamiento empleados durante su fabricación.
- Ninguno de los compuestos extraíbles presentaba toxicidad conocida a las concentraciones observadas.
- Estudio de compatibilidad química

El estudio de compatibilidad química consiste en la verificación de la ausencia de interacción química entre los componentes del filtro y los componentes filtrados. Estas interacciones podrían modificar el tamaño de poro del filtro y después reducir el rendimiento de la filtración.

- Datos de validación para los principios activos y los excipientes de la vacuna Hexaxim

La validación de las filtraciones esterilizantes a escala reducida para los principios activos y los excipientes filtrables de la vacuna Hexaxim comprende los parámetros descritos más arriba. La validación se realizó en diferentes pasos:

- Estudio 1: filtración esterilizante del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro).
- Estudio 2: filtración esterilizante del toxoide diftérico purificado (PDT), toxoide tetánico purificado (PTT), solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI (utilizada para enjuagar el filtro).





- Estudio 3: filtración esterilizante de la solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio), concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado (IPV) y la cantidad suficiente de WFI.
- Estudio 4: filtración esterilizante de la solución tamponada (trometamol y sacarosa) y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro).
- Estudio 5: filtración esterilizante del polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b conjugado con proteína tetánica (PRP-T) y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro).
- Estudio 6: filtración esterilizante de la solución de aminoácidos esenciales y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro).

Cada estudio permite validar la secuencia de filtración, es decir, la filtración de diferentes productos en el mismo filtro, y por tanto la capacidad del filtro para retener bacterias después de muchas filtraciones.

Se resumen a continuación los datos de validación de los estudios a escala reducida.

2.2.1.1 Estudio 1: filtración esterilizante del HBsAg y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro; pasos de elaboración 2 y 3)

2.2.1.1.1 Estudio de retención bacteriana

- Pruebas preliminares

Antes del estudio de retención bacteriana, se llevaron a cabo pruebas preliminares de la siguiente manera:

- La evaluación preliminar de la viabilidad de *Brevundimonas diminuta* en contacto con HBsAg y WFI demostró que estos dos componentes no tienen efecto antibacteriano alguno contra *Brevundimonas diminuta*; por tanto, se podía utilizar el método de inoculación directa para el estudio de retención bacteriana.
- El control positivo se realizó con un filtro de un tamaño de poro que debería permitir que lo atravesara la pequeña bacteria *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146). Según lo esperado, la prueba fue positiva dado que la cantidad de colonias presentes en la membrana del filtro analítico (filtro de recolección, en un punto posterior a la membrana con mayor tamaño de poro) era demasiado grande para contarla, lo cual demuestra que las bacterias podían atravesar el filtro con poros de gran tamaño.

- Resultados y conclusiones del estudio de retención bacteriana

El organismo de desafío se suspendió en HBsAg siguiendo el método de inoculación directa. Tras una filtración a través de cada filtro de membrana de 0,22 µm, se verificó la esterilidad de los filtrados; los resultados del estudio de desafío microbiano se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Resultados del estudio de desafío microbiano

Filtros	Desafío microbiano al filtro (UFC/cm ²)	Bacterias en el filtrado
Filtro de prueba A	1,4·10 ⁸	0





Filtros	Desafío microbiano al filtro (UFC/cm ²)	Bacterias en el filtrado
Filtro de prueba B	1,4·10 ⁸	0
Filtro de prueba C	1,4·10 ⁸	0

Tras la filtración de la suspensión bacteriana en HBsAg, todas las bacterias quedaron retenidas en los tres filtros; así, los filtrados eran estériles.

Se filtra después WFI a través de los filtros que han retenido las bacterias; tras la secuencia de filtración HBsAg-WFI, los filtrados siguen siendo estériles, ya que no se hallaron bacterias en los filtrados.

Así, este estudio demuestra la capacidad de los filtros para retener bacterias, tras una secuencia de filtración con diferentes productos.

Además, se ensayó la integridad de los filtros antes y después del desafío bacteriano, y los resultados cumplen con los criterios de aceptación. Queda demostrada la integridad de los filtros.

Conclusión

Se cumplen todos los criterios de aceptación del estudio; por tanto, la filtración del HBsAg y del WFI queda validada como una filtración estéril.

2.2.1.1.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro

De acuerdo con la composición del HBsAg, se determinó un disolvente modelo (agua) para la evaluación de compuestos extraíbles.

Los resultados obtenidos sobre las cantidades de compuestos extraíbles, en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto, se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Resultados del estudio de compuestos extraíbles

	Disolvente modelo: agua	
	NVR	TOC
Cantidad media de compuestos extraíbles	3,6 mg	1,7 mg (expresados en carbono)


Los NVR recuperados de la extracción con agua corresponden a componentes normales del filtro y aditivos del filtro. No presentan toxicidad conforme a la Prueba biológica clase VI para plásticos de la USP y a la Prueba de seguridad en ratones de la USP.

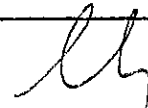
Conclusión

El filtro es, por tanto, adecuado para su empleo durante la elaboración de rutina.

2.2.1.1.3 Estudio de compatibilidad química

Este estudio se llevó a cabo a partir de información del proceso, la evaluación química del producto filtrado y datos bibliográficos. Además, se evaluó la información generada durante el


ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





estudio de compuestos extraíbles. De hecho, este estudio se llevó a cabo en las condiciones más desfavorables (especialmente de disolvente para extracción).

Conclusión

Considerando todos estos elementos, se concluyó que no se observa incompatibilidad química alguna entre el filtro y el HBsAg y el WFI.

2.2.1.2 Estudio 2: filtración esterilizante del PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI (utilizada para enjuagar el filtro; pasos de elaboración 5 a 8 y 11 a 12)

2.2.1.2.1 Estudio de retención bacteriana

- Pruebas preliminares

Antes del estudio de retención bacteriana, se llevaron a cabo pruebas preliminares de la siguiente manera:

- La evaluación preliminar de la viabilidad de *Brevundimonas diminuta* en contacto con PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI demostró que ninguno de los componentes tiene efecto antibacteriano alguno contra *Brevundimonas diminuta*; por tanto, se podía utilizar el método de inoculación directa para el estudio de retención bacteriana.
- El control positivo se realizó con un filtro de un tamaño de poro que debería permitir que lo atravesara la pequeña bacteria *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146). Según lo esperado, la prueba fue positiva dado que la cantidad de colonias presentes en la membrana del filtro analítico (filtro de recolección, en un punto posterior a la membrana con mayor tamaño de poro) era demasiado grande para contarla, lo cual demuestra que las bacterias podían atravesar el filtro con poros de gran tamaño.

- Resultados y conclusiones del estudio de retención bacteriana

Como el tipo de filtro utilizado para la secuencia de filtración PDT-PTT-solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio)-WFI era el mismo que el utilizado para filtrar el HBsAg, el estudio de retención bacteriana se ha realizado en dos pasos:

- El paso de desafío se llevó a cabo durante el estudio 1, con HBsAg y tres filtros, como se presenta en el apartado 2.2.1.1.1.
- Después, los filtros del estudio 1 se utilizaron para filtrar PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI. Tras la filtración de cada componente se evaluaron los filtrados.

Las condiciones del estudio 2 eran las más desfavorables en comparación con las prácticas de rutina.

En la Tabla 5 se resumen los resultados del estudio 1 (desafío microbiano con HBsAg) y del estudio 2.

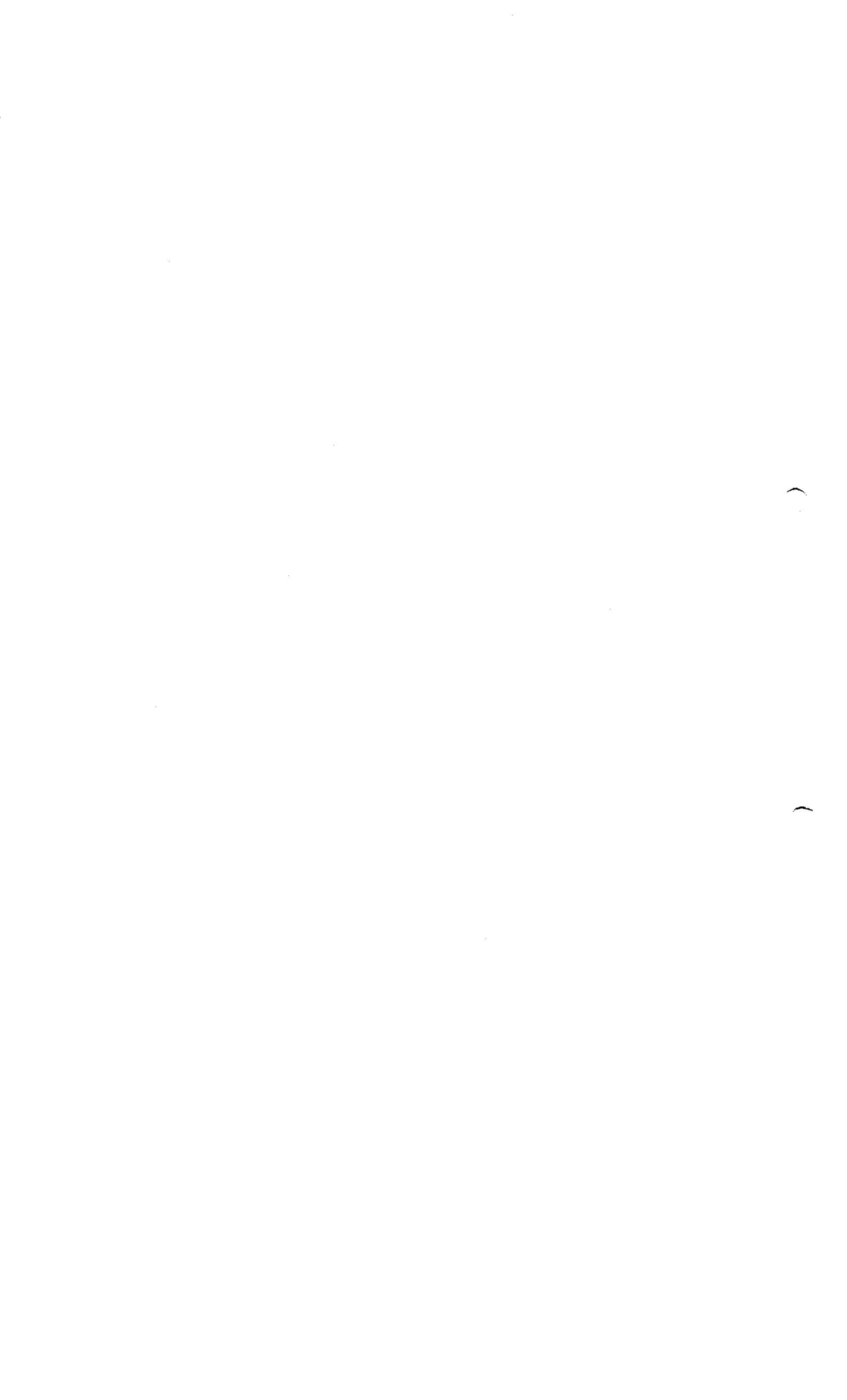




Tabla 5: Resultados del estudio de retención bacteriana

Filtros	Estudio 1		Estudio 2			
	Desafío microbiano con HBsAg	Bacterias en el filtrado	Filtración del PDT	Filtración del PTT	Filtración de la solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio)	Filtración del WFI
Filtro de prueba A	1,4·10 ⁸	0	0	0	0	0
Filtro de prueba B	1,4·10 ⁸	0	0	0	0	0
Filtro de prueba C	1,4·10 ⁸	0	0	0	0	0

Tras la filtración de la suspensión bacteriana en HBsAg, todas las bacterias quedaron retenidas en los tres filtros; así, los filtrados son estériles.

Las filtraciones sucesivas de PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI carecen de efecto alguno sobre los filtrados, que siguen siendo estériles, ya que no se hallaron bacterias en los filtrados.

Así, este estudio demuestra la capacidad de los filtros para retener bacterias, tras una secuencia de filtración con diferentes productos.

Además, se ensayó la integridad de los filtros antes y después del desafío bacteriano, y los resultados cumplen con los criterios de aceptación. Quedó demostrada la integridad de los filtros.

Conclusión

Se cumplen todos los criterios de aceptación del estudio; por tanto, la filtración del PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI queda validada como una filtración estéril.

2.2.1.2.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro

De acuerdo con la composición del PDT, PTT y solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio), el disolvente modelo fue el agua para el estudio de los compuestos extraíbles del filtro.

Así, como los filtros son idénticos para filtrar HBsAg, PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI, la evaluación de compuestos extraíbles presentada en el apartado 2.2.1.1.2 es aplicable.

2.2.1.2.3 Estudio de compatibilidad química

Este estudio se llevó a cabo a partir de información del proceso, la evaluación química del producto filtrado y datos bibliográficos. Además, se evaluó la información generada durante el

