



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 PDT, PTT, solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y WFI.

### 2.2.1.3 Estudio 3: filtración esterilizante de la solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio), IPV y la cantidad suficiente de WFI (pasos de elaboración 14 a 15, 18 a 19 y 25)

#### 2.2.1.3.1 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 solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) e IPV demostró que estos componentes carecen de 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.

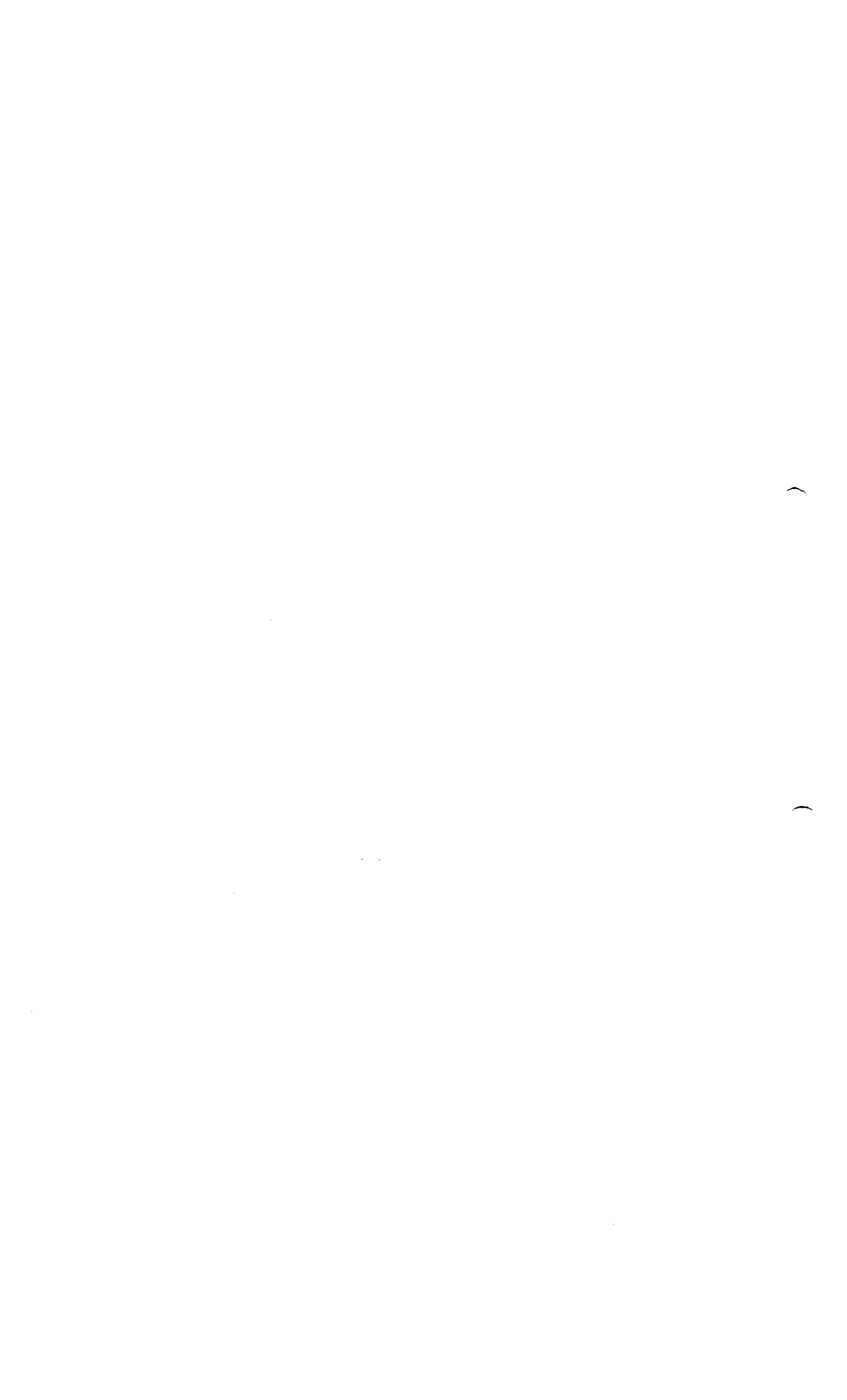
- Resultados y conclusiones del estudio de retención bacteriana

Durante la elaboración del PFAG, se introduce solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) por filtración antes del IPV. Por tanto, el organismo de desafío se suspendió en solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) siguiendo el método de inoculación directa.

Tras una filtración a través de cada filtro de membrana de 0,22  $\mu\text{m}$ , se verificó la esterilidad de los filtrados; los resultados del estudio de desafío microbiano se presentan en la Tabla 6.

Tras la filtración de la suspensión bacteriana en solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio), todas las bacterias quedaron retenidas en los tres filtros; así, los filtrados eran estériles.

Se filtran después WFI, IPV y WFI a través de los filtros que han retenido las bacterias y los filtrados siguen siendo estériles, ya que no se hallaron bacterias en los filtrados.





**Tabla 6: Resultados del estudio de desafío microbiano**

| Filtros            | Desafío microbiano con solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) |                          | Filtración del WFI*      | Filtración del IPV       | Filtración del WFI*      |
|--------------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                    | Desafío microbiano al filtro (UFC/cm <sup>3</sup> )   | Bacterias en el filtrado | Bacterias en el filtrado | Bacterias en el filtrado | Bacterias en el filtrado |
| Filtro de prueba A | 2,9·10 <sup>7</sup>   | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba B | 2,7·10 <sup>7</sup>   | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba C | 2,8·10 <sup>7</sup>   | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |

\* Para el desafío microbiano, el WFI fue sustituida por agua purificada de calidad equivalente a la del WFI. No existe efecto alguno sobre el desafío microbiano.

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 de la filtración, y los resultados cumplen con los criterios de aceptación. Queda demostrada la integridad de los filtros.

**Conclusión**

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

**2.2.1.3.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro**

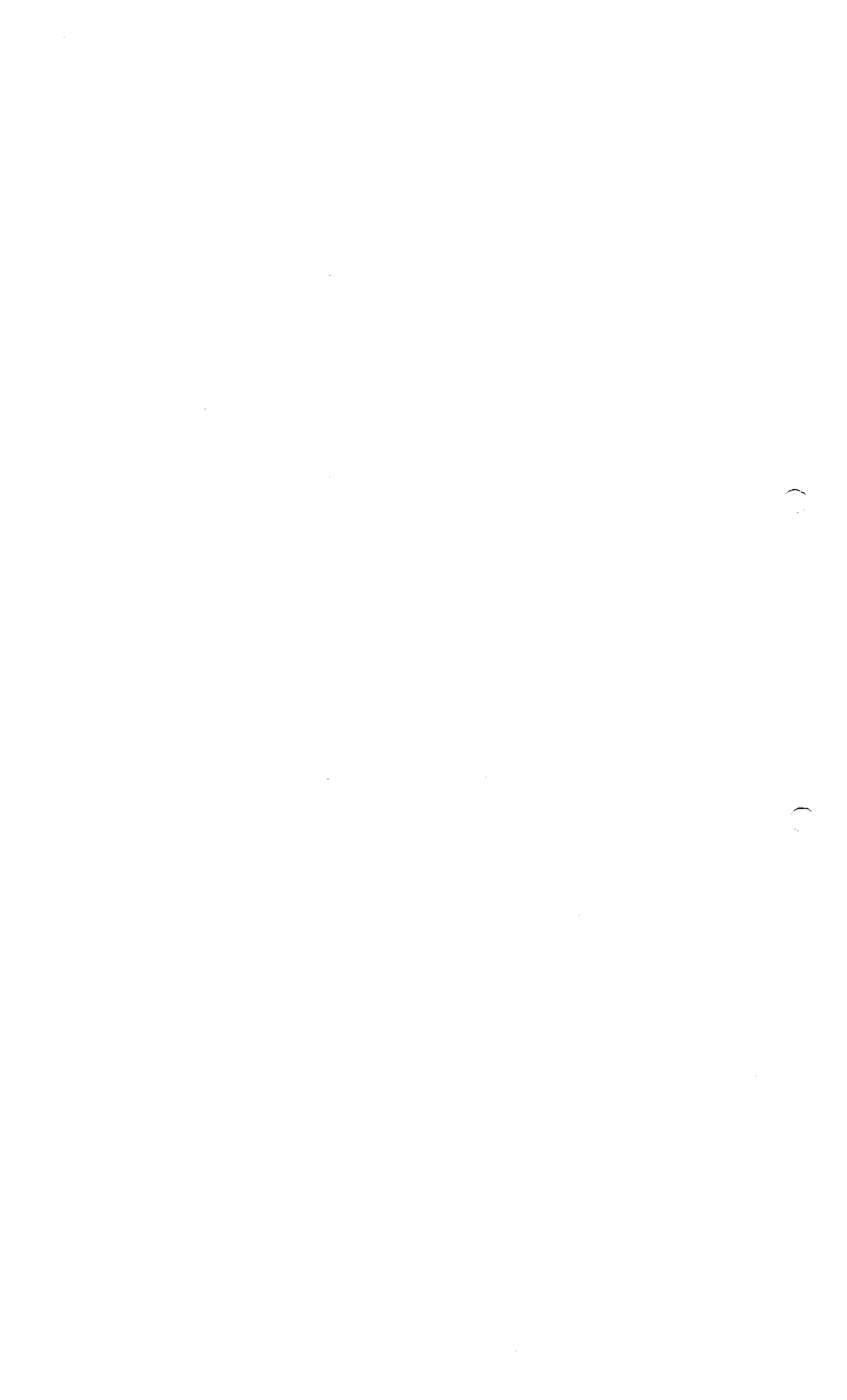
De acuerdo con la composición de la solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y del IPV, se determinaron dos disolventes modelo (agua y etanol desnaturalizado) para la evaluación de los compuestos extraíbles.

Los resultados obtenidos para las cantidades de compuestos extraíbles, en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto, se presentan en la Tabla 7.

**Tabla 7: Resultados del estudio de compuestos extraíbles**

|   | Disolvente modelo: agua |                                | Disolvente modelo: etanol desnaturalizado |     |
|---|-------------------------|--------------------------------|---|-----|
|   | NVR                     | TOC                            | NVR                                       | TOC |
| Cantidad media de compuestos extraíbles | 4,4 mg                  | 1,5 mg (expresados en carbono) | 22,5 mg                                   | NA* |

\* No se aplica porque el etanol interfiere con el método analítico.





Se demostró que los residuos no volátiles recuperados de la extracción con agua y con etanol desnaturalizado consistían solamente en 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.

**2.2.1.3.3 Estudio de compatibilidad química**

Este estudio de compatibilidad química se llevó a cabo analizando la integridad de los filtros antes y después de la filtración con solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio), IPV y WFI en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto.

De hecho, si existe interacción química entre los componentes del filtro y los componentes filtrados, los rendimientos de filtración se reducen y por tanto los valores del punto de burbuja pueden ser falsos.

La prueba cumple los criterios correspondientes y la integridad del filtro queda demostrada tras su contacto con el producto en condiciones industriales.

**Conclusión**

Por tanto, no se observa incompatibilidad química alguna entre el filtro y la solución tamponada (hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato de potasio) y el IPV.

**2.2.1.4 Estudio 4: filtración esterilizante de la solución tamponada (trometamol y sacarosa) y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro; pasos de elaboración 22 y 23)**

**2.2.1.4.1 Estudio de retención bacteriana**

• Pruebas preliminares

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

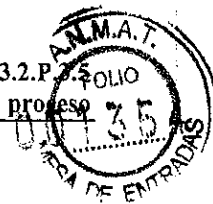
- La evaluación preliminar de la viabilidad de *Brevundimonas diminuta* en contacto con solución tamponada (trometamol y sacarosa) demostró que este componente no tiene efecto antibacteriano alguno contra *Brevundimonas diminuta*; por tanto, se podía utilizar el método de inoculación directa para el 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

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





El organismo de desafío se suspendió en solución tamponada (trometamol y sacarosa) por 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 8.

**Tabla 8: Resultados del estudio de desafío microbiano**

| Filtros            | Desafío microbiano con solución tamponada (trometamol y sacarosa) |                          | Filtración del WFI       |
|--------------------|---|--------------------------|--------------------------|
|                    | Desafío microbiano al filtro (UFC/cm <sup>2</sup> )               | Bacterias en el filtrado | Bacterias en el filtrado |
| Filtro de prueba A | 1,1·10 <sup>8</sup>   | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba B | 1,1·10 <sup>8</sup>   | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba C | 1,1·10 <sup>8</sup>   | 0                        | 0                        |

Tras la filtración de la suspensión bacteriana en solución tamponada (trometamol y sacarosa), todas las bacterias quedaron retenidas en los tres filtros; así, los filtrados eran estériles.

Se filtró después WFI a través de los filtros que han retenido las bacterias y 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 probada la integridad de los filtros.

**Conclusión**

Se cumplieron todos los criterios de aceptación del estudio; por tanto, la filtración de la solución tamponada (trometamol y sacarosa) y del WFI queda validada como una filtración estéril.

**2.2.1.4.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro**

Según la composición de la solución tamponada (trometamol y sacarosa), se determinaron dos disolventes modelo (agua y etanol desnaturalizado) para evaluar los compuestos extraíbles.

Los resultados obtenidos en cuanto a las cantidades de compuestos extraíbles, en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto, se presentan en la Tabla 9.

**Tabla 9: Resultados del estudio de compuestos extraíbles**

|   | Disolvente modelo: agua |                                | Disolvente modelo: etanol desnaturalizado |     |
|---|-------------------------|--------------------------------|---|-----|
|   | NVR                     | TOC                            | NVR                                       | TOC |
| Cantidad media de compuestos extraíbles | 9,9 mg                  | 3,4 mg (expresados en carbono) | 50,7 mg                                   | NA* |

\* No se aplica porque el etanol interfiere con el método analítico.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





Se demostró que los residuos no volátiles recuperados de la extracción con agua y con etanol desnaturalizado consistían solamente en 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.

#### **2.2.1.4.3 Estudio de compatibilidad química**

Este estudio de compatibilidad química se llevó a cabo analizando la integridad de los filtros antes y después de la filtración con solución tamponada (trometamol y sacarosa) y WFI en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto.

De hecho, si existe interacción química entre los componentes del filtro y los componentes filtrados, los rendimientos de filtración se reducen y por tanto los valores del punto de burbuja pueden ser falsos.

La prueba cumple los criterios correspondientes y la integridad del filtro queda demostrada tras su contacto con el producto en condiciones industriales.

#### **Conclusión**

Por tanto, no se observa incompatibilidad química alguna entre el filtro y la solución tamponada (trometamol y sacarosa) y el WFI.

#### **2.2.1.5 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; pasos de elaboración 20 y 21)**

##### **2.2.1.5.1 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 PRP-T demostró que este componente no 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





El organismo de desafío se suspendió en PRP-T por 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 10.

**Tabla 10: Resultados del estudio de desafío microbiano**

| Filtros            | Desafío microbiano con solución tamponada (PRP-T)   |                          | Filtración del WFI       |
|--------------------|---|--------------------------|--------------------------|
|                    | Desafío microbiano al filtro (UFC/cm <sup>2</sup> ) | Bacterias en el filtrado | Bacterias en el filtrado |
| Filtro de prueba A | 1,62·10 <sup>8</sup>                                | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba B | 1,62·10 <sup>8</sup>                                | 0                        | 0                        |
| Filtro de prueba C | 1,18·10 <sup>8</sup>                                | 0                        | 0                        |

Tras la filtración de la suspensión bacteriana en PRP-T, 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 y 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. Quedó demostrada la integridad de los filtros.

**Conclusión**

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

**2.2.1.5.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro**


De acuerdo con la composición del PRP-T, se determinó un disolvente modelo (propilenglicol al 15 %) para la evaluación de compuestos extraíbles.


Los resultados obtenidos en cuanto a las cantidades de compuestos extraíbles, en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto, se presentan en la Tabla 11.

**Tabla 11: Resultados del estudio de compuestos extraíbles**

| Disolvente modelo: propilenglicol al 15 % |      |
|---|------|
| NVR                                       |      |
| Cantidad media de compuestos extraíbles   | 8 mg |

Se demostró que los residuos no volátiles recuperados de la extracción con propilenglicol al 15 % consistían solamente en componentes normales del filtro y aditivos del filtro. No presentan

  
 ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

  
 CHRISTIAN DOMINGUEZ  
 APODERADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.





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.

**2.2.1.5.3 Estudio de compatibilidad química**

Este estudio de compatibilidad química se llevó a cabo analizando la integridad de los filtros antes y después de la filtración con PRP-T y WFI en las condiciones más desfavorables de duración y temperatura de contacto.

De hecho, si existe interacción química entre los componentes del filtro y los componentes filtrados, los rendimientos de filtración se reducen.

La prueba cumple los criterios correspondientes y la integridad del filtro quedó demostrada tras su contacto con el producto en condiciones industriales.

**Conclusión**

Por tanto, no se observa incompatibilidad química alguna entre el filtro y el PRP-T y el WFI.

**2.2.1.6 Estudio 6: filtración esterilizante de la solución de aminoácidos esenciales y del WFI (utilizada para enjuagar el filtro; pasos de elaboración 16 y 17)**

**2.2.1.6.1 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 la solución de aminoácidos esenciales demostró que este componente tiene efecto antibacteriano contra *Brevundimonas diminuta*; por tanto, se utiliza el método de inoculación indirecta 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

De acuerdo con la evaluación preliminar, es necesario utilizar el método de inoculación indirecta porque la solución de aminoácidos esenciales tiene un efecto antibacteriano contra *Brevundimonas diminuta*.





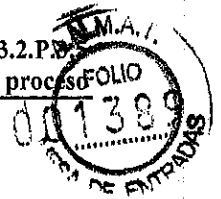
### 3.1.2.6 Conclusión general sobre la validación del proceso de llenado

Han quedado demostrados los siguientes aspectos:

- La capacidad del proceso de llenado.
- La homogeneidad del producto llenado durante el proceso de llenado.
- Con el proceso de llenado se obtienen, de modo uniforme, lotes que cumplen los criterios de aceptación de liberación.

(1)

(1)



#### 4 Estudios de validación en la planta de Anagni

El proceso de llenado aséptico se validó en la planta de Anagni. Se resumen a continuación los datos de validación correspondientes.

##### 4.1 Validación de las condiciones asépticas

###### Protocolo

La validación del procesamiento aséptico incluye una prueba de simulación del proceso que utiliza un medio nutriente (medio digerido de caseína de soja). La prueba se lleva a cabo de acuerdo con los requisitos de las BPM actuales.

###### Resultados

Los resultados obtenidos para la validación del proceso de llenado en la planta de Anagni se presentan en la Tabla 44.

**Tabla 44: Resultados de la prueba de llenado con medios obtenidos para el proceso de llenado en la planta de Anagni**

| Número de lote | Fecha de llenado | No. de viales llenados | Criterios de aceptación | N.º de viales contaminados | Resultados |
|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|----------------------------|------------|
| A6001          | 30 ene 2006      | 17946                  | 0 viales contaminados   | 0                          | Cumple     |
| A6002          | 21 feb 2006      | 19258                  | 0 viales contaminados   | 0                          | Cumple     |
| A6003          | 22 feb 2006      | 17152                  | 0 viales contaminados   | 0                          | Cumple     |

Todos los resultados cumplen los criterios de aceptación y validan las condiciones asépticas del llenado.

##### 4.2 Validación del llenado (incluida la homogeneidad)

Se han utilizado lotes industriales de la vacuna Hexaxim elaborados en condiciones operativas industriales en la planta de Anagni para demostrar:

- La capacidad del proceso de llenado (uniformidad del volumen llenado).
- La homogeneidad del producto a lo largo del proceso de llenado.
- La conformidad y la reproducibilidad de la calidad del producto (conformidad con los criterios de aceptación de tres lotes consecutivos).





#### 4.2.1 Lotes de validación

Las características de los lotes utilizados en la validación del proceso de llenado en la planta de Anagni se presentan en la Tabla 45.

**Tabla 45: Lotes de la vacuna Hexaxim utilizados en la validación del proceso de llenado en viales en la planta de Anagni**

| Producto llenado      |                |                      |                 | Producto final a granel correspondiente (PFAG) |                |                      |                 |
|-----------------------|----------------|----------------------|-----------------|--|----------------|----------------------|-----------------|
| Planta de elaboración | Número de lote | Fecha de elaboración | Tamaño del lote | Planta de elaboración                          | Número de lote | Fecha de elaboración | Escala del lote |
| Planta de Anagni      | S4114          | 20 mar 2006          | 127.021 viales  | Marcy l'Étoile                                 | FDNC0005       | 15 oct 2005          | 250 L           |
| Planta de Anagni      | S4115          | 21 mar 2006          | 133.637 viales  | Marcy l'Étoile                                 | FDNC0006       | 29 nov 2005          | 250 L           |
| Planta de Anagni      | S4116          | 22 mar 2006          | 118.684 viales  | Marcy l'Étoile                                 | FDNC0007       | 06 dic 2005          | 250 L           |

#### 4.2.2 Capacidad del proceso de llenado

##### Protocolo

La capacidad del proceso consiste en evaluar el volumen llenado durante el proceso de llenado.

El volumen llenado se analiza para cada dispositivo dispensador, con regularidad, durante toda la duración del llenado.

##### Criterios de aceptación

El análisis estadístico de los volúmenes llenados debe demostrar la uniformidad del volumen llenado durante el proceso de llenado.

Los valores de Cp tienen que ser  $\geq 1,5$ .

##### Resultados

Los resultados de volumen llenado obtenidos durante toda la validación del proceso de llenado se presentan en la Tabla 46.

**Tabla 46: Resultados de volúmenes de llenado durante toda la validación del proceso de llenado**

|   | Número de lote |           |           |
|---|----------------|-----------|-----------|
|   | Corrida 1      | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Número de viales analizados durante toda la validación del proceso de llenado | 200            | 200       | 200       |
| Media de los pesos llenados (g)   | 0,667          | 0,664     | 0,664     |
| Desviación estándar (g)   | 0,008          | 0,006     | 0,006     |
| Cp*   | 1,53           | 2,37      | 2,07      |
| Criterio de aceptación del Cp   | $\geq 1,5$     |           |           |

\* Cp: índice de capacidad.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.



Para las tres corridas, los valores del Cp cumplen el criterio de aceptación. Los resultados obtenidos muestran que el volumen llenado es uniforme durante todo el proceso de llenado.

#### 4.2.3 Homogeneidad del producto durante todo el proceso de llenado

##### Protocolo

La homogeneidad del producto llenado se estudió analizando los valores de la densidad óptica con regularidad a lo largo de toda la duración del llenado.

##### Criterios de aceptación

El producto llenado es homogéneo si el análisis estadístico muestra que la densidad óptica es independiente del factor tiempo.

##### Resultados

El análisis estadístico de los valores de la densidad óptica de los lotes de validación (medidos en transmitancia a 700 nm) se presenta en la Tabla 47.

**Tabla 47: Resultados estadísticos de las medidas de densidad óptica durante el llenado (medidas en transmitancia a 700 nm)**

| Parámetros estadísticos                       | S4114   | S4115   | S4116   |
|---|---------|---------|---------|
| Media de todas las medidas de densidad óptica | 16,9185 | 20,5361 | 20,4003 |
| Desviación estándar ( $\sigma$ )              | 0,2826  | 0,1472  | 0,2004  |
| Límite superior de control (UCL)              | 17,7662 | 20,9776 | 21,0016 |
| Límite inferior de control (LCL)              | 16,0708 | 20,0946 | 19,7991 |
| Cpk*  | 1,8657  | 4,3175  | 2,7282  |

\* Corresponde al valor mínimo calculado según la fórmula siguiente.

$$\left[ \frac{\text{Upper Sample Limit}}{3\sigma} ; \frac{\text{Lower Sample Limit}}{3\sigma} \right]$$

Para cada lote, todas las medidas de densidad óptica se hallan dentro de los límites de control (UCL y LCL) y el Cpk es superior a 1,5; estos resultados demuestran que no existe correlación entre la duración del llenado y la homogeneidad del producto llenado.

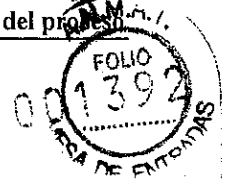
Por lo tanto, la homogeneidad del producto llenado queda demostrada durante todo el proceso de llenado.

#### 4.2.4 Conformidad y reproducibilidad de la calidad del producto

##### Protocolo

La reproducibilidad se estudia en tres lotes consecutivos de la vacuna Hexaxim para demostrar que del proceso de elaboración se obtiene un producto reproducible con la calidad necesaria.





**Criterios de aceptación**

La conformidad y la reproducibilidad quedan demostradas si los resultados analíticos de los tres lotes cumplen los criterios de aceptación.

Los lotes de validación de la vacuna Hexaxim llenados en la planta de Anagni se obtuvieron del PFAG elaborado con la formulación inicial. Así, las especificaciones utilizadas para controlar estos lotes fueron las utilizadas en este momento (vea la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones).

**Resultados**

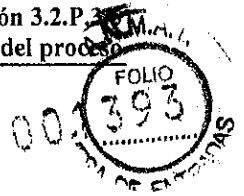
Los resultados analíticos correspondientes a los tres lotes consecutivos de la vacuna Hexaxim elaborados en la planta de Anagni se presentan en la Tabla 48.

**Tabla 48: Análisis de tres lotes consecutivos de la vacuna Hexaxim**

| Pruebas*                                   | Criterios de aceptación   | Números de lote                             |   |   |
|--|---|---|---|---|
|  |   | S4114                                       | S4115                                       | S4116                                       |
| Aspecto                                    | Suspensión turbia y blancuzca   | Cumple                                      | Cumple                                      | Cumple                                      |
| Volumen extraíble                          | ≥0,5 mL para cada uno de los 5 viales individuales ensayados              | Cumple                                      | Cumple                                      | Cumple                                      |
| Contenido de aluminio                      | 0,40-0,80 mg/dosis  | 0,63  | 0,57  | 0,54  |
| Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica | No se observa crecimiento microbiano                                      | Cumple                                      | Cumple                                      | Cumple                                      |
| Toxicidad anormal                          | Ausencia de muerte o enfermedad en los 7 días siguientes a la inoculación | Cumple                                      | Cumple                                      | Cumple                                      |
| Prueba de pirógenos                        | Cumple con el criterio de la Ph. Eur.                                     | 0°73<br>(0°09-0°39-0°25)<br>Cumple          | 0°43<br>(0°17-0°08-0°19)<br>Cumple          | 0°27<br>(0°18-0°06-0°03)<br>Cumple          |
| Identidad de la difteria                   | Positiva  | Positiva                                    | Positiva                                    | Positiva                                    |
| Identidad del tétanos                      | Positiva  | Positiva                                    | Positiva                                    | Positiva                                    |
| Identidad de la tos ferina                 | Positiva  | Positiva                                    | Positiva                                    | Positiva                                    |
| Contenido de antígeno D (identificación)   | Tipo 1: 20-43 UD/dosis<br>Tipo 2: 5-9 UD/dosis<br>Tipo 3: 17-36 UD/dosis  | Tipo 1: 28,5<br>Tipo 2: 5,9<br>Tipo 3: 25,3 | Tipo 1: 27,5<br>Tipo 2: 5,7<br>Tipo 3: 22,9 | Tipo 1: 28,6<br>Tipo 2: 5,7<br>Tipo 3: 23,2 |
| Identidad de la hepatitis B                | Positiva  | Positiva                                    | Positiva                                    | Positiva                                    |
| Identidad de <i>Haemophilus</i>            | Positiva  | Positiva                                    | Positiva                                    | Positiva                                    |

\* Vea la sección 3.2.P.5.6 Justificación de las especificaciones, que ofrece una síntesis de los criterios de aceptación para liberación aplicados a los diferentes lotes y la justificación de la eliminación de algunas pruebas de liberación realizadas durante el desarrollo del producto.





Los resultados analíticos de los tres lotes de validación elaborados en la planta de Anagni cumplen los criterios de aceptación.

#### 4.2.5 Conclusión general sobre la validación del proceso de llenado

Han quedado demostrados los siguientes aspectos:

- La capacidad del proceso de llenado.
- La homogeneidad del producto llenado durante el proceso de llenado.
- Con el proceso de llenado se obtienen, de modo uniforme, lotes que cumplen los criterios de aceptación.

### 5 Conclusiones

Todos los datos presentados en esta sección demuestran la validación de los pasos críticos de elaboración del producto medicinal de la vacuna Hexaxim.



Los lotes de producto final a granel (planta de MLE) y los lotes de producto final (plantas de MLE, VDR y Anagni) se elaboran de manera uniforme con los atributos de calidad necesarios independientemente de la planta de elaboración.

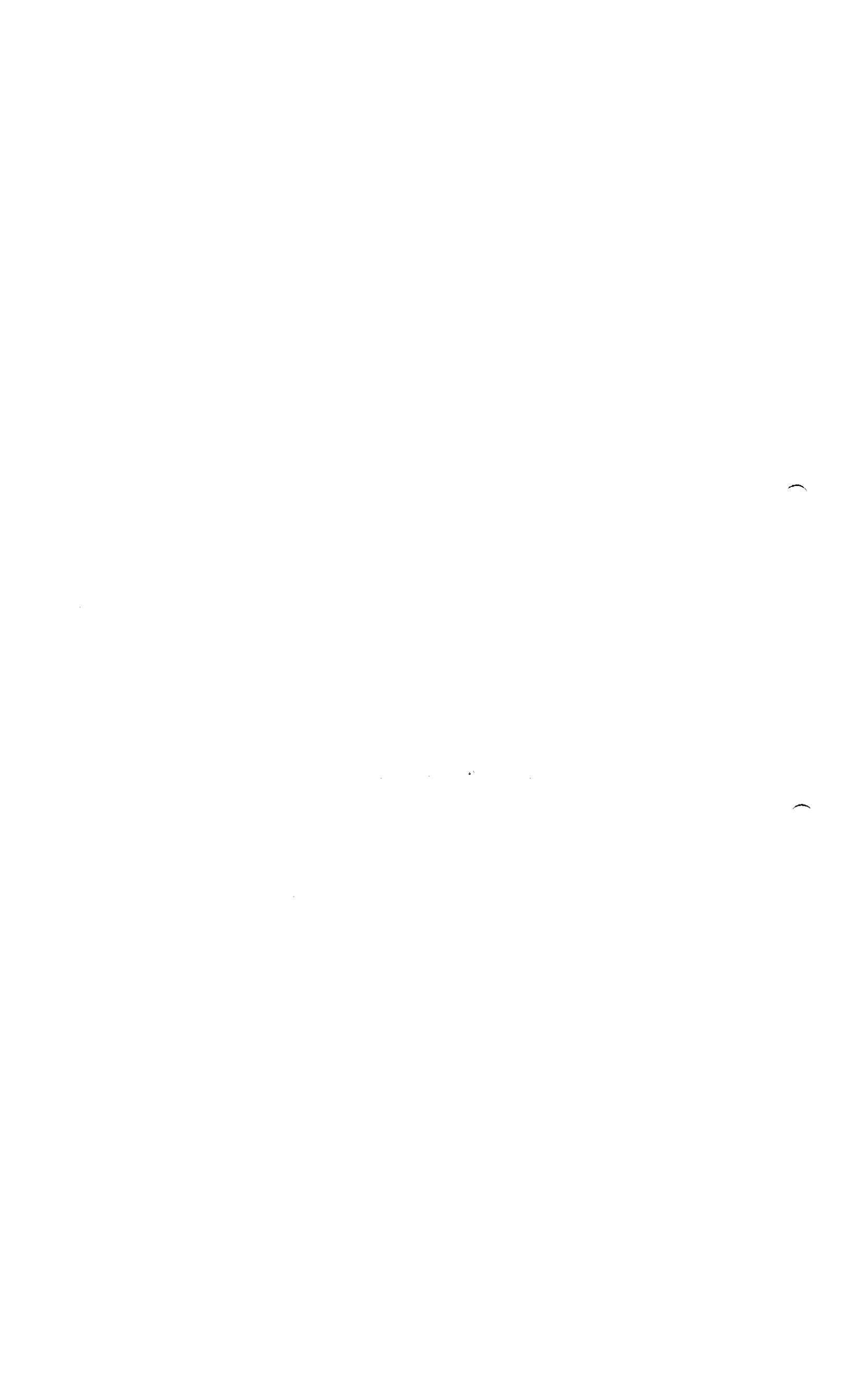




**3.2.S.2.5**

**Validación y/o Evaluación del Proceso - Diftérico**

|   |  |
|---|--|
| <br>ROXANA MONTEMILONE<br>DIRECTORA TÉCNICA<br>SANOFI PASTEUR S.A. | <br>CHRISTIAN DOMÍNGUEZ<br>APODERADO<br>SANOFI PASTEUR S.A. |
|---|--|

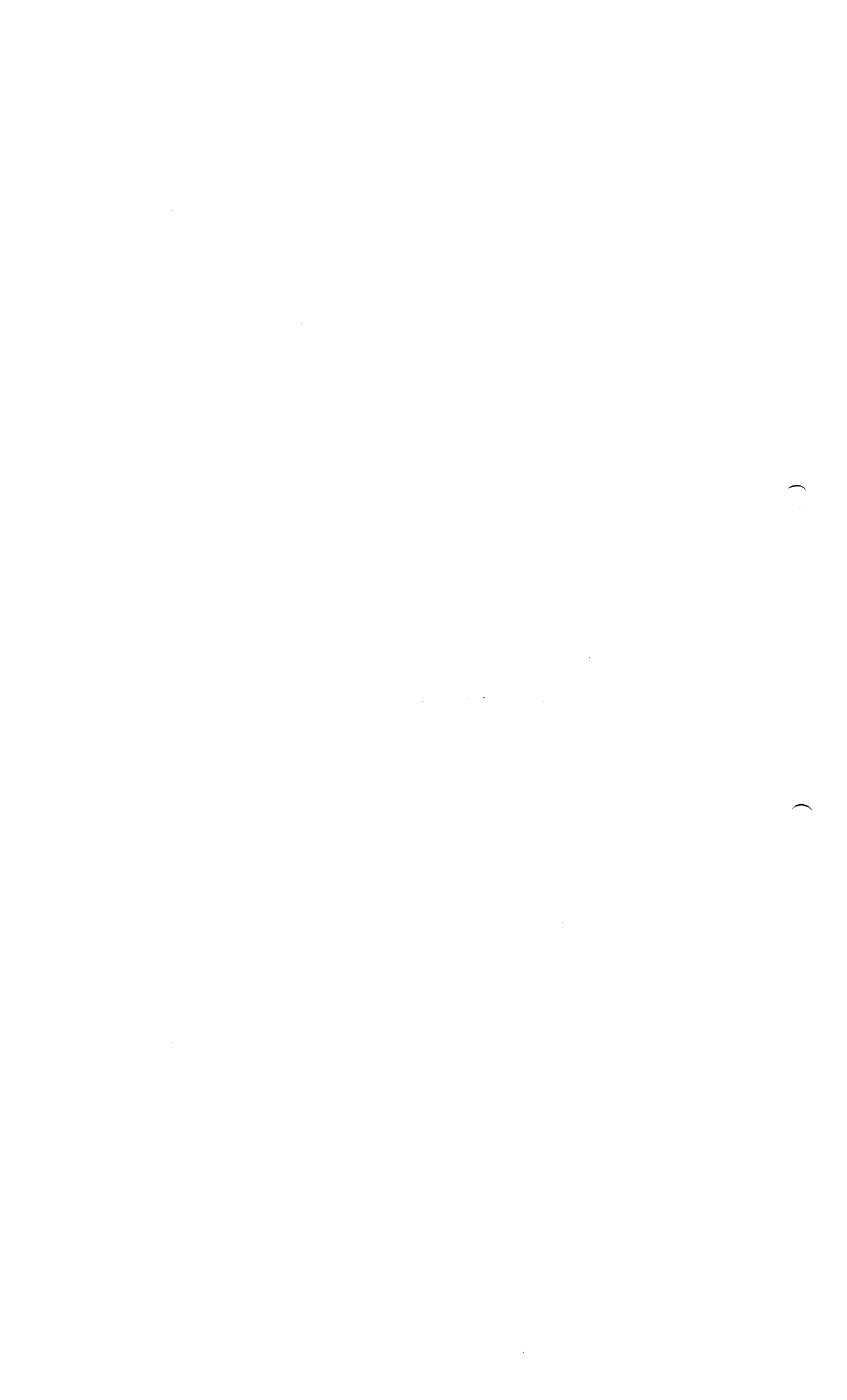




## Sección 3.2.S.2.5 Validación y/o evaluación del proceso

### Índice

|   |    |
|---|----|
| Lista de tablas .....   | 2  |
| 1 <b>Introducción</b> .....   | 4  |
| 2 <b>Validación del proceso de fermentación de <i>Corynebacterium diphtheriae</i></b> ..... | 5  |
| 2.1    Introducción .....   | 5  |
| 2.2    Resultados .....   | 5  |
| 2.2.1    Primer precultivo .....  | 8  |
| 2.2.2    Segundo precultivo .....   | 9  |
| 2.2.3    Tercer precultivo .....  | 10 |
| 2.2.4    Cultivo industrial .....   | 11 |
| 2.3    Conclusión .....   | 12 |
| 3 <b>Validación del proceso de detoxificación de la toxina diftérica cruda</b> .....        | 12 |
| 3.1    Introducción .....   | 12 |
| 3.2    Resultados .....   | 12 |
| 3.2.1    Primer tratamiento con formaldehído.....   | 14 |
| 3.2.2    Segundo tratamiento .....  | 15 |
| 3.2.3    Detoxificación .....   | 16 |
| 3.3    Conclusión .....   | 17 |
| 4 <b>Validación del proceso de purificación de <i>Corynebacterium diphtheriae</i></b> ..... | 18 |
| 4.1    Introducción .....   | 18 |
| 4.2    Pruebas de control de calidad .....  | 18 |
| 4.3    Prueba de validación complementaria .....  | 20 |
| 4.4    Estudio de comparabilidad.....   | 21 |
| 4.5    Conclusión .....   | 21 |
| 5 <b>Conclusión general</b> .....   | 21 |





### Lista de tablas

Tabla 1: Parámetros de producción monitoreados durante el proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae*.....5

Tabla 2: Cálculo y validación del rango para una distribución normal de los datos.....7

Tabla 3: Cálculo y validación del rango para una distribución no normal de los datos.....7

Tabla 4: Duración de la primera incubación. Resultado del análisis estadístico.....8

Tabla 5: Duración de la segunda incubación. Resultado del análisis estadístico.....8

Tabla 6: Duración de la primera incubación. Resultado del análisis estadístico.....9

Tabla 7: Rango del parámetro del proceso de temperatura de la segunda incubación.....9

Tabla 8: Segunda incubación. Resultado del análisis estadístico.....10

Tabla 9: Rango de la temperatura del parámetro del proceso del tercer precultivo.....10

Tabla 10: Duración del tercer precultivo. Resultado del análisis estadístico.....11

Tabla 11: Rango de la temperatura del cultivo industrial.....11

Tabla 12: Duración del cultivo industrial. Resultado del análisis estadístico.....12

Tabla 13: Parámetros de producción monitoreados durante el proceso de detoxificación de la toxina diftérica cruda.....13

Tabla 14: Rango de la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada durante el 1.<sup>er</sup> tratamiento.....14

Tabla 15: Rango de la cantidad de formaldehído agregada durante el 1.<sup>er</sup> tratamiento.....14

Tabla 16: Rango de la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada durante el 2.<sup>o</sup> tratamiento.....15

Tabla 17: Rango de la cantidad de glicina agregada durante el 2.<sup>o</sup> tratamiento.....16

Tabla 18: Rango de la cantidad de formaldehído agregada durante el 2.<sup>o</sup> tratamiento.....16

Tabla 19: Rango de la temperatura de la detoxificación.....17

Tabla 20: Duración de la detoxificación. Resultado del análisis estadístico.....17

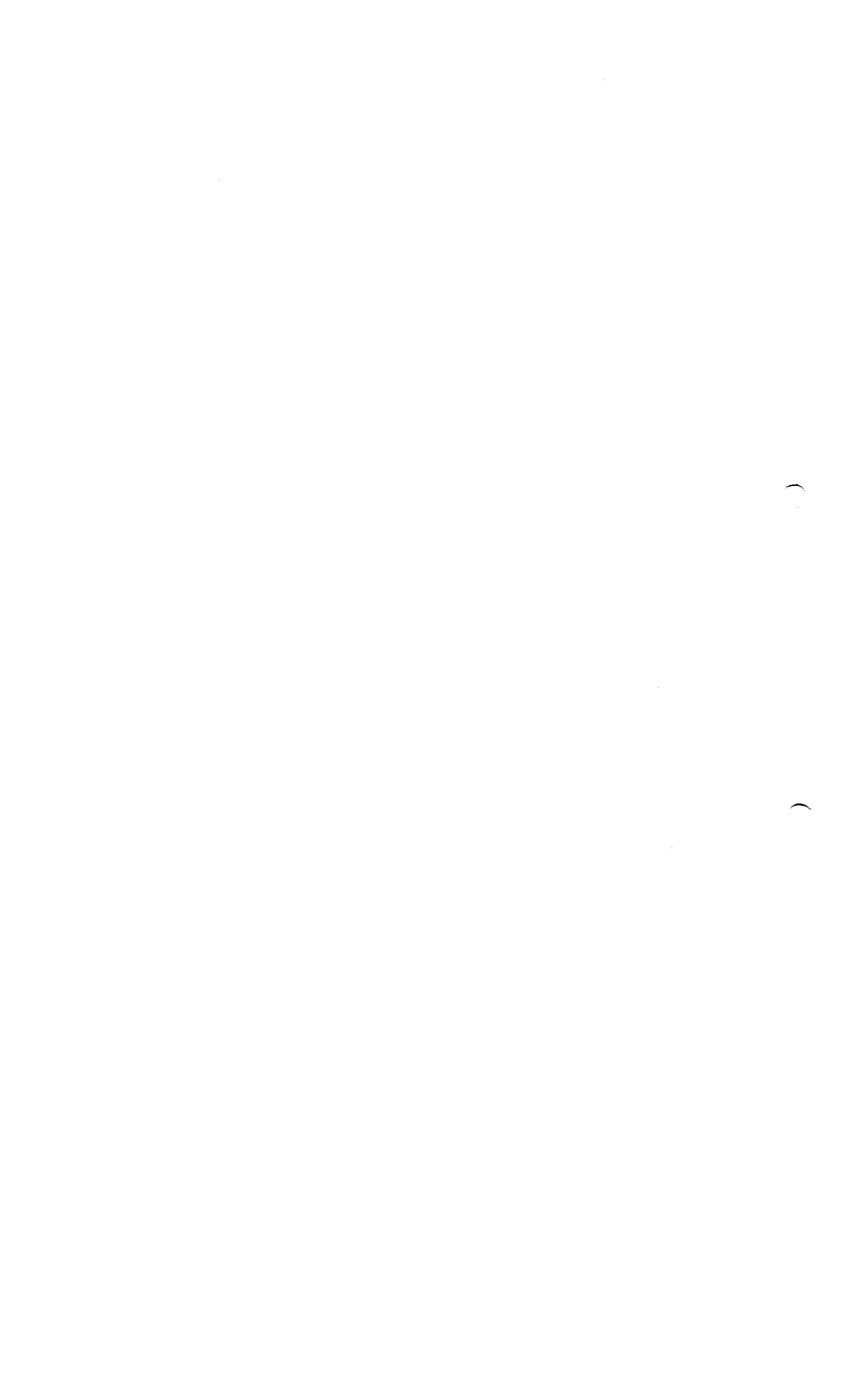
Tabla 21: Descripción de los lotes de uniformidad del toxoide diftérico purificado.....18

Tabla 22: Resultados del control de calidad para los tres lotes de validación del toxoide diftérico purificado.....19

Tabla 23: Descripción de los tres lotes de producción actuales.....19

Tabla 24: Resultados del control de calidad para tres lotes recientes adicionales del toxoide diftérico purificado.....20

Tabla 25: Resultados del cociente del toxoide diftérico purificado.....20



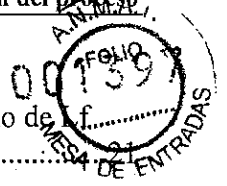


Tabla 26: Comparación de los resultados de la pureza antigénica y del cociente del título de f.....  
frente a los límites de confianza del 99,8 %.....

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.

(

(

2000



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

## 1 Introducción

La producción del toxoide diftérico purificado (PDT) está dividida en tres pasos de producción principales:

- Fermentación de *Corynebacterium diphtheriae* para producir la toxina diftérica cruda;
- Cosecha, tratamiento y detoxificación de la toxina diftérica cruda para obtener el toxoide diftérico crudo (CDT);
- Purificación del toxoide diftérico crudo para obtener el toxoide diftérico purificado (PDT).

Para llevar a cabo los pasos de fermentación y detoxificación del proceso de elaboración, se realizó una validación retrospectiva y una validación concurrente complementaria basadas en el análisis de los datos de los parámetros de producción.

La validación del proceso de purificación se llevó a cabo en tres lotes industriales de uniformidad y se basó en la evaluación de lo siguiente:

- Pruebas de control de calidad del principio activo: las que se definen en la sección 3.2.S.4.1 Especificación.
- Una prueba de validación complementaria (cociente del título de floculación [Lf] entre el toxoide diftérico crudo para ser purificado y el toxoide diftérico purificado).
- La comparación de la pureza antigénica entre los lotes de uniformidad y los lotes históricos, y el cociente del título de Lf del toxoide diftérico crudo frente al toxoide diftérico purificado.

Las siguientes secciones describen los datos obtenidos para respaldar la validación de todos los pasos del proceso de elaboración.





## 2 Validación del proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae*

### 2.1 Introducción

Esta sección se comprende la validación del proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae*, desde la amplificación del cultivo hasta la obtención de la toxina diftérica cruda.

La validación del proceso de fermentación se basó en un estudio de validación retrospectivo que se llevó a cabo en 30 lotes (elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006), con el objetivo de determinar si el proceso funciona en un estado de control y si produce la toxina diftérica cruda de manera uniforme y con la calidad requerida. Se recabaron los datos históricos de los parámetros de producción de los registros de los lotes y se analizaron para validar el rango de cada parámetro de producción monitoreado durante el proceso de fermentación.

En los siguientes capítulos, se detallan los lotes seleccionados para el estudio, el análisis de datos y los rangos validados (o rangos preliminares) para cada parámetro de producción.

### 2.2 Resultados

En la Tabla 1, se presentan, a modo de recordatorio, los parámetros de producción monitoreados durante la fermentación de *Corynebacterium diphtheriae* (proporcionados en la sección 3.2.S.2.2 Cultivo y cosecha celular) desde el primer precultivo (etapa 1) hasta la obtención de la toxina diftérica cruda (etapa 4).

**Tabla 1: Parámetros de producción monitoreados durante el proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae***

|                                      | Parámetros de producción                     | Rangos operativos   |
|--------------------------------------|--|---------------------|
| Etapa 1: 1. <sup>er</sup> precultivo | Temperatura de la 1. <sup>a</sup> incubación | 36 °C ± 1 °C        |
|                                      | Duración de la 1. <sup>a</sup> incubación    | 24 h a 24 h 15 min* |
|                                      | Temperatura de la 2. <sup>a</sup> incubación | 22°C ± 3°C          |
|                                      | Duración de la 2. <sup>a</sup> incubación    | 29 h a 55 h 35 min. |

