

Etapa 2: 2.º precultivo	Temperatura de la 1.ª incubación	22°C ± 3°C
	Duración de la 1.ª incubación	45 h a 47 h 55 min. †
	Temperatura de la 2.ª incubación	36°C ± 1°C
	Duración de la 2.ª incubación	24 h a 24 h 20 min.
Etapa 3: 3.º precultivo	Temperatura de la 3.ª incubación	35,5 °C - 36,5 °C ‡
	Duración del 3.º precultivo	14 h 45 min. a 22 h §
Etapa 4: Cultivo industrial	Temperatura del cultivo industrial	35,2 °C - 36,4 °C **
	Duración del cultivo industrial	24 h a 32 h

- * Para los lotes clínicos de Hexaxim, el rango inicial que se utilizó anteriormente en la producción de rutina fue el siguiente: 20 h a 28 h.
- † Para los lotes clínicos de Hexaxim, el rango inicial que se utilizó anteriormente en la producción de rutina fue el siguiente: 40 h a 56 h.
- ‡ Para los lotes clínicos de Hexaxim, el rango inicial que se utilizó anteriormente en la producción de rutina fue el siguiente: 36 °C ± 1 °C.
- § Para los lotes clínicos de Hexaxim, el rango inicial que se utilizó anteriormente en la producción de rutina fue el siguiente: 14 h a 22 h.
- ** Para los lotes clínicos de Hexaxim, el rango inicial que se utilizó anteriormente en la producción de rutina fue el siguiente: 36 °C ± 1 °C.

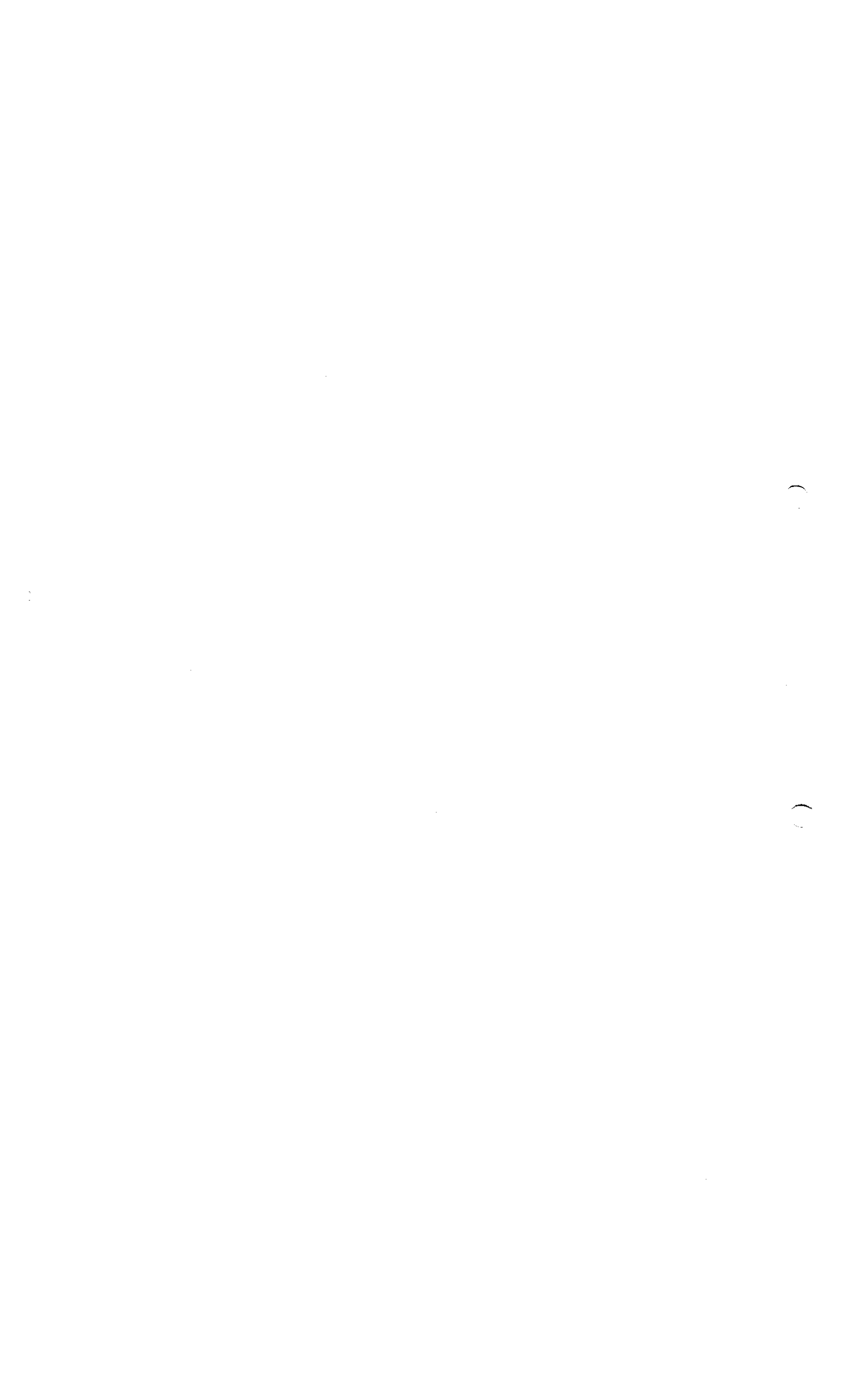
*Nota: Debido a la implementación de medidas correctivas en algunos de los parámetros del proceso (como la temperatura de la 2.ª incubación, la temperatura del 3.º precultivo y la temperatura del cultivo industrial) después de la elaboración de los 30 lotes seleccionados para la validación retrospectiva, se realizó una validación concurrente al menos en, 30 lotes para estos parámetros en cuestión.
En función de los datos recabados hasta el momento, solo se pudo validar un rango preliminar para la temperatura de la 2.ª incubación. El rango operativo definitivo se establecerá cuando se recaben y analicen los datos de los 30 lotes.*

Para cada parámetro, se realizó un análisis de los datos recabados para validar el rango operativo. La metodología que se utilizó para analizar los datos depende de la naturaleza de estos:

- Para los datos que se registraron y monitorearon continuamente durante la producción (es decir, la temperatura), el rango se definió como [mín.; máx.].
- Para los datos fijados (es decir, la cantidad de materia prima que se debe agregar para alcanzar un valor fijado), el rango se calculó en [valor fijado-1xMAD; valor fijado+1xMAD], donde MAD es la desviación máxima permitida del equipo de medición.

[Signature]
DUXANA MONTMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

[Signature]
CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





- Para los datos numéricos y variables (es decir, la duración), el rango se calculó según un análisis estadístico que se detalla a continuación:
 - Selección de datos: el análisis estadístico se realizó con los datos históricos recabados de 30 lotes comerciales del toxoide diftérico purificado.
 - Verificación de la normalidad de la distribución (prueba de Shapiro-Wilk donde $\alpha = 1\%$).
 - Cálculo y validación del rango:
- 1) Si se verifica la normalidad de la distribución, el rango se calcula y se valida según la fórmula descrita en la tabla 2.

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

	Rango calculado	Rango validado
Rango	$m \pm k_{(n,p,1-\alpha)} \cdot s$	[rango; rango + s]

Donde: m: media de los datos sin procesar;
 k: factor estadístico (que depende de n, p y α);
 s: desviación estándar;
 n: número de datos históricos;
 p y 1- α : nivel de confianza

Los valores de α y p se seleccionaron como una función del riesgo considerado aceptable:

- un riesgo α de 1 % para una proporción de población de p=99,73 %
- un riesgo α de 5 % para una proporción de población de p=94 %

- 2) Si no se verifica la normalidad de la distribución, el rango se calcula y se valida según la fórmula descrita en la tabla 3. Se establece el nivel de confianza del rango para maximizar la proporción de la población (p) incluida en el rango.

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

	Rango calculado	Rango validado
Rango	[mín.; máx.]	[rango; rango + pv]

Donde: Mín. = valor mínimo
 Máx. = valor máximo
 pv = variabilidad del proceso = (máx. - mín.)/6

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





Los resultados obtenidos para cada parámetro de producción monitoreado durante la fermentación de *Corynebacterium diphtheriae* se detallan en los capítulos siguientes.

2.2.1 Primer precultivo

Temperatura de la primera incubación

La temperatura de la primera incubación se registra con un instrumento cualificado, como mínimo, una vez por año. Por lo tanto, este parámetro de producción está bajo control y el rango operativo asociado de $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ se considera validado.

Duración de la primera incubación

El rango definido para la duración de la primera incubación se basa en un análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 4, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	No	
Valores mín./máx.	24 h	24 h 15 min.
Rango calculado (donde $p=0,94$ en el nivel de confianza de 50 %)	24 h	24 h 15 min.

Por lo tanto, el rango validado para la duración de la primera incubación es de 24 h a 24 h 15 min.

Temperatura de la segunda incubación

La temperatura de la segunda incubación se registra con un instrumento cualificado, como mínimo, una vez por año. Por lo tanto, este parámetro de producción está bajo control y el rango operativo asociado de $+22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ se considera validado.

Duración de la segunda incubación

La segunda incubación de los tubos continúa hasta la inoculación de los matraces.

El rango definido para la duración de la segunda incubación se basa en el análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 5, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	No	
Valores mín./máx.	29 h	55 h 35 min.
Rango calculado (donde $p=0,94$ en el nivel de confianza de 50 %)	29 h	55 h 35 min.



Por lo tanto, el rango validado para la duración de la segunda incubación es de 29 h a 55 h 35 min.

2.2.2 Segundo precultivo

Temperatura de la primera incubación

La temperatura de la primera incubación del segundo precultivo se registra con un instrumento cualificado, como mínimo, una vez por año. Por lo tanto, este parámetro de producción está bajo control y el rango operativo asociado de $+22\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ se considera validado.

Duración de la primera incubación

El rango definido para la duración de la primera incubación (del segundo precultivo) se basa en un análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 6, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	No	
Valores mín./máx.	45 h	47 h 55 min.
Rango calculado (donde $p=0,94$ en el nivel de confianza de 50 %)	45 h	47 h 55 min.

Por lo tanto, el rango validado para la duración de la primera incubación (del segundo precultivo) es de 45 h a 47 h 55 min.

Temperatura de la segunda incubación

Después de la implementación de un nuevo sistema numérico que permitió registrar la temperatura de manera continua durante todo el proceso de incubación desde la campaña de producción de 2009, se realizó una validación concurrente al menos en 30 lotes.

Para definir un rango preliminar para la temperatura del parámetro del proceso de la segunda incubación, se analizaron los datos registrados en 17 lotes, elaborados entre enero de 2009 y febrero de 2010.

Este rango preliminar está determinado por el valor mínimo y el valor máximo obtenidos en los 17 lotes (vea los resultados en la tabla 7).

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Valores mín./máx.	33,5 °C	39,2 °C
Rango preliminar	33,5 °C	39,2 °C





El rango preliminar validado para la temperatura de la segunda incubación es de 33,5 °C a 39,2 °C. El rango operativo se establece en 36 °C ± 1 °C. El rango operativo definitivo se establecerá cuando se recaben y se analicen los datos de los 30 lotes.

Duración de la segunda incubación

El rango definido para la duración de la segunda incubación se basa en el análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 8, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso.

Tabla 8: Segunda incubación. Resultado del análisis estadístico

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	No	
Valores mín./máx.	24 h	24 h 20 min.
Rango calculado (donde p=0,94 en el nivel de confianza de 50 %)	24 h	24 h 20 min.

El rango validado para la duración de la segunda incubación es de 24 h a 24 h 20 min.

2.2.3 Tercer precultivo

Temperatura del tercer precultivo

Después de la implementación de un nuevo sistema numérico para monitorear la temperatura del tercer precultivo desde la campaña de producción de 2008, se realizó una validación concurrente al menos en 30 lotes.


Por lo tanto, el rango definido para la temperatura del tercer precultivo se basa en un análisis de los datos recabados en 35 lotes elaborados entre febrero de 2008 y febrero de 2010.


Dado que la variación de los datos registrados es inferior a la desviación máxima permitida (MAD) del sensor de temperatura, el rango de este parámetro del proceso se determina según el valor mínimo y el valor máximo obtenidos en los 35 lotes (metodología aplicada a un dato fijado). Los resultados se presentan en la tabla 9.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Valores mín./máx.	35,5 °C	36,0 °C
Desviación máxima permitida del sensor de temperatura	0,5 °C	
Rango validado	35,5°C	36,5°C

Por lo tanto, el rango validado para la temperatura del tercer precultivo es de 36 °C ± 0,5 °C.


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DUMINGUE
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





Duración del tercer precultivo

El rango definido para la duración del tercer precultivo se basa en un análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 10, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso. El límite inferior y el superior se calculan con un riesgo α de un 1 % para una proporción de población de $p=99,73$ %.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	Sí	
Valores mín./máx.	17 h 52 min.	21 h 59 min.
Rango calculado	14 h 43 min.	24 h 34 min.
Rango validado	14 h 43 min.	22 h

Por lo tanto, el rango validado y mantenido para el parámetro del proceso de la duración del tercer precultivo es de 14 h 45 min. a 22 h.

2.2.4 Cultivo industrial

Temperatura del cultivo industrial

Después de la implementación de un nuevo sistema numérico para monitorear la temperatura del cultivo industrial desde la campaña de producción de 2008, se realizó una validación concurrente al menos en 30 lotes.

Por lo tanto, el rango definido para la temperatura del cultivo industrial se basa en un análisis de los datos recabados en 34 lotes elaborados entre febrero de 2008 y febrero de 2010.

Este rango está determinado por el valor mínimo y el valor máximo obtenidos en los 34 lotes (vea los resultados en la tabla 11).



Tabla 11: Rango de la temperatura del cultivo industrial

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Valores mín./máx.	35,2 °C	36,4 °C
Rango validado	35,2 °C	36,4 °C

Por lo tanto, el rango validado para la temperatura durante el cultivo industrial es de 35,2 °C a 36,4 °C.

Duración del cultivo industrial

El rango definido para la duración del cultivo industrial se basa en un análisis estadístico realizado en 30 lotes elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. En la tabla 12, se presenta un resumen del análisis descriptivo de los datos históricos obtenidos para este parámetro del proceso.


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





El límite inferior y el superior se calculan con un riesgo α de un 1 % para una proporción de población de $p=99,73$ %.

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

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Normalidad (según la prueba de Shapiro Wilk)	Sí	
Valores mín./máx.	22 h 30 min.	29 h 11 min.
Rango calculado	19 h 16 min.	32 h 38 min.
Rango validado	24 h	32 h

Por lo tanto, el rango validado para la duración del cultivo industrial es de 24 h a 32 h.

2.3 Conclusión

Según los resultados presentados anteriormente, se puede llegar a la conclusión de que todos los rangos operativos definidos para los parámetros de producción monitoreados durante el proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae* están validados.

3 Validación del proceso de detoxificación de la toxina diftérica cruda

3.1 Introducción

Esta sección comprende la validación del proceso de detoxificación de la toxina diftérica cruda, de la toxina diftérica cruda al toxoide diftérico crudo.

La validación del proceso de detoxificación se basa en un estudio 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 se produce el toxoide diftérico crudo 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 definir el rango o rango preliminar de cada parámetro de producción monitoreado durante el proceso de detoxificación.

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.

3.2 Resultados

En la tabla 13, se presentan, a modo de recordatorio, los parámetros de producción monitoreados durante la detoxificación de la toxina diftérica cruda (proporcionados en la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación), desde el tratamiento con formaldehído (etapa 6) hasta la obtención del toxoide diftérico crudo (etapa 7).


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

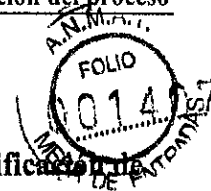


Tabla 13: Parámetros de producción monitoreados durante el proceso de detoxificación de la toxina diftérica cruda

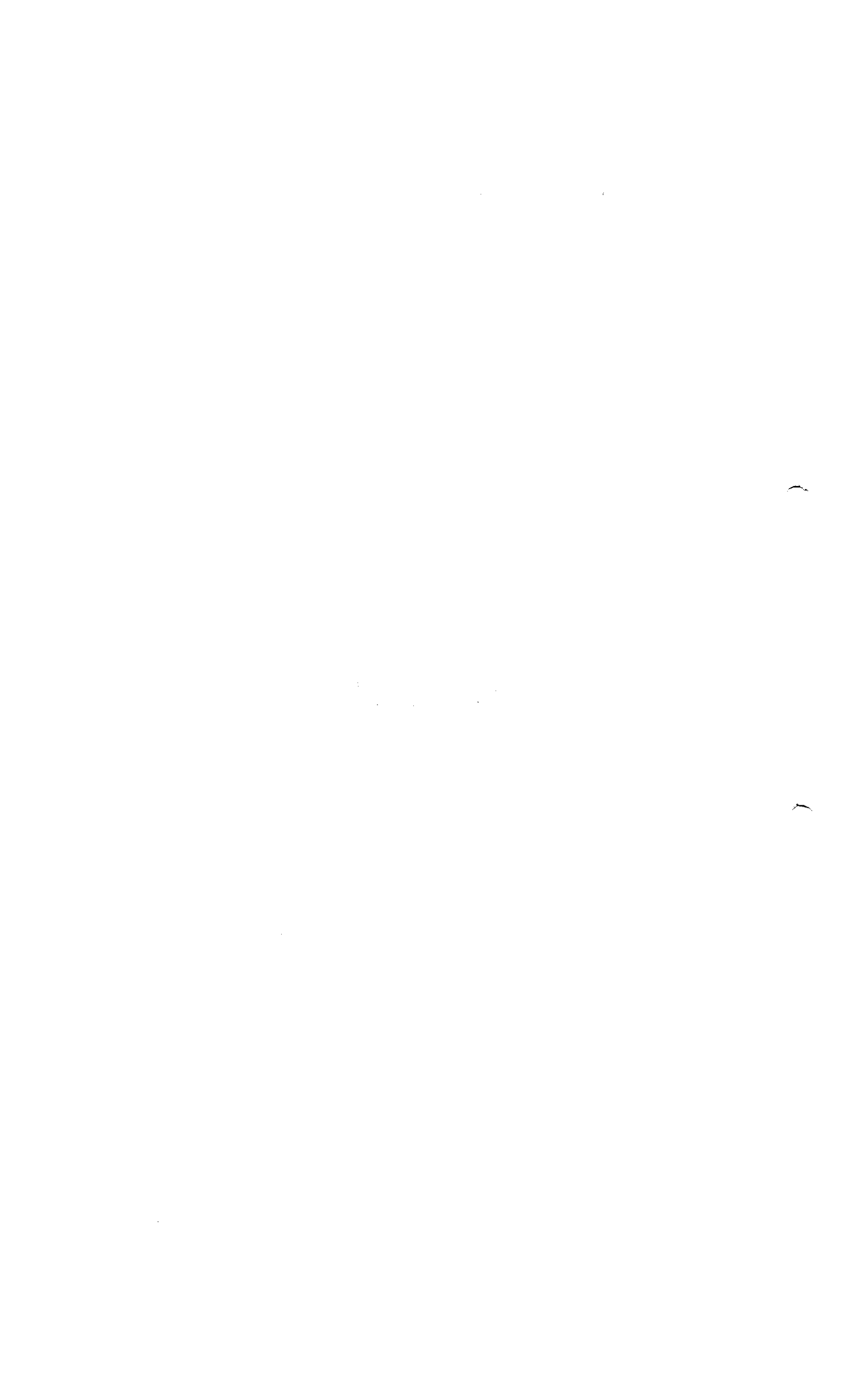
	Parámetros de producción	Rangos operativos
Etapa 6a: Primer tratamiento con formaldehído	Concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio	1 g/L
	Concentración final de formaldehído	- 0,3 % (v/v) si el 2.º tratamiento se realiza dentro de las 28 horas posteriores al 1.º tratamiento. - 0,4 % (v/v) si el 2.º tratamiento se realiza dentro de las 28 horas posteriores al 1.º tratamiento.
Etapa 6b: Segundo tratamiento con formaldehído	Concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio	5 g/L
	Concentración final de glicina	4 g/L
	Concentración final de formaldehído	0,6 % (v/v)
Etapa 7: Detoxificación	Temperatura de la detoxificación	37 °C ± 1 °C
	Duración de la detoxificación	28 días

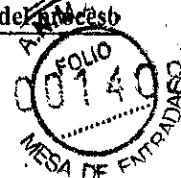
Nota para la detoxificación de la etapa 7: Debido a la implementación de medidas correctivas (para la temperatura y la duración de la detoxificación) después de la elaboración de los 30 lotes seleccionados para la validación retrospectiva, se realizó una validación concurrente al menos en 30 lotes para estos dos parámetros en cuestión.

En función de los datos recabados hasta el momento, solo se pudo validar un rango preliminar para la temperatura y la duración de la detoxificación. El rango operativo definitivo se establecerá cuando se recaben y analicen los datos de los 30 lotes.

Para cada parámetro, se realizó un análisis de los datos recabados para validar el rango operativo. La metodología utilizada es la misma que se usó para validar los rangos de los parámetros de producción monitoreados durante el proceso de fermentación de *Corynebacterium diphtheriae* (vea los detalles en el capítulo 2.2).

Teniendo en cuenta el hecho de que la cantidad de materia prima agregada durante el 1.º y el 2.º tratamiento (realizado antes del paso de detoxificación) es fija, el rango para esta materia prima se calcula como [valor objetivo-1xMAD; valor objetivo+1xMAD], donde MAD es la desviación máxima permitida del equipo de medición.





3.2.1 Primer tratamiento con formaldehído

Concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio

La concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio se establece en 1 g/L. Por lo tanto, este parámetro del proceso está controlado por la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada para obtener la concentración final de 1 g/L. Esta cantidad se calcula a partir del valor fijado de la concentración final (es decir, 1 g/L).

El resultado del análisis y el rango calculado correspondiente se detallan en la tabla 14.

Tabla 14: Rango de la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada durante el 1.º tratamiento

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Cantidad fijada de carbonato de hidrógeno de sodio	Cantidad calculada teniendo en cuenta el volumen y la concentración final de 1 g/L.	
Desviación máxima permitida (MAD) del equipo de pesaje	± 1 g	
Rango validado	Cantidad teórica que debe ser agregada ± 1 g	

Se analizó la variación entre la cantidad teórica de carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente en 30 lotes históricos elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. Para todos los datos analizados, la variación entre la cantidad teórica del carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente, es inferior a la MAD del equipo de pesaje.

Por lo tanto, el rango validado para la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada durante el 1.º tratamiento es: la cantidad teórica ± 1 g.

Concentración final de formaldehído

La concentración final de formaldehído se establece en 0,4 % (v/v) si el 2.º tratamiento se realiza después de más de 28 horas después del 1.º tratamiento; de lo contrario, se establece en 0,3 % (v/v). Por lo tanto, este parámetro del proceso está controlado por la cantidad de formaldehído agregada para obtener la concentración final de 0,3 % (v/v) o 0,4 % (v/v).

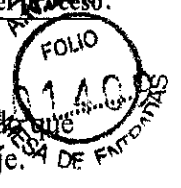
El resultado del análisis y el rango calculado correspondiente se detallan en la tabla 15.

Tabla 15: Rango de la cantidad de formaldehído agregada durante el 1.º tratamiento

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Objetivo de la cantidad de formaldehído	Cantidad calculada teniendo en cuenta el volumen y la concentración final de 0,3 % (v/v) o 0,4 % (v/v).	
Desviación máxima permitida (MAD) del equipo de pesaje	± 1 g	
Rango validado	Cantidad teórica que debe ser agregada ± 1 g	

Se analizó la variación entre la cantidad teórica de formaldehído que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente en 30 lotes históricos elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006.





2006. Para todos los datos analizados, la variación entre la cantidad teórica de formaldehído que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente es inferior a la MAD del equipo de pesaje. Por lo tanto, el rango validado para la cantidad de formaldehído que debe ser agregada durante el 1.^{er} tratamiento es la cantidad teórica ± 1 g.

3.2.2 Segundo tratamiento

Concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio

La concentración final de carbonato de hidrógeno de sodio se establece en 5 g/L. Por lo tanto, este parámetro del proceso está controlado por la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada para obtener la concentración final de 5 g/L. Esta cantidad se calcula a partir del valor objetivo de la concentración final (es decir, 5 g/L).

El resultado del análisis y el rango calculado correspondiente se detallan en la tabla 16.

Tabla 16: Rango de la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio agregada durante el 2.^o tratamiento

	Límite inferior de control	Límite superior de control
Cantidad fijada de carbonato de hidrógeno de sodio	Cantidad calculada teniendo en cuenta el volumen y la concentración final de 1 g/L.	
Desviación máxima permitida (MAD) del equipo de pesaje	± 1 g	
Rango validado	Cantidad teórica que debe ser agregada ± 1 g	

Se analizó la variación entre la cantidad teórica de carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente en 30 lotes históricos elaborados entre octubre de 2004 y mayo de 2006. Para todos los datos analizados, la variación entre la cantidad teórica del carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada y la cantidad pesada realmente, es inferior a la MAD del equipo de pesaje.

Por lo tanto, el rango validado para la cantidad de carbonato de hidrógeno de sodio que debe ser agregada durante el 2.^o tratamiento es la cantidad teórica ± 1 g.

Concentración final de glicina

La concentración final de glicina se establece en 4 g/L. Por lo tanto, este parámetro del proceso está controlado por la cantidad de glicina agregada para obtener la concentración final de 4 g/L. Esta cantidad se calcula a partir del valor objetivo de la concentración final (es decir, 4 g/L).

El resultado del análisis y el rango calculado correspondiente se detallan en la tabla 17.





Así, los filtros se precondicionan con la solución de aminoácidos esenciales y después se inocula *Brevundimonas diminuta* en WFI (que es un componente importante de la solución de aminoácidos esenciales). Tras la filtración de la suspensión de desafío (bacterias en WFI) 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 12.

Tabla 12: Resultados del estudio de desafío microbiano

Filtros	Desafío microbiano al filtro (UFC/cm ²)	Bacterias en el filtrado
Filtro de prueba A	5,8·10 ⁷	0
Filtro de prueba B	5,7·10 ⁷	0
Filtro de prueba C	6,2·10 ⁷	0

Todas las bacterias quedaron retenidas en los filtros de prueba; por tanto, los filtrados eran estériles.

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 de solución de aminoácidos esenciales y WFI queda validada como una filtración estéril.

2.2.1.6.2 Estudio de los compuestos extraíbles del filtro

De acuerdo con la composición de la solución de aminoácidos esenciales, se determinaron tres disolventes modelo (agua, solución de HCl a un pH aproximado de 0,3, solución de HCl a un pH de 2,0) para la evaluación de 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 13.

Tabla 13: Resultados del estudio de compuestos extraíbles

	Disolvente modelo: agua		Disolvente modelo: solución de HCl a un pH aproximado de 0,3		Disolvente modelo: solución de HCl a un pH de 2,0	
	NVR	TOC	NVR	TOC	NVR	TOC
Cantidad media de compuestos extraíbles	4,6 mg	1,7 mg (expresados en carbono)	NA*	2,6 mg (expresados en carbono)	5,3 mg	NP†

* No se aplica porque la solución de HCl interfiere con el método analítico.

† No programado ya que los datos se generaron a un pH aproximado de 0,3.

()

()



Se demostró que los residuos no volátiles recuperados de la extracción con agua y solución de HCl a un pH de 2,0 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.

2.2.1.6.3 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 la solución de aminoácidos esenciales 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 de aminoácidos esenciales y el WFI.

2.2.2 Estudio a escala industrial

A escala industrial se estudia de modo especial la adsorción de productos en el filtro. El estudio consiste en comprobar la no adsorción de los principios activos durante las filtraciones esterilizantes. Para este estudio se utilizaron las condiciones operativas industriales más desfavorables (en cuanto a superficie de filtración y caudal de filtración).

Así, se llevan a cabo pruebas de los principios activos filtrables antes y después de las filtraciones esterilizantes.

Se resumen a continuación los resultados de este estudio a escala industrial.

2.2.2.1 Lotes de validación

Se utilizaron tres lotes industriales, elaborados en la planta de Marcy l'Étoile, para ensayar la no adsorción de los principios activos en los filtros esterilizantes.

Los lotes utilizados en el estudio de validación se presentan en la Tabla 14.

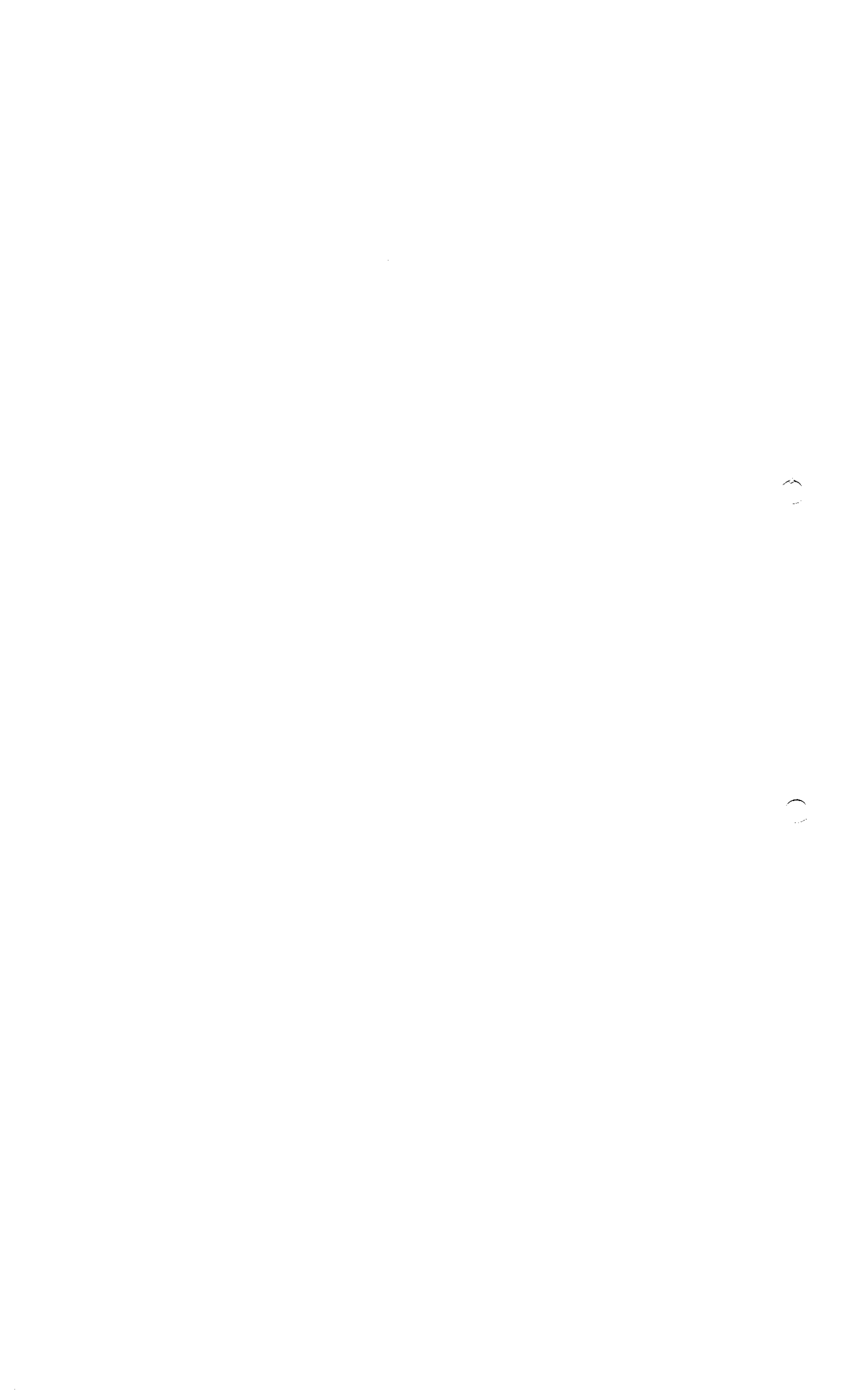




Tabla 14: Características de los lotes de producto final a granel y de los principios activos filtrables correspondientes utilizados en el estudio de validación

Producto final a granel			Principios activos filtrables correspondientes		
Número de lote	Escala del lote	Fecha de elaboración	Principio activo	Número de lote	Fecha de elaboración
IND09014	50 L	10 jun 2009	Toxoide diftérico purificado (PDT)	FA293607	03 dic 2007
			Toxoide tetánico purificado (PTT)	FA269112	05 mar 2007
			Concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado	FA327604	29 oct 2008
			Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)	AC002 AC007 AC011	07 dic 2007 22 mar 2008 11 abr 2008
			Polisacárido de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado a proteína tetánica (PRP-T)	FA316432 FA327102	13 jun 2008 11 oct 2008
IND09015	50 L	08 jul 2009	Toxoide diftérico purificado (PDT)	FA293607	03 dic 2007
			Toxoide tetánico purificado (PTT)	FA269112	05 mar 2007
			Concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado	FA327604	29 oct 2008
			Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)	AC002 AC007 AC011	07 dic 2007 22 mar 2008 11 abr 2008
			Polisacárido de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado a proteína tetánica (PRP-T)	FA316432 FA327102	13 jun 2008 11 oct 2008
IND09016	50 L	29 jul 2009	Toxoide diftérico purificado (PDT)	FA293607	03 dic 2007
			Toxoide tetánico purificado (PTT)	FA269112	05 mar 2007
			Concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado	FA327604	29 oct 2008
			Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)	AC002 AC007 AC011	07 dic 2007 22 mar 2008 11 abr 2008
			Polisacárido de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado a proteína tetánica (PRP-T)	FA316432 FA327102	13 jun 2008 11 oct 2008





2.2.2.2 Estudio de adsorción de los principios activos en los filtros esterilizantes

Protocolo

Para evaluar la no adsorción de los principios activos, antes y después de las filtraciones esterilizantes se llevan a cabo las pruebas presentadas en la Tabla 15.

Tabla 15: Pruebas realizadas para evaluar la no adsorción de los principios activos

Componentes filtrables	Pruebas	Métodos	Datos de los métodos
Toxoide diftérico purificado (PDT)	Título de floculación Contenido de nitrógeno proteico	Según la Ph. Eur. 2.7.27, ensayo de Ramon Floculación visible y comparación con una referencia calibrada Ph. Eur. 2.5.9 y 2.5.33, método 7.A Método Kjeldahl después de la precipitación de proteínas con ácido tricloroacético y mineralización con ácido sulfúrico	Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo PDT. Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo PDT.
Toxoide tetánico purificado (PTT)	Título de floculación Contenido de nitrógeno proteico	Según la Ph. Eur. 2.7.27, ensayo de Ramon Floculación visible y comparación con una referencia calibrada Ph. Eur. 2.5.9 y 2.5.33, método 7.A Método Kjeldahl después de la precipitación de proteínas con ácido tricloroacético y mineralización con ácido sulfúrico	Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo PTT. Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo PTT.
Concentrado antipoliomielítico trivalente inactivado (IPV)	Contenido de antígeno D	Ph. Eur. 2.7.1 Método ELISA	Vea la sección 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad del principio activo IPV.
Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)	Potencia relativa de la hepatitis B <i>in vitro</i> (IVRP) Contenido proteico	Ph. Eur. 2.7.15 (método ELISA) Ph. Eur. 2.5.33 (método 2) Método Lowry	Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo HBsAg. Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo HBsAg.
Polisacárido de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b conjugado a proteína tetánica (PRP-T)	Contenido de fósforo	Según la Ph. Eur. 2.5.18 Medición del contenido de fósforo con el método de Chen en el PRP-T	Vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos del principio activo PRP-T.





Criterios de aceptación

Se llevó a cabo a continuación un análisis de los resultados antes y después de las filtraciones esterilizantes, teniendo en cuenta la variabilidad de los métodos analíticos.

Para cada resultado, se calcularon intervalos de confianza con la variabilidad del método. Después, se compararon los intervalos de confianza calculados antes y después de las filtraciones esterilizantes, para comprobar su recuperación.

Se demuestra la ausencia de adsorción en el filtro esterilizante:

- Si, para cada lote y cada prueba, los intervalos de confianza calculados se solapan antes y después de las filtraciones esterilizantes.

Resultados

Se resumen a continuación los resultados del estudio de adsorción en el filtro esterilizante.

Tabla 16: Resultados analíticos para PDT, PTT e IPV antes y después de las filtraciones esterilizantes

Componentes filtrables	Pruebas	Antes de la filtración	IND09014	IND09015	IND09016
			Después de la filtración	Después de la filtración	Después de la filtración
PDT	Título de floculación (Lf/mL)	6000	6600	6000	6000
	<i>Intervalos de confianza calculados*</i>	[5500-6500]	[6100-7200]	[5500-6500]	[5500-6500]
	Contenido de nitrógeno proteico (mg/mL)	3,10	3,00	3,50	3,34
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[2,94-3,26]	[2,84-3,16]	[3,34-3,66]	[3,18-3,50]
PTT	Título de floculación (Lf/mL)	5000	5000	4500	4500
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[4720-5300]	[4720-5300]	[4250-4770]	[4250-4770]
	Contenido de nitrógeno proteico (mg/mL)	4,22	4,00	3,88	4,05
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[3,94-4,50]	[3,72-4,28]	[3,60-4,16]	[3,77-4,33]
IPV	Contenido de antígeno D (UD/mL)				
- Tipo 1		308	308	308	310
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[285-333]	[285-333]	[285-333]	[287-335]
- Tipo 2		66,6	65,5	65,1	65,1
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[62,8-70,6]	[61,8-69,4]	[61,4-69,0]	[61,4-69,0]
- Tipo 3		273	249	265	256
	<i>Intervalos de confianza calculados</i>	[258-289]	[235-264]	[250-281]	[242-271]

* El intervalo de confianza se calcula teniendo en cuenta la variabilidad del método.

