

Tabla 5: FHA purificada adsorbida: Números de lote de los intermedios

Filtrado de cultivo concentrado	FAI12315	FAI13959	FAI15581	FAI17434	FAI19089	FAI21010
Fecha de elaboración*	10 de mayo de 2002	24 de mayo de 2002	7 de junio de 2002	21 de junio de 2002	5 de julio de 2002	19 de julio de 2002
Tamaño del lote (L)	8000	8000	8000	8000	8000	8000
FHA purificada nativa	FA109856	FA109857	FA109858	FA109859	FA109860	FA109861
Fecha de elaboración*	17/05/02	31/05/02	14/06/02	28/06/02	13/07/02	26/07/02
FHA en solución	FA109876	FA109878	FA109879	FA109880	FA109881	FA109882
Tamaño del lote (masa de la proteína solubilizada)	45,12 g	40,4 g	20 g	40,1 g	40,1 g	18 g
FHA purificada adsorbida (N.º de lote)	FA109883	FA109884	FA109885	FA109886	FA109887	FA109888
Fecha de elaboración*	2 de septiembre de 2002	9 de septiembre de 2002	16 de septiembre de 2002	7 de octubre de 2002	14 de octubre de 2002	28 de octubre de 2002
Tamaño del lote (número de dosis)	1 688 994	1 534 921	868 133	1 603 646	1 914 831	455 397

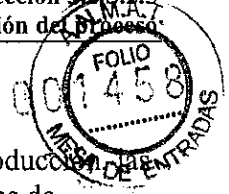
* Corresponde a las fechas en que comenzó la elaboración de cada lote de uniformidad.

ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.







Los siguientes capítulos presentan los resultados obtenidos para los parámetros de producción, pruebas de IPC, las pruebas adicionales, las pruebas de control de calidad y las pruebas de caracterización adicionales, incluida la discusión de los resultados y las conclusiones.

3.2 Parámetros de producción

Los valores que corresponden a los parámetros de producción se registraron en cada etapa del proceso de purificación, desde la etapa de cromatografía de adsorción hasta la etapa de adsorción en hidróxido de aluminio.

Los resultados se presentan en la tabla 6 a tabla 9.

Todos los parámetros de producción seguidos durante la purificación de los seis lotes de uniformidad cumplieron con los rangos de operación predefinidos. El proceso de purificación se controla adecuadamente.

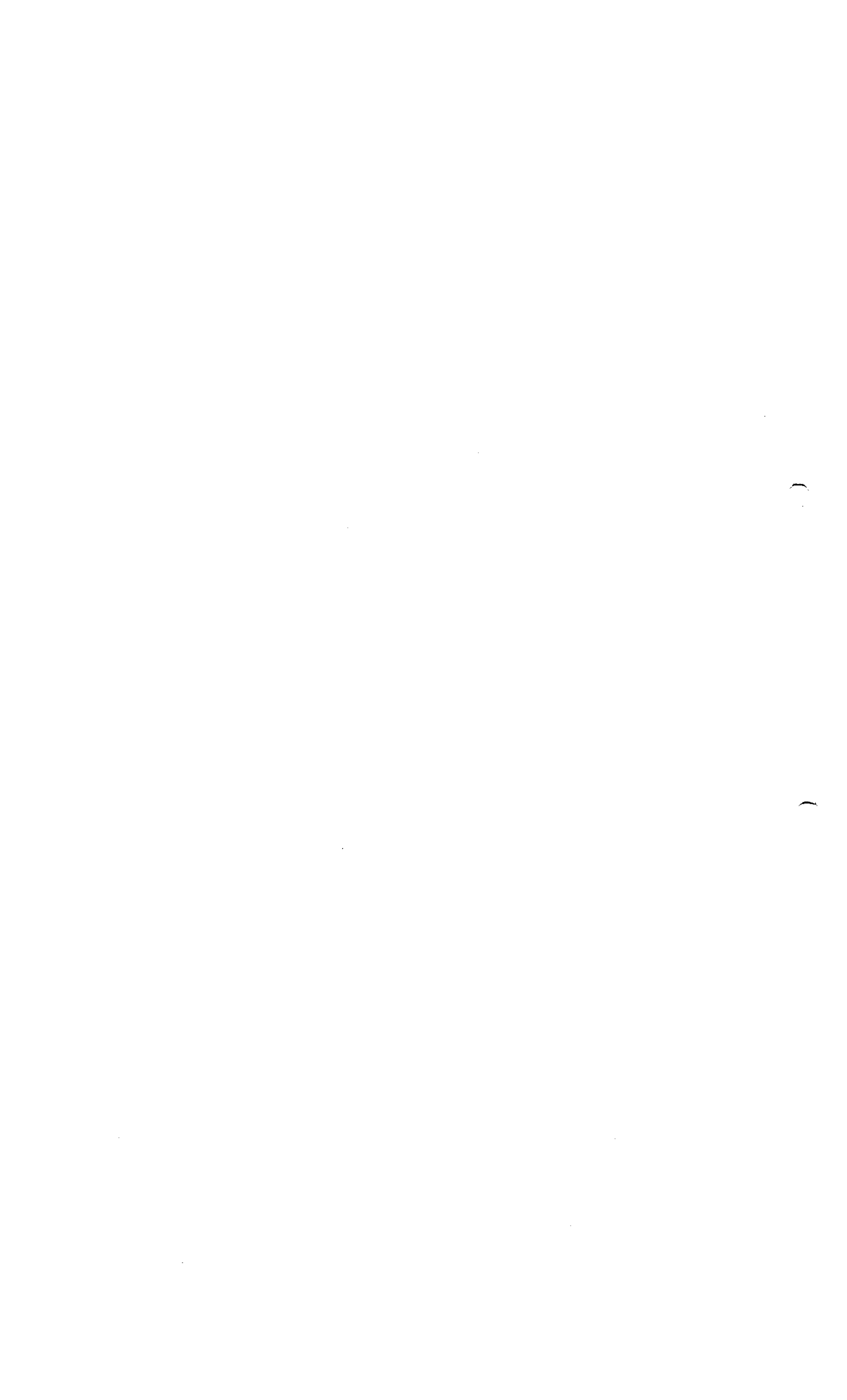



Tabla 6: Parámetros de producción registrados durante el paso de purificación de la PT

		Lotes de uniformidad																					
		FAI12315	FAI13959	FAI15581	FAI17434	FAI19089	FAI21010							FAI109854									
		Filtrado de cultivo concentrado		FAI109850		FAI109852		FAI109853															
		PT purificada nativa		FAI109851		FAI109852		FAI109853															
Etapa de elaboración	Parámetros de producción	Valores de los parámetros*																					
Adsorción de la FHA en HXP (Etapa 8)	Temperatura +5 °C ± 3 °C	5,0	4,9	5,3	5,0	4,9	4,8	4,9	5,0	4,9	4,8	4,9	4,9	3,8	4,8	5,0	5,0	4,0	5,0	5,0			
		4,9	4,8	5,0	4,9	4,9	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	3,0	4,8	4,9	3,6	4,9	5,0	5,0	4,8	4,8	4,9		
Adsorción de la PT en ASF-4B (Etapa 11)	Temperatura +5 °C ± 3 °C	4,9	4,8	5,0	4,9	4,9	4,8	4,8	4,8	4,8	3,0	4,8	4,9	3,6	4,9	5,0	5,0	3,0	5,0	4,8	4,2	4,9	
		4,9	4,8	5,0	4,9	4,9	4,8	4,8	4,8	4,8	3,0	4,8	4,9	3,6	4,9	5,0	5,0	3,0	5,0	4,8	4,2	4,9	
Precipitación de la PT (Etapa 15)	Concentración final de sulfato de amonio 471 ± 2,5 g/L	470,7			470,9			470,9			470,9			470,9			471			471			471
		470,7			470,9			470,9			470,9			470,9			471			471			471

* Valores de los parámetros registrados para 4 líneas de purificación


 * ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.



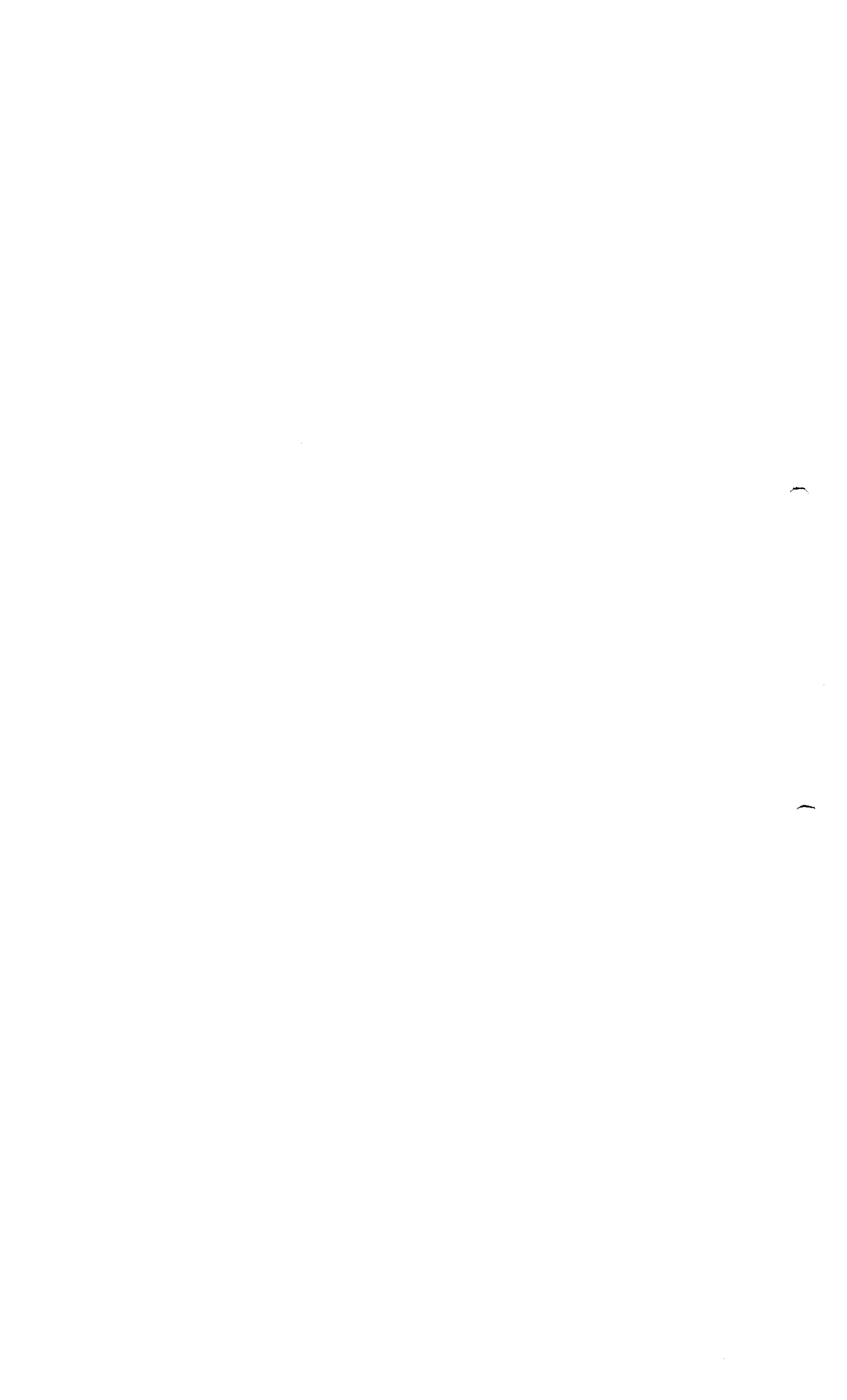


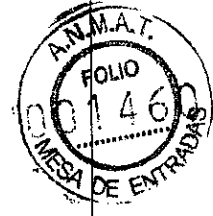
Tabla 7: Parámetros de producción registrados durante el paso de purificación de la FHA

		Lotes de uniformidad					
Etapa de elaboración	Filtrado de cultivo concentrado	FAI12315	FAI13959	FAI15581	FAI17434	FAI19089	FAI21010
	FHA purificada nativa	FAI09856	FAI09857	FAI09858	FAI09859	FAI09860	FAI09861
Parámetros de producción		Valores de los parámetros*					
Precipitación de la FHA (Etapa 12')	Intervalos de operación		470,7	470,9	470,9	471,0	470,8
	Concentración final de sulfato de amonio	471,1					

* Valores de los parámetros registrados para 4 líneas de purificación


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



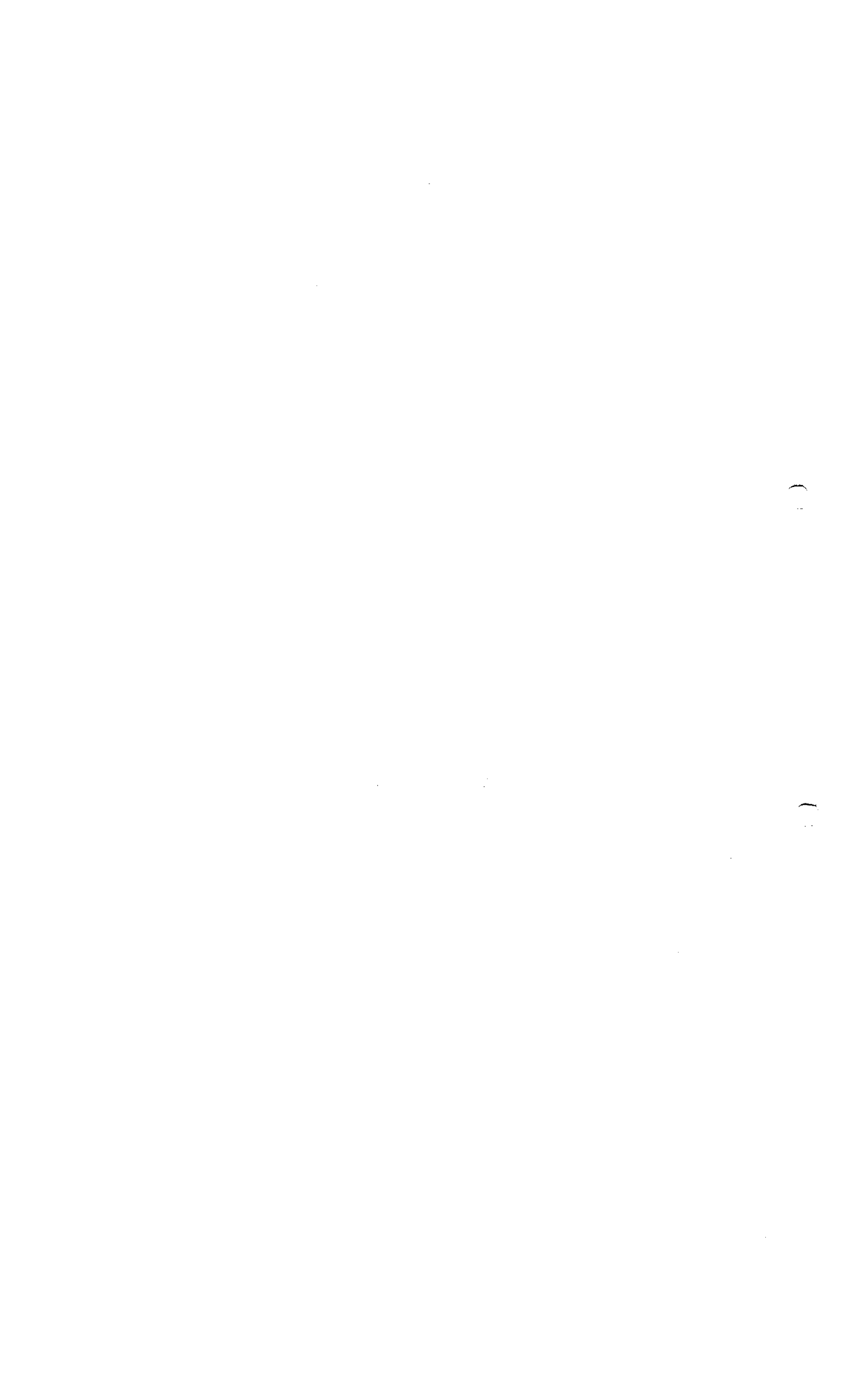


Tabla 8: Parámetros de producción registrados durante los pasos de detoxificación de la PT y de adsorción del PTxd

Etapa de elaboración		Parámetros de producción	Lotes de uniformidad									
			PTxd purificado en solución	FA109862	FA109863	FA109865	FA109866	FA109867	FA109868			
Detoxificación de la PT	Diafiltración de la PT (Etapa 16b)	Volumen del tampón		5,9		6,0		6,1		6,0		6,1
	Detoxificación de la PT con GTA (Etapa 18)	Temperatura	37,2	37,5	37,5	37,7	37,7	37,1	37,1	37,1		
		Duración	130	130	130	130	130	130	130	130		
	Diafiltración de la PT (Etapa 19)	Volumen del tampón	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0		
Adsorción en hidróxido de aluminio	Adsorción del PTxd (Etapa 23)	Duración de la agitación	>2 horas	6,5 horas	6,5 horas	8 horas	5 horas	7,5 horas	7 horas 20 minutos			

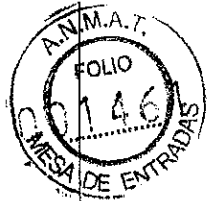
* Rango de operación válido al momento del estudio de validación.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301918

Información confidencial/propietaria
Página 21 de 72



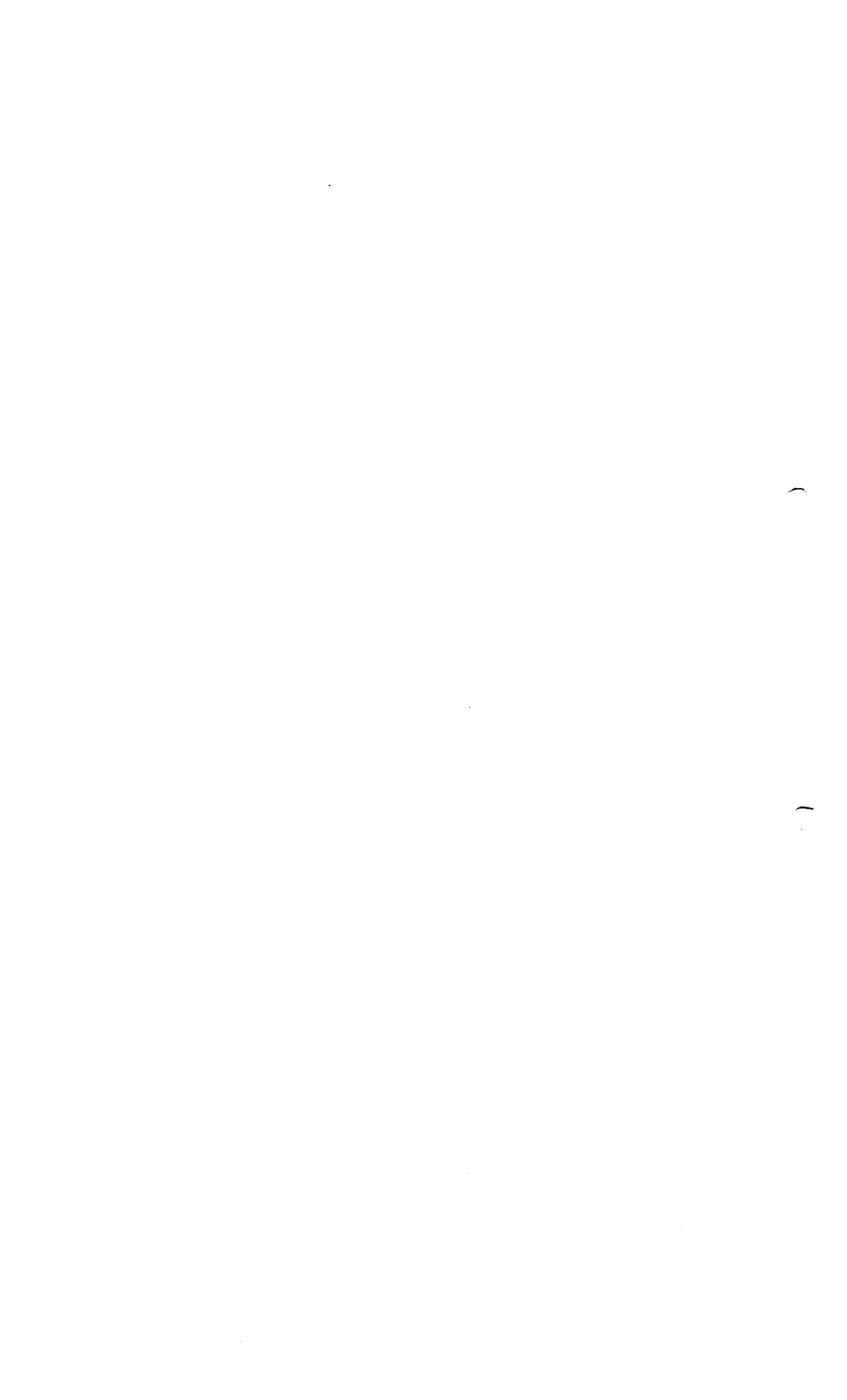


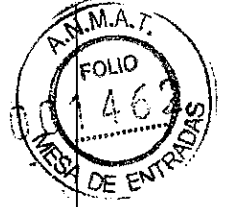
Tabla 9: Parámetros de producción registrados durante el paso de adsorción de la FHA

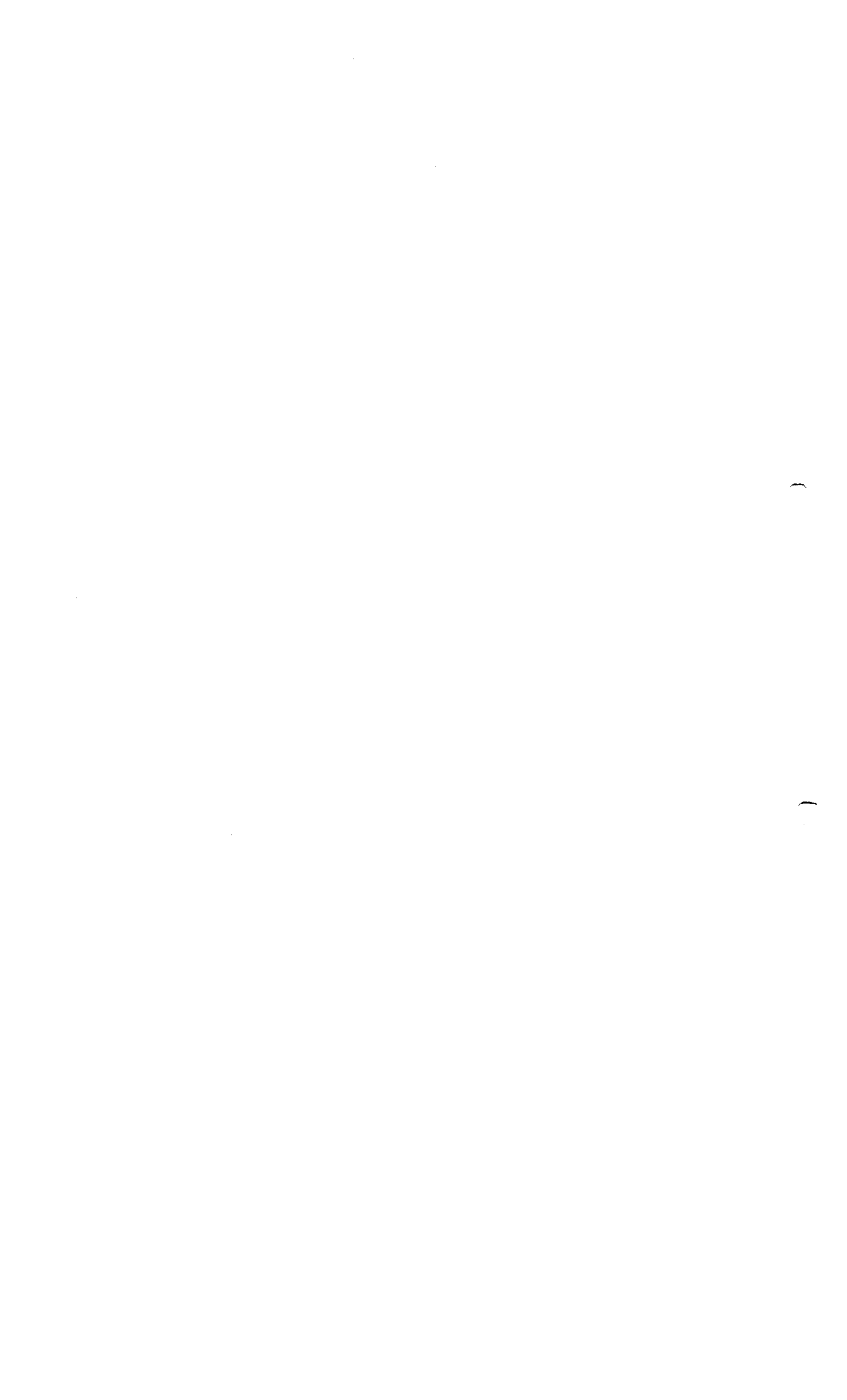
		Números de lote de uniformidad de la FHA purificada adsorbida						
Etapa de elaboración	Parámetros de producción	Rangos de operación	FA109883	FA109884	FA109885	FA109886	FA109887	FA109888
Solubilización de la FHA (Etapa 13')	Volumen del tampón	Volumen equivalente a 4 a 6	5,0	5,0	5,0	5,0	5,7	5,0
Adsorción de la FHA (Etapa 16')	Duración de la agitación	>2 horas	13 horas 15 minutos	2,5 horas	2 horas 55 minutos	2 horas 10 minutos	2 horas 10 minutos	2 horas

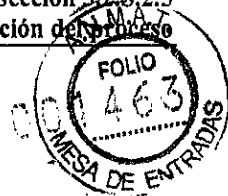

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301918







3.3 Controles durante el proceso y pruebas adicionales

3.3.1 Controles durante el proceso

Los controles durante el proceso se realizaron en diferentes etapas del proceso de purificación de la *Bordetella pertussis*, de acuerdo con las pruebas proporcionadas en 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación.

Los resultados de todos los IPC realizados durante la validación se encuentran en la tabla 10 y en la tabla 11 para la purificación de la PT y en la tabla 12 para la purificación de la FHA.

Los resultados de endotoxinas y del contenido proteico se encuentran dentro de los criterios de aceptación.

Se hallaron algunos resultados que no cumplen con las especificaciones para el contenido de carga biológica para algunos de los pasos del proceso. Los resultados se presentan en 3.3.3.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Tabla 10: Resultados de los IPC obtenidos durante el paso de purificación de la PT: Lotes FA109849, FA109850 y FA109851

Etapas de elaboración		Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de consistencia		
				FA109849	FA109850	FA109851
Purificación de la PT	Filtrado del cultivo concentrado (al comienzo de la purificación)	Contenido de carga biológica	≤ 900 UFC/mL	4980	<20	>10 ⁴
	Elución de la PT (agrupación) (Etapa 14b)	Contenido de carga biológica	≤ 500 UFC/mL	>10 ⁴	100	280
Detoxificación de la PT	Forma de precipitado de sulfato de amonio de la PT purificada nativa	Contenido de carga biológica	≤ 200 UFC/mL	88	76	0
	Solubilización de la PT (Etapa 16)	Contenido de endotoxinas	$\leq 10^5$ UI/mL	402	177,1	673
Filtración previa del PTxd	Filtración (Etapa 21)	Contenido proteico después de la primera diafiltración (según el método de Lowry)	900 \pm 300 μ g/mL	877,44	664,21	874,1
		Contenido proteico después de la filtración (según el método de Lowry)	900 \pm 300 μ g/mL	917,1	640,79	833,64
	Diafiltración del PTxd (Etapa 19)	Contenido proteico después de la segunda diafiltración (según el método de Lowry)	100 \pm 50 μ g/mL	100,44	131,13	89,88
		Contenido de carga biológica antes de la filtración estéril final	≤ 50 UFC/10 mL	0	0	17



ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
INGENIERO
SANOFI PASTEUR S.A.

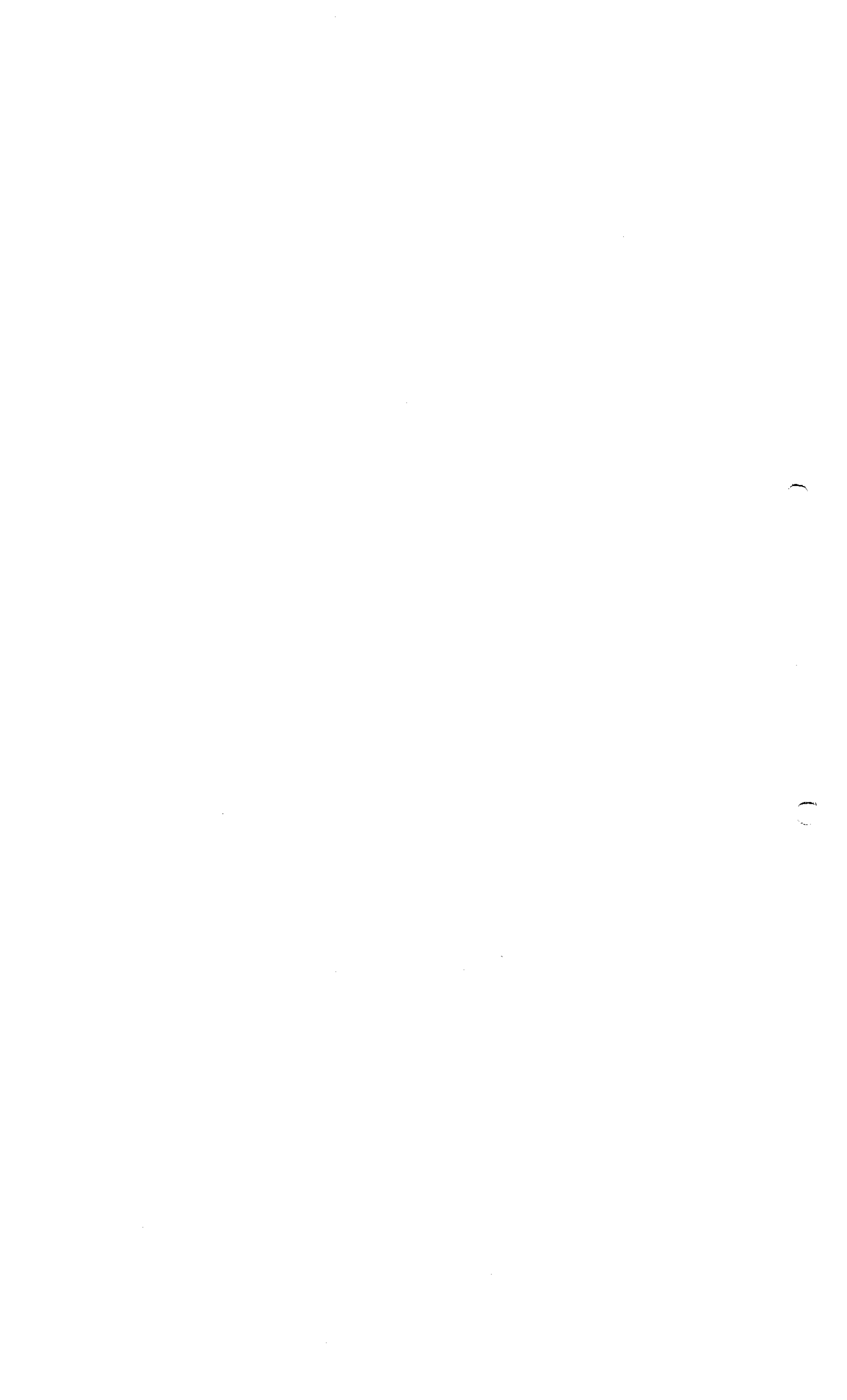
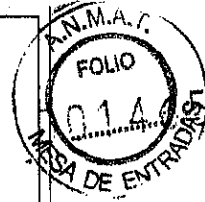
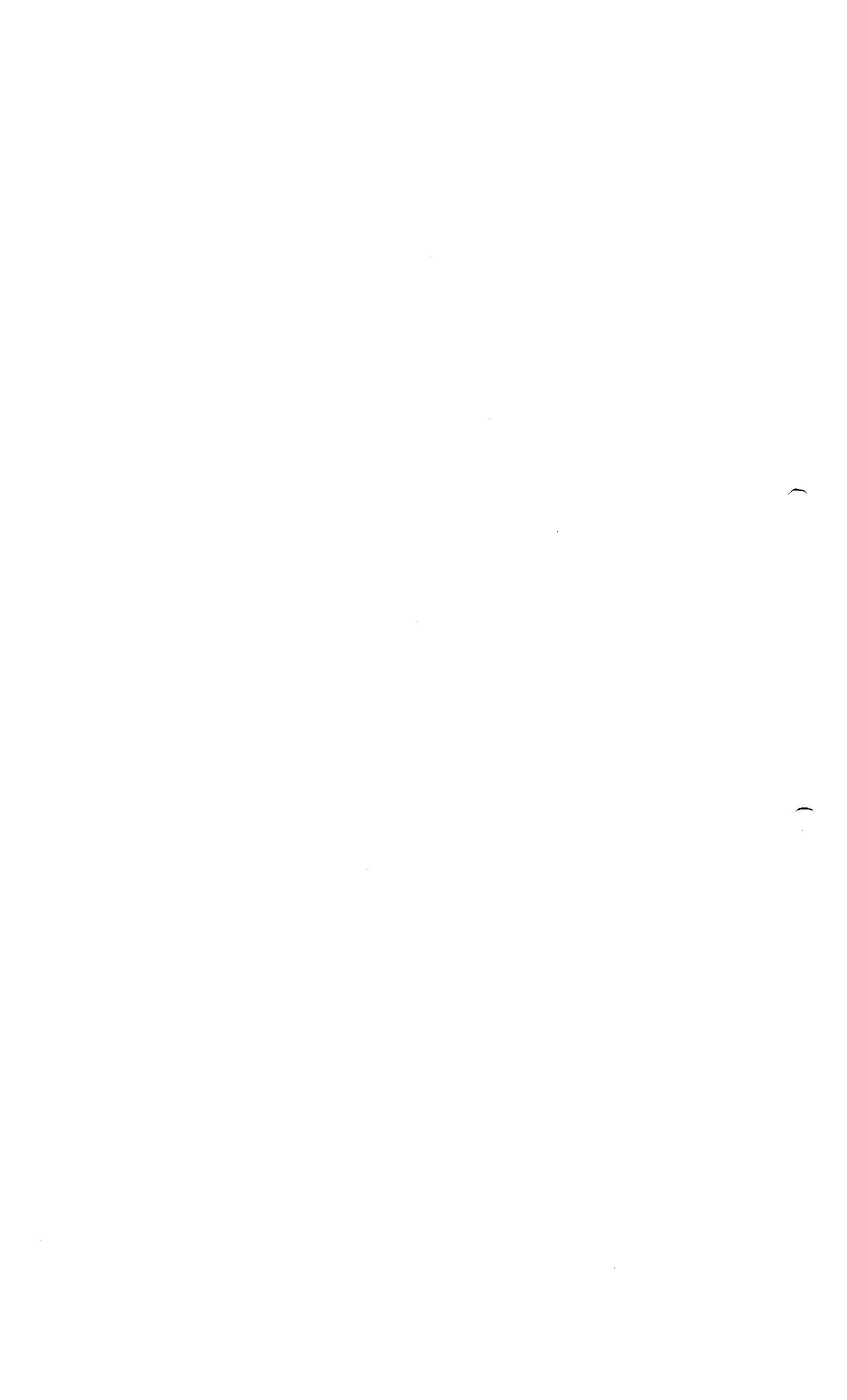


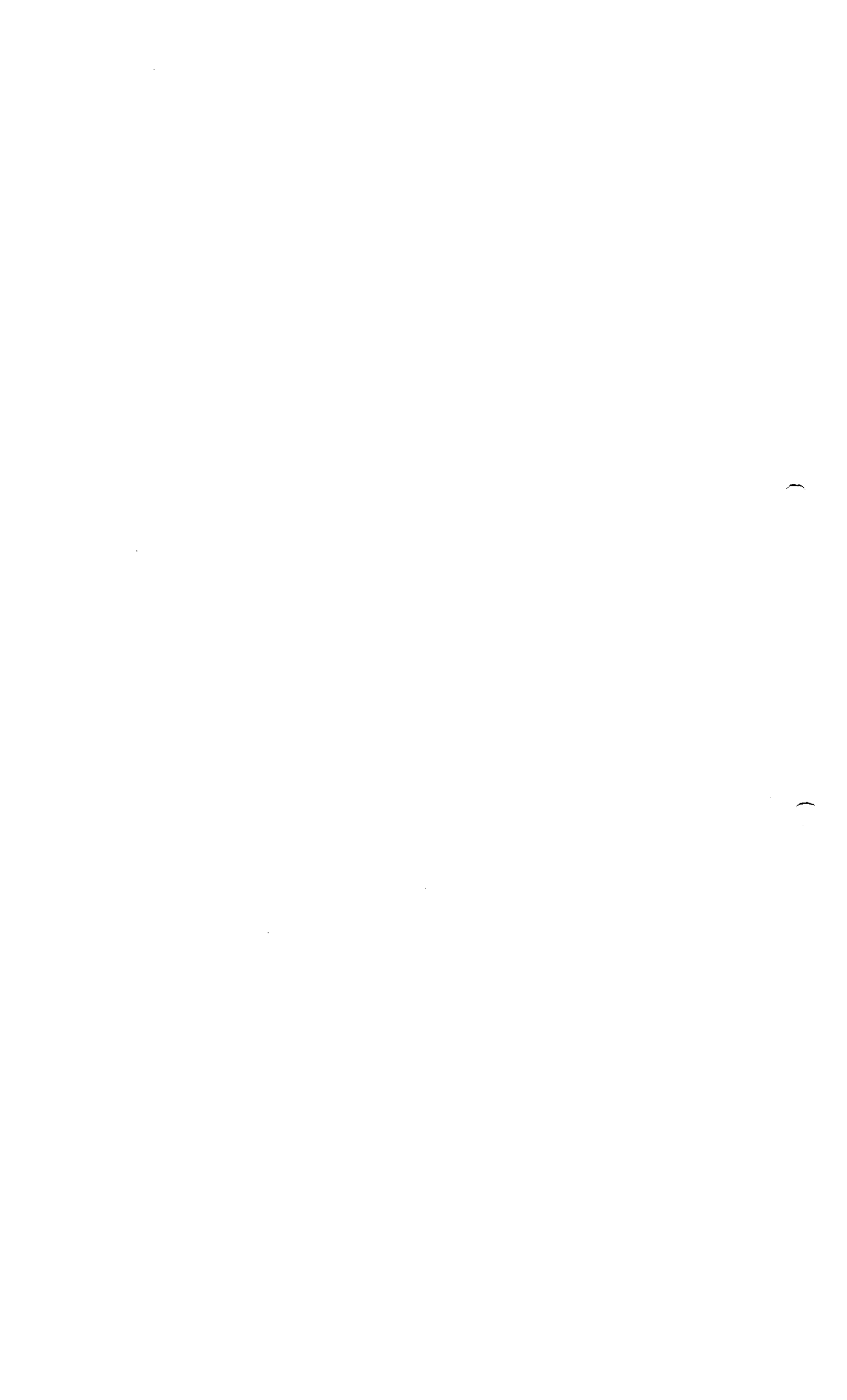
Tabla 11: Resultados de los IPC obtenidos durante el paso de purificación de la PT: Lotes FA109852, FA109853 y FA109854

Etapas de elaboración	Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de uniformidad		
			FA109852	FA109853	FA109854
Purificación de la PT	PT purificada nativa				FA109854
	PTxd purificado en solución				FA109868
	PTxd purificado adsorbido				FA109874
				Resultados	
Filtrado del cultivo concentrado (al comienzo de la purificación)	Contenido de carga biológica	≤ 900 UFC/mL	<20	<20	<20
	Elución de la PT (agrupación) (Etapa 14b)	≤ 500 UFC/mL	40	<20	<20
Forma de precipitado de sulfato de amonio de la PT purificada nativa	Contenido de carga biológica	≤ 200 UFC/mL	7	13	6
	Contenido de endotoxinas	≤ 10 ⁵ UI/mL	156	55,78	165,7
Detoxificación de la PT	Contenido proteico después de la primera diafiltración (según el método de Lowry)	900 ±300 µg/mL	779,86	1093,97	785,3
	Contenido proteico después de la filtración (según el método de Lowry)	900 ±300 µg/mL	776,7	1000,5	820,81
Diafiltración del PTxd (Etapa 19)	Contenido proteico después de la segunda diafiltración (según el método de Lowry)	100 ±50 µg/mL	105,93	96,45	112,78
Filtración previa del PTxd (Etapa 21)	Contenido de carga biológica antes de la filtración estéril final	≤ 50 UFC/10 mL	0	0	0



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







3.3.2 Pruebas adicionales

También se realizaron pruebas adicionales como parte de la validación. Para estas pruebas adicionales, los criterios de aceptación se definieron mediante el cálculo del intervalo de tolerancia del 95 % en los datos históricos.

Los resultados de estas pruebas adicionales se presentan en la tabla 13 y tabla 14 para la purificación de la PT y en la tabla 15 para la purificación de la FHA.

El título de hemaglutinación (sobrenadante de HXP - sobrenadante de ASF), la actividad específica (agrupación de las fracciones) realizadas como pruebas adicionales para respaldar la validación cumplen con los criterios de aceptación definidos (vea la tabla 13 y la tabla 14).

Los resultados de la concentración de sulfato de amonio obtenidos al final de la diafiltración de la PT se encuentran dentro de los intervalos de confianza del 95 % calculados según los datos históricos (vea la tabla 14). No se puede definir ningún criterio de aceptación para la concentración de sulfato de amonio después de la diafiltración de la FHA debido a la falta de datos históricos. No obstante, los resultados obtenidos en los seis lotes de uniformidad se pueden interpretar con base en el criterio de aceptación definido para la PT ($\leq 2,7$ g/L). Los resultados obtenidos en los 6 lotes de uniformidad de la FHA cumplen con los criterios de aceptación fijados para la PT, lo que garantiza la eliminación satisfactoria del sulfato de amonio (vea la tabla 15).

Se hallaron algunos resultados que no cumplen con las especificaciones para el contenido de carga biológica para algunos pasos del proceso. Los resultados se presentan en 3.3.3.

