

sanofi pasteur

Vacuna contra la tos ferina, acelular, de dos componentes (FHA-PTxd)

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

Etapas de elaboración	Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de uniformidad		
			FA109849	FA109850	FA109851
	PT purificada nativa				
	PTxd purificado en solución		FA109862	FA109863	FA109865
	PTxd purificado adsorbido		FA109869	FA109870	FA109871
				Resultados	
Detoxificación de la PT Diafiltración del PTxd (Etapa 19)	Actividad de hemaglutinación (UHA/mL)	$X \leq 111\ 236$	10 240	10 240	10 240
	Contenido proteico calculado (según el método de Lowry - g/L)	$1,1 \leq X \leq 4,4^*$	1,77	2,11	4
	Contenido de carga biológica después de la segunda diafiltración	$\leq 200\ \text{UFC/mL}$	0	0	34
	Contenido de sulfato de amonio (g/L) al final de la diafiltración	$X \leq 2,7^*$	1,1	2	1

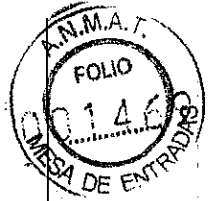
* Criterios de aceptación definidos por medio del cálculo del intervalo de tolerancia al 95 %, en lotes históricos

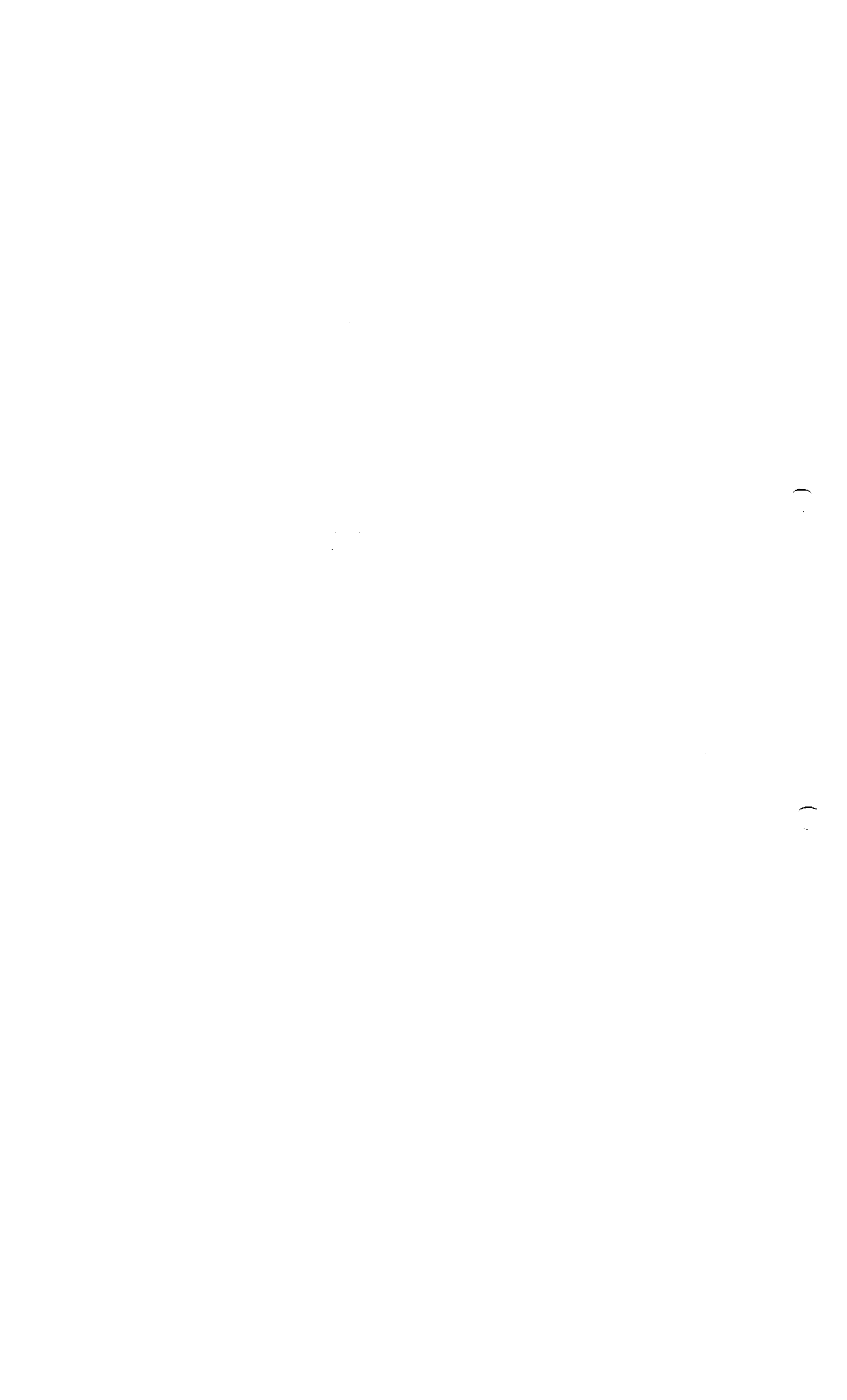
ROXANA MONTEMLONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

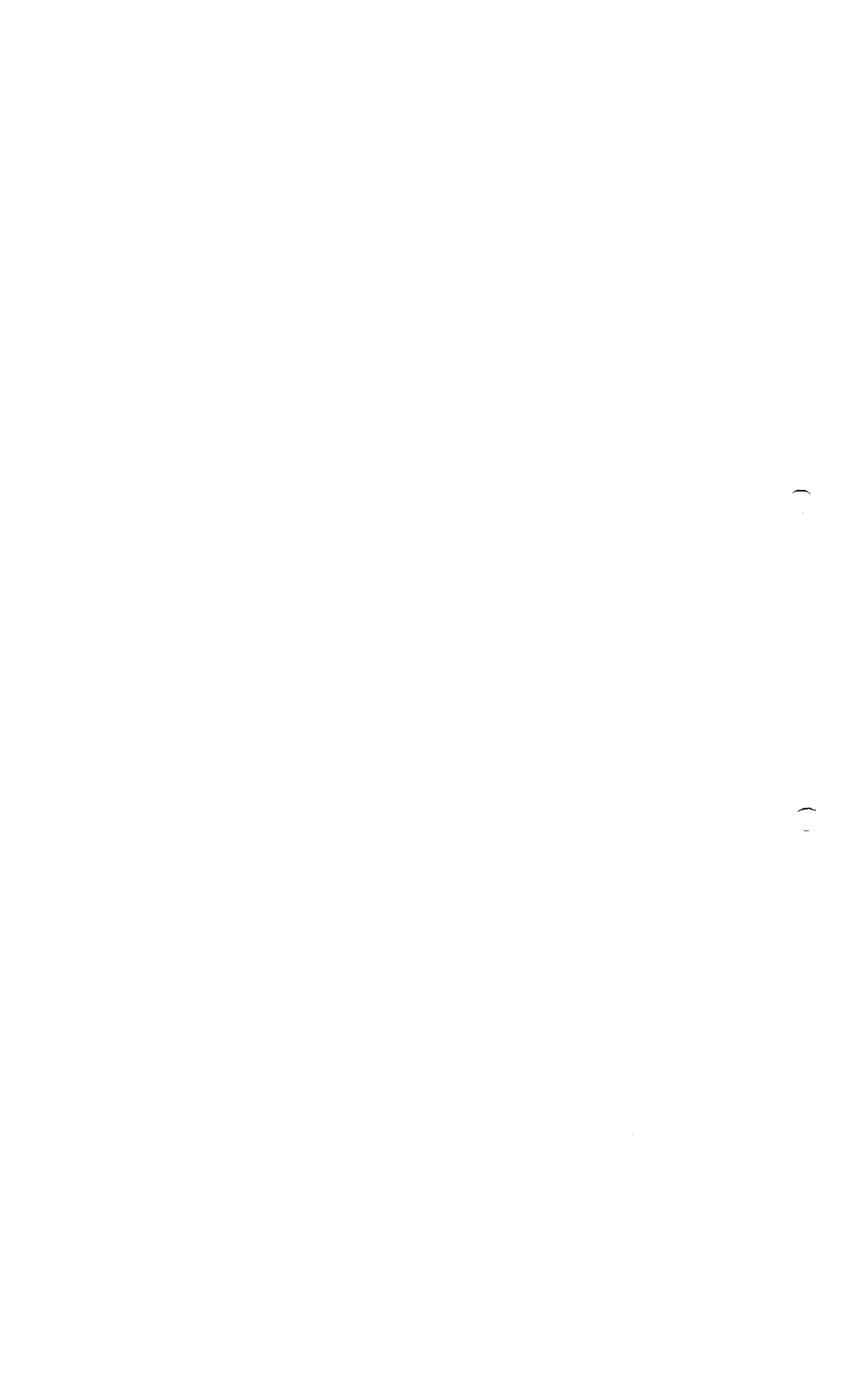
CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301918

Información confidencial/propietaria
Página 29 de 72







Etapas de elaboración		Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de uniformidad		
Precipitación de PT (Etapa 15)	Actividad específica (UE/mg)	95,65 < X < 306,3*	163,6	FA109852	FA109853	FA109854
	Actividad de agrupamiento en células CHO	X ≥ 1042*	51 200	FA109866	FA109867	FA109868
	Actividad de hemaglutinación (UHA/mL)	X ≤ 111 236	20 480	FA109872	FA109873	FA109874
Diafiltración del PTxd (Etapa 19)	Contenido proteico calculado (según el método de Lowry - g/L)	1,1 ≤ X ≤ 4,4*	2,37			4
	Contenido de carga biológica después de la segunda diafiltración	≤ 200 UFC/mL	< 20			0
	Contenido de sulfato de amonio (g/L) al final de la diafiltración	X ≤ 2,7*	1,4			1
Detoxificación de la PT						
Resultados						

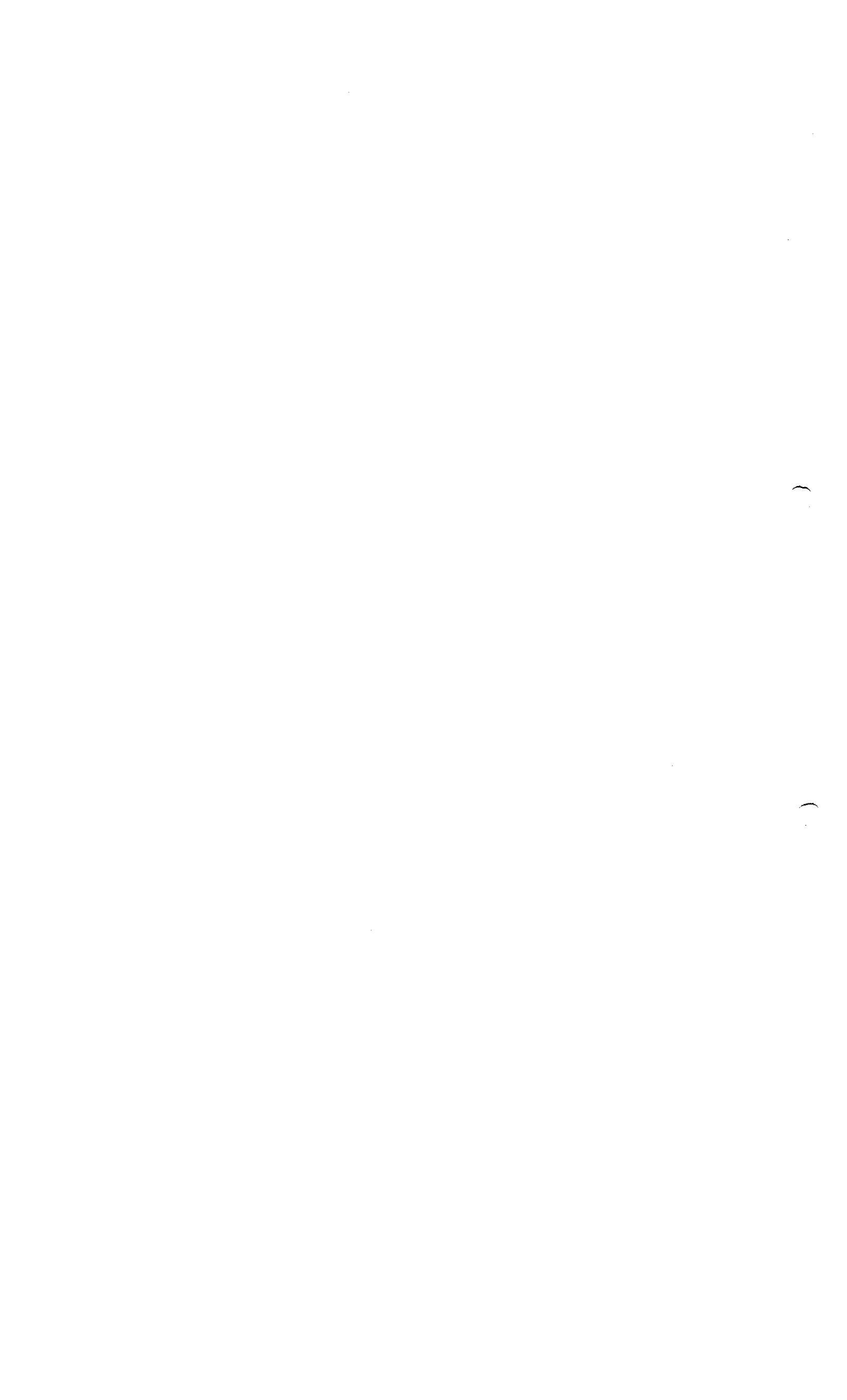
* Criterios de aceptación definidos por medio del cálculo del intervalo de tolerancia del 95 %, en lotes históricos



ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.







3.3.3 Monitoreo de la contaminación microbiana

3.3.3.1 Resumen de los resultados

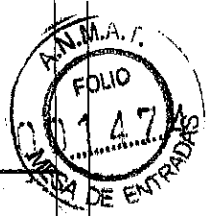
Se descubrieron varios resultados fuera de las especificaciones para el contenido de carga biológica en algunos pasos del proceso. Los resultados se resumen en la tabla 16 para la PT y en la tabla 17 para la FHA.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

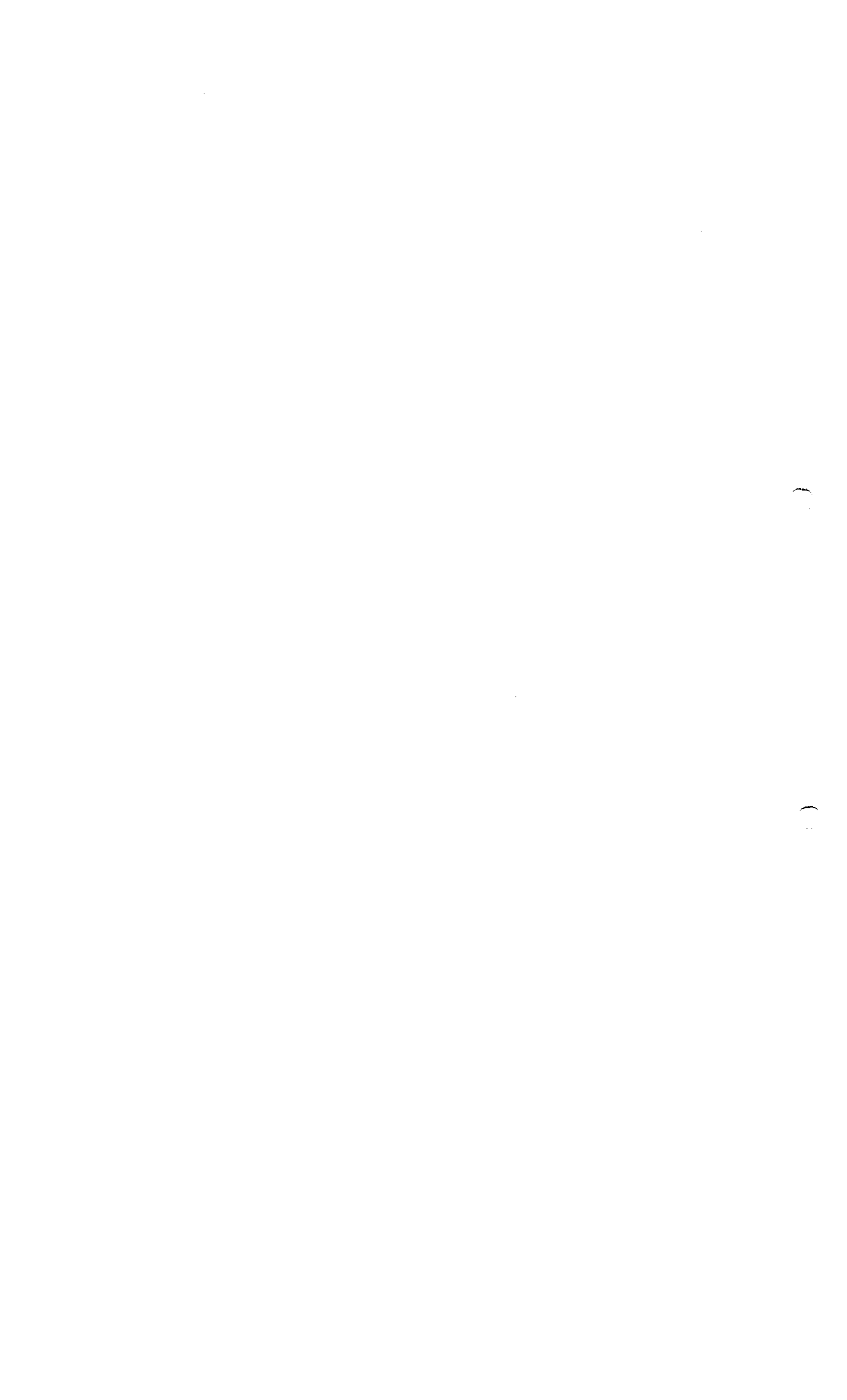

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

Tabla 16: Resultados de la carga biológica obtenidos durante la validación del proceso de purificación de la PT

Pasos de la purificación de la PT							
Etapas de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote de PT purificada nativa					
		FA109849	FA109850	FA109851	FA109852	FA109853	FA109854
Filtrado de cultivo concentrado después de la cosecha (Etapa 6d)	≤ 900 UFC/mL	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
Filtrado del cultivo concentrado (al comienzo de los pasos de purificación)	≤ 900 UFC/mL	4980	< 20	> 10 ⁴	< 20	< 20	< 20
Sobrenadante de HXP (Etapa 9)	≤ 900 UFC/mL	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴
Eliminación del sobrenadante de ASF-4B (Etapa 12)	≤ 900 UFC/mL	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴	> 10 ⁴
Elución de la PT (agrupación) (Etapa 14)	≤ 500 UFC/mL	> 10 ⁴	100	280	40	< 20	< 20
Pasos de solubilización de la PT							
Etapas de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote de PTxd purificado nativo en solución					
		FA109862	FA109863	FA109865	FA109866	FA109867	FA109868
En forma de precipitado de PT AS	≤ 200 UFC/mL	88	76	0	7	13	6
Después de la segunda diafiltración del PTxd (antes de la filtración previa) (Etapa 19)	≤ 200 UFC/mL	0	0	34	< 20	< 20	0



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



Pasos de la purificación de la PT		Números de lote de PT purificada nativa					
Etapas de elaboración	Criterios de aceptación	FA109849	FA109850	FA109851	FA109852	FA109853	FA109854
Filtración previa del PTxd (antes de la filtración estéril final) (Etapa 21)	≤ 50 UFC/10mL	0	0	17	0	0	0

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

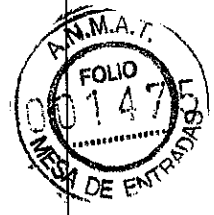




Tabla 17: Resultados de la carga biológica obtenidos durante la validación del proceso de purificación de la FHA

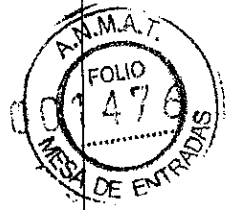
Etapas de elaboración	Criterios de aceptación	Pasos de la purificación de la FHA					
		FA109876	FA109878	FA109879	FA109880	FA109881	FA109882
Elución de la FHA (agrupación) (Etapa 11')	$\leq 10^4$ UFC/mL	2660	< 20	> 10^4	> 10^4	> 10^4	> 10^4
En forma de precipitado de FHA AS	≤ 200 UFC/mL	6	> 200	0	> 200	> 200	> 200
Diafiltración de la FHA antes de la filtración previa (Etapa 13'')	$\leq 10^4$ UFC/mL	< 20	20	< 20	< 20	20	340
Filtración previa de la FHA (antes de la filtración estéril final) (Etapa 14'')	≤ 50 UFC/10mL	0	0	0	0	0	0

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

0301918

Información confidencial/propietaria
Página 36 de 72





3.3.3.2 Acciones correctivas

El paso crucial para la contaminación microbiana es el último paso que corresponde a la filtración esterilizante de los antígenos en solución y a la adsorción en gel de hidróxido de aluminio. Se realizó en un gabinete de flujo laminar de grado A, ubicado en el área de grado B al momento de la validación. Se controlan las condiciones asépticas y se validan por medio de pruebas de llenado con medios. Se considera que la contaminación microbiana se encuentra bajo control total en este paso fundamental, debido a que los resultados de los conteos bacterianos en los 6 lotes de uniformidad antes y después de la filtración previa y los de la prueba de esterilización de los antígenos adsorbidos se encontraban dentro de las especificaciones para todos los lotes (como recordatorio, después de la etapa de filtración previa y antes de la filtración estéril final, los resultados de la carga biológica para el toxoide son los siguientes: 5 lotes a razón de 0 UFC/10 mL y 1 lote a razón de 17 UFC/10 mL y para FHA: 6 lotes a razón de 0 UFC/10 mL).

Para el proceso de inicial (upstream), con el fin de seguir la carga biológica de esta parte no aséptica del proceso, se realizaron conteos bacterianos en el sobrenadante del cultivo concentrado, en los sobrenadantes de HXP y ASF-4B, luego en los eluatos cromatográficos y, finalmente, en el precipitado de sulfato de amonio. En estas etapas, varios resultados superaron las especificaciones. Se realizó una investigación para explicar estos resultados fuera de las especificaciones y se estableció el siguiente plan de acción para mejorar el control de la contaminación microbiana en todos los pasos de purificación:

- Desarrollo de una solución efectiva para limpiar y almacenar el gel cromatográfico HXP.
- Optimización del proceso de limpieza y almacenamiento.
- Mejora de secado del equipo utilizado para el proceso de fermentación con el fin de reducir el tiempo de espera entre la limpieza y la utilización del equipo.
- Adición de un agente antimicrobiano (timerosal) en una etapa anterior del proceso, con el fin de limitar la contaminación biológica (vea el capítulo 3.5.2 para la eliminación de timerosal). Ahora, en lugar de agregar el timerosal al comienzo del proceso de purificación, este se agrega al final del proceso de fermentación antes de enviarlo al edificio de purificación (vea la etapa 6d del diagrama de flujo de la fermentación que se proporciona en 3.2.S.2.2 Cultivo celular y cosecha).

3.3.3.3 Estudio de validación complementario

Después de la implementación de todas estas acciones correctivas, se realizó un estudio de validación adicional en 3 lotes complementarios, con el fin de verificar la eficacia de las acciones correctivas en el control de la carga biológica.

La descripción de los lotes de validación complementarios de PTxd purificado adsorbido y de FHA purificada adsorbida se presenta en la tabla 18 y en la tabla 19, respectivamente.

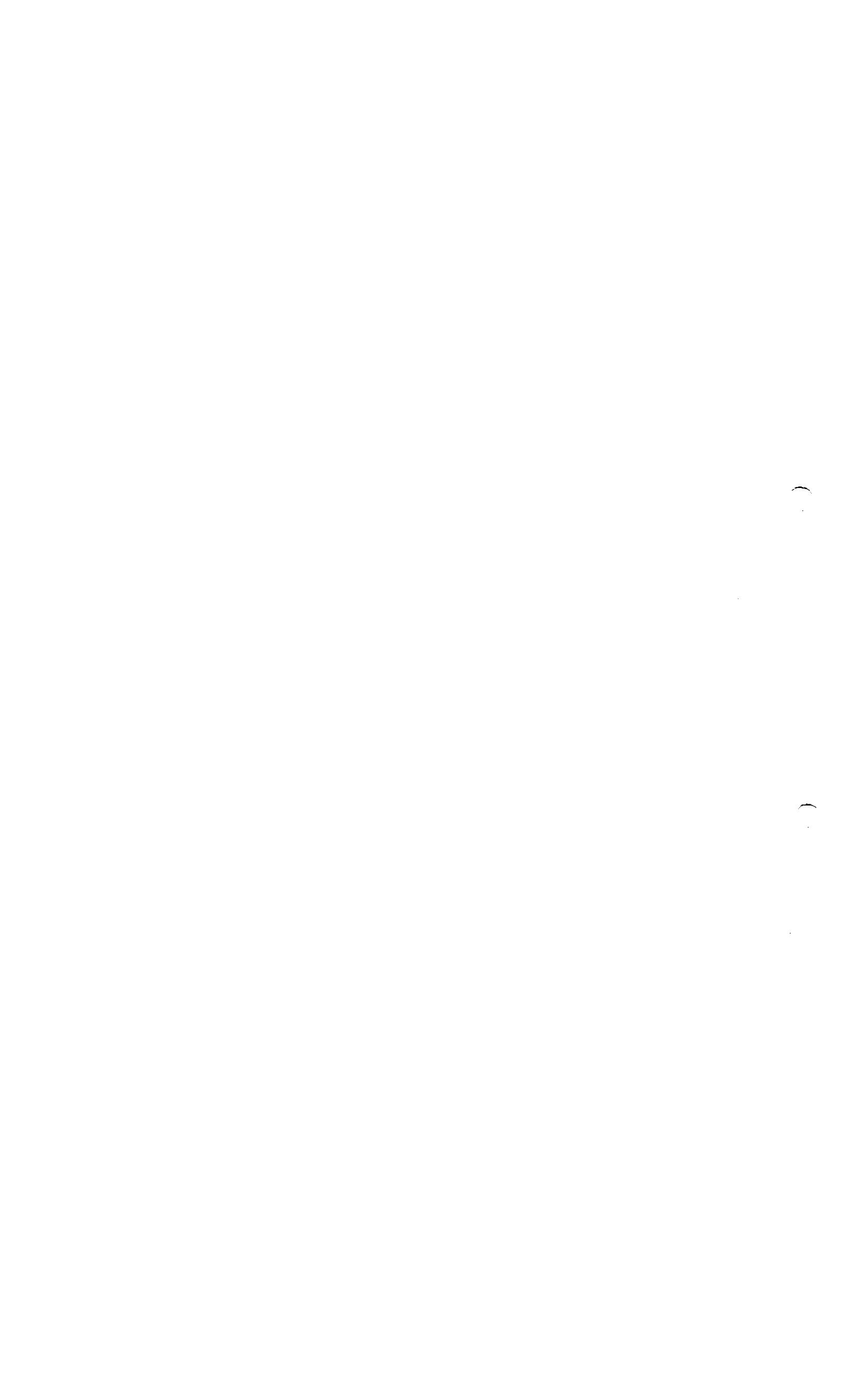




Tabla 18: PTxd purificado adsorbido: Filiación de los lotes de validación complementarios

Filtrado de cultivo concentrado	FA166789	FA168066	FA170227	FA171691
Fecha de elaboración*	26 de noviembre de 2003	12 de diciembre de 2003	16 de enero de 2004	20 de enero de 2004
PT purificada nativa	FA164565	FA164566	FA171187	FA172042
Fecha de elaboración*	22 de diciembre de 2003	12 de enero de 2004	9 de febrero de 2004	19 de febrero de 2004
PTxd correspondiente en solución	FA168731	FA168733	FA174119	FA174791
PTxd purificado adsorbido	FA168732	FA168734	FA174123	FA174792
Fecha de elaboración*	27 de enero de 2004	2 de febrero de 2004	Sin procesar	1 de marzo de 2004

* Corresponde a las fechas en que comienza el proceso de elaboración

Tabla 19: FHA purificada adsorbida: Filiación de los lotes de validación complementarios

Filtrado de cultivo concentrado	FA166789	FA168066	FA170227	FA171691
Fecha de elaboración*	26 de noviembre de 2003	12 de diciembre de 2003	16 de enero de 2004	20 de enero de 2004
PT purificada nativa	FA164569	FA164570	FA169177	FA172460
Fecha de elaboración*	19 de diciembre de 2003	5 de enero de 2004	4 de febrero de 2004	18 de febrero de 2004
PTxd correspondiente en solución	FA168723	FA168725	FA168727	FA174782
PTxd purificado adsorbido	FA168724	FA168726	FA168728	FA174784
Fecha de elaboración*	8 de enero de 2004	9 de enero de 2004	13 de febrero de 2004	24 de febrero de 2004

* Corresponde a las fechas en que comienza el proceso de elaboración

Los resultados del contenido de carga biológica obtenidos para estos 3 lotes de validación complementarios se encuentran en la tabla 20 y la tabla 23.

Tabla 20: PT purificada nativa: Resultados de la carga biológica (UFC/mL)

Paso de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote (fechas de elaboración)			
		FA164565 (28 de noviembre de 2003)	FA164566 (12 de diciembre de 2003)	FA171187 (16 de enero de 2004)	FA172042 (30 de enero de 2004)
Filtrado del cultivo concentrado (final de la fermentación: en los dos tanques móviles antes de agregar timerosal)*	/	<20 / <20	<20 / <20	<20 / <20	20 / <20
Filtrado crudo concentrado (inicio de la purificación)	≤900 UFC/mL	<20	<20	<20	<20
Sobrenadante de HXP (paso 3)	/	3,1 10 ³	2,52 10 ³	1,06 10 ³	>10 ⁴
Eliminación del sobrenadante de ASF-4B (paso 6)	/	2,46 10 ³	>10 ⁴	<20	>10 ⁴
Elución de la toxina pertúsica (agrupación) (paso 9)	≤500 UFC/mL	<20	<20	20	20
Regeneración de ASF-4B	≤500 UFC/mL	<20	<20	<20	<20
		300	<20	<20	<20
			<20	<20	120
					NR†

* Control adicional no realizado en las pruebas de rutina
 † NR: No realizado

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.



