

Tabla 21: PTxd purificado nativo en solución: Resultados de la carga biológica (UFC/mL o UFC/10 mL)

Detoxificación de la PT	Paso de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote (Fechas de elaboración) + Lotes de toxina purificada nativa agrupada			
			FAI68731 19 de enero de 2004 Del lote FAI64565	FAI68733 26 de enero de 2004 Del lote FAI64566	FAI74119 16 de febrero de 2004 Del lote FAI71187	FAI74791 23 de febrero de 2004 Del lote FAI72042
	En suspensión de precipitado de sulfato de amonio	≤200 UFC/mL	25	16	NR*	43
	Después de la segunda diafiltración	≤200 UFC/mL	12	2	NR*	16
	Antes de la filtración estéril final	≤50 UFC/10 mL	2	0	NR*	0

* No realizado debido al mal funcionamiento del sistema de ultrafiltración de la toxina pertúsica en solución

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

0301918

Información confidencial/propietaria
Página 40 de 72

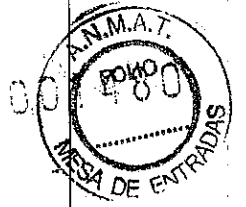




Tabla 22: FHA purificada nativa: Resultados de la carga biológica (UFC/mL)

Paso de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote (fechas de elaboración)			
		FA164569 28 de noviembre de 2003	FA164570 12 de diciembre de 2003	FA169177 16 de enero de 2004	FA172460 30 de enero de 2004
Purificación de la FHA	$\leq 10^4$ UFC/mL	60	<20	3,2 10^3	1,86 10^3
Regeneración de HXP	$\leq 10^4$ UFC/mL	<20	<20	<20	<20
		40	480	20	20
		<20	20	<20	<20

ROXANA MONTEILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



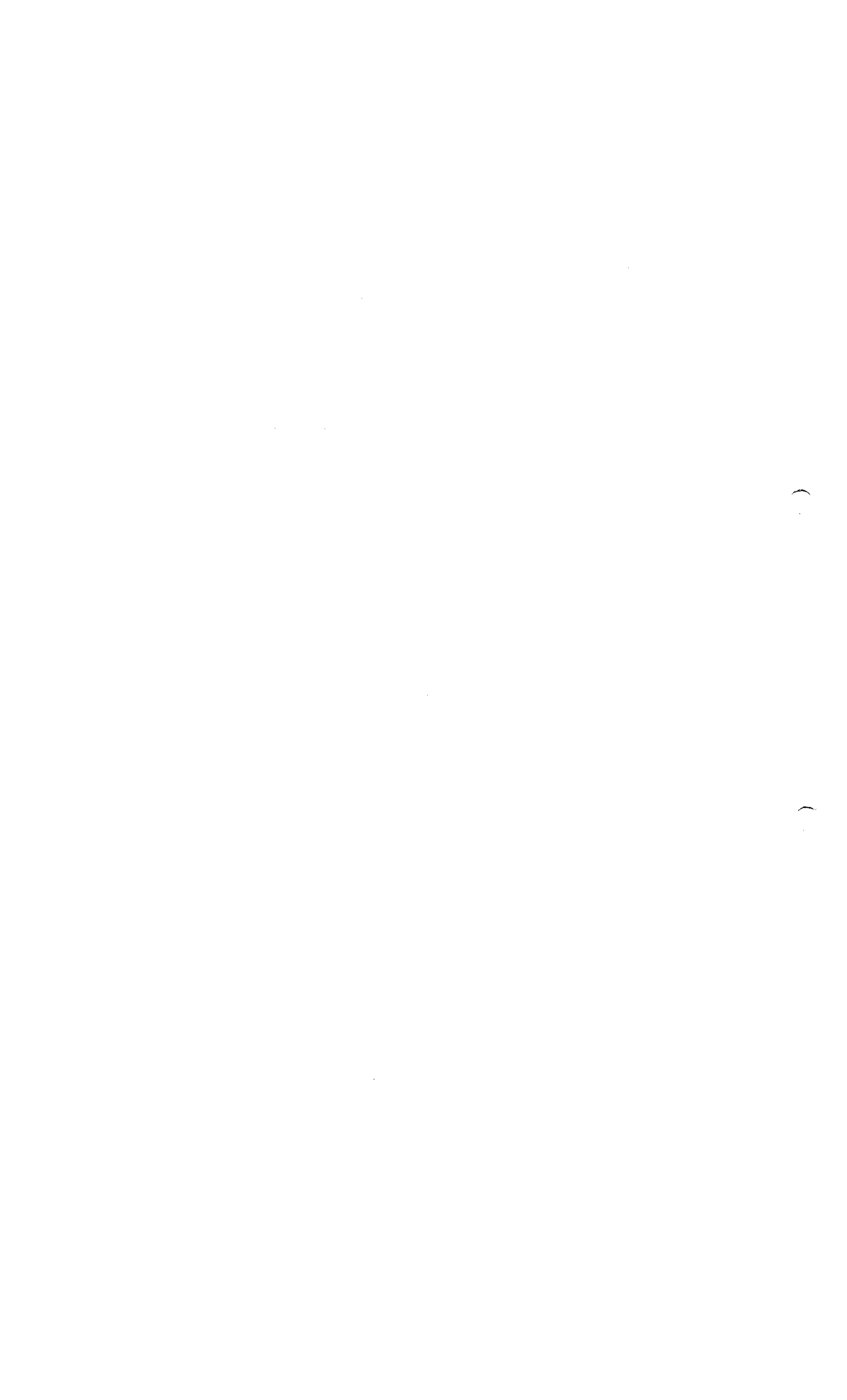


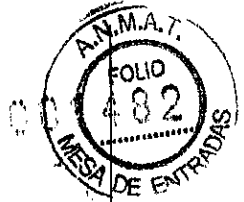
Tabla 23: FHA purificada nativa en solución: Resultados de la carga biológica (UFC/mL o UFC/10 mL)

Adsorción de la FHA	Paso de elaboración	Criterios de aceptación	Números de lote (Fechas de elaboración) + Lotes de FHA purificada nativa agrupada			
			FA168723 2/0 de enero de 2004 Del lote FA164569	FA168725 5 de enero 2004 Del lote FA164570	FA168727 9 de febrero 2004 Del lote FA169177	FA174782 16 de febrero 2004 Del lote FA172460
	En suspensión de precipitado de sulfato de amonio	≤200 UFC/mL	0	55	3	17
	Después de la diafiltración (Paso 1)	≤10 ⁴ UFC/mL	<20	<20	<20	<20
	Antes de la filtración final	≤50 UFC/10 mL	2	1	0	0

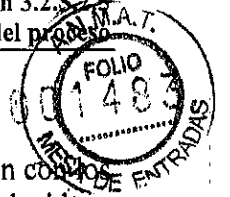
ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APROBADO
 SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301918







Los resultados de la carga biológica de los 3 lotes de validación complementarios cumplen con los criterios de aceptación en todos los pasos y permiten validar las acciones correctivas establecidas después de los primeros seis lotes de uniformidad.

Además del contenido de carga biológica, se realizaron las siguientes pruebas de liberación:

- Contenido de endotoxina en el antígeno en solución.
- Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica en el antígeno adsorbido.

Todos los resultados cumplieron con los criterios para todos los 3 lotes probados (vea la tabla 24 y tabla 25).

Tabla 24: Resultados de las pruebas de liberación de contenido de endotoxinas y de esterilidad para los 3 lotes de validación complementarios durante la purificación de la PT

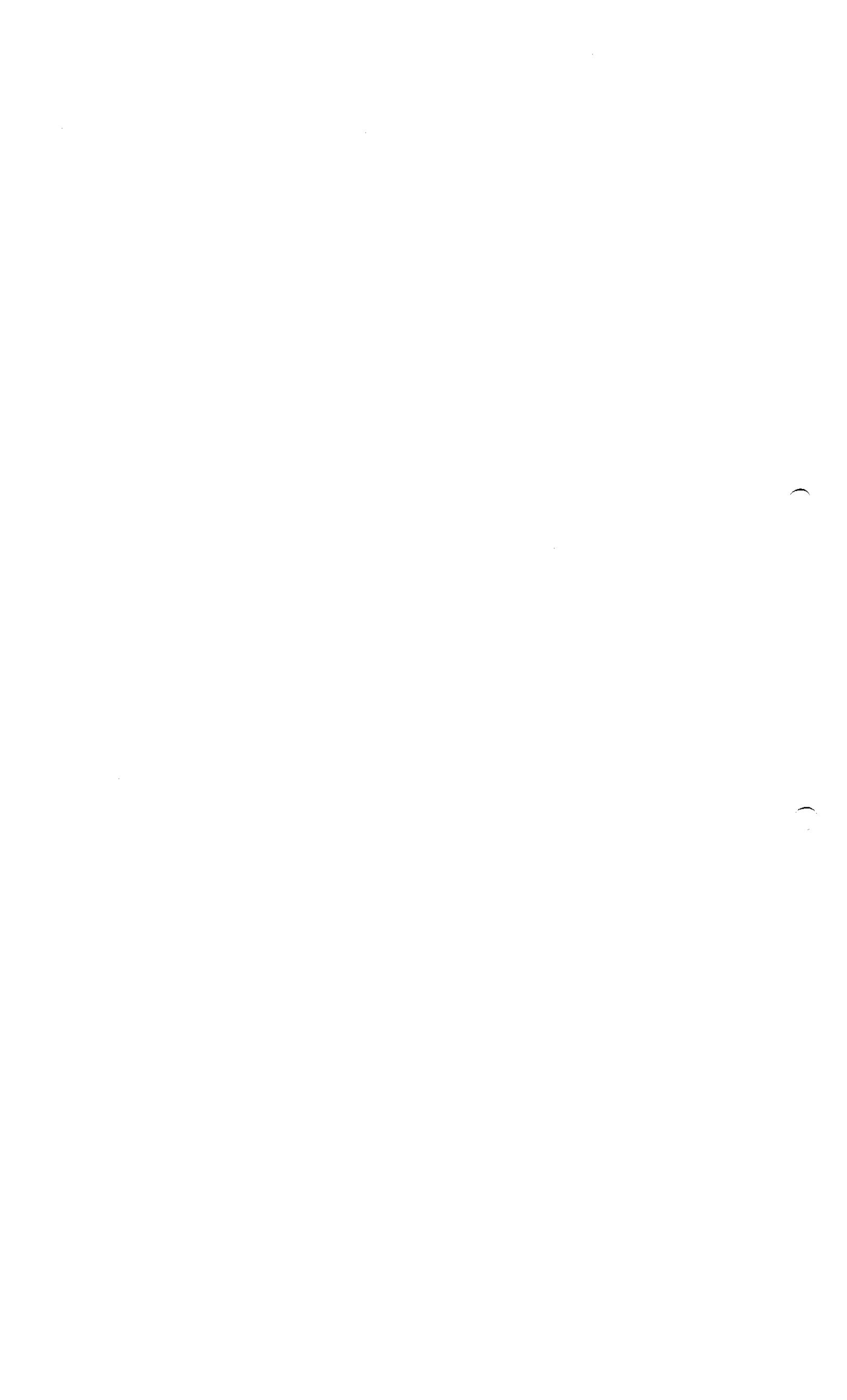
Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de PTxd purificado adsorbido (número de lote del PTxd purificado nativo en solución correspondiente)		
		FA168732 del lote FA168731	FA168734 del lote FA168733	FA174792 del lote FA174791
Contenido de endotoxinas	≤3 500 UI/mg de proteína	16,01	7,45	<4,36
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano

Tabla 25: Resultados de las pruebas de liberación de contenido de endotoxinas y de esterilidad para los 3 lotes de validación complementarios durante la purificación de la FHA

Pruebas	Criterios de aceptación	Números de lote de la FHA purificada adsorbida (número de lote de la FHA purificada nativa en solución correspondiente)		
		FA168724 del lote FA168723	FA168726 del lote FA168725	FA174784 del lote FA174782
Contenido de endotoxinas	≤150 UI/mg de proteína	<1,04	1,59	3,67
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano	Sin crecimiento microbiano

3.4 Pruebas de control de calidad

Los 6 lotes de uniformidad producidos en el marco de la validación del proceso de purificación se analizaron en cada etapa de purificación (antígenos nativos y antígenos en solución), de acuerdo con las pruebas y los criterios de aceptación descritos en 3.2.S.2.4 Controles de los pasos críticos e intermedios.





Los resultados obtenidos en cada intermedio se presentan en la tabla 26 a tabla 29. Todos los resultados cumplen con los criterios de aceptación.

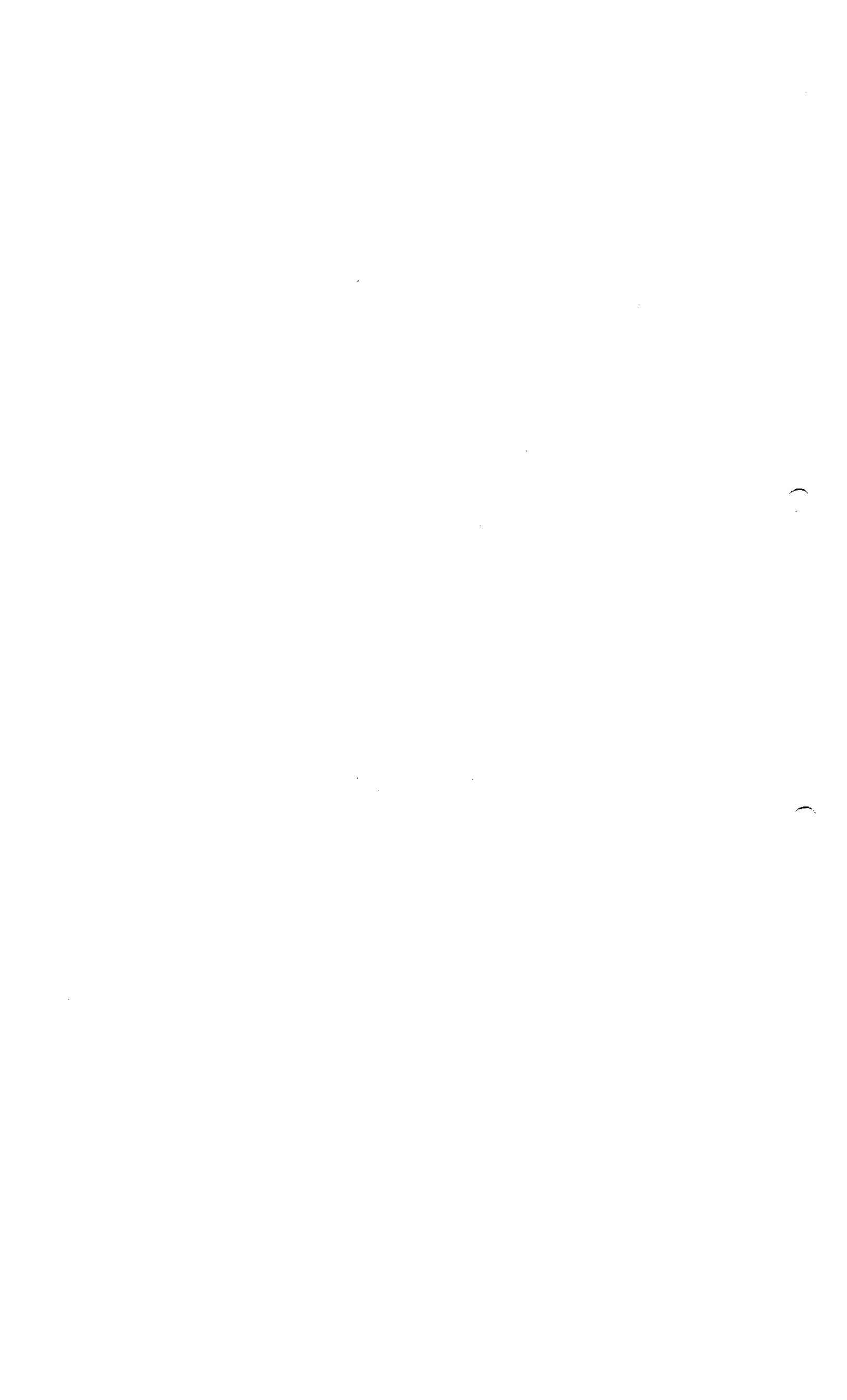


Tabla 26: Resultados del control de calidad de la PT purificada nativa

Pruebas	Criterios de aceptación	N.º de lote FA109849	N.º de lote FA109850	N.º de lote FA109851	N.º de lote FA109852	N.º de lote FA109853	N.º de lote FA109854
Contenido proteico	Para cálculo	902,01 µg/mL	870,68 µg/mL	1005,68 µg/mL	748,00 µg/mL	967,49 µg/mL	1034,49 µg/mL
SDS-PAGE	Perfil electroforético comparable con el perfil de la referencia La posible presencia de una banda complementaria de FHA es aceptable si representa menos del 2% de las proteínas totales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Identificación del toxoide pertúsico	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Actividad de agrupamiento en células CHO	Actividad citopática (CPU/µg de proteína) ≥ límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de actividad citopática de la referencia	44 800 CPU/µg de proteínas	51 200 CPU/µg de proteínas	44 800 CPU/µg de proteínas	51 200 CPU/µg de proteínas	25 600 CPU/µg de proteínas	25 600 CPU/µg de proteínas
Actividad de hemaglutinación	20 000 a 500 000 UHA/mg de proteínas IHA con colesterol ≤ 20%	51 086 UHA/mg de proteínas 0%	51 160 UHA/mg de proteínas 0%	51 165 UHA/mg de proteínas 0%	102 674 UHA/mg de proteínas 0%	51 068 UHA/mg de proteínas 0%	51 250 UHA/mg de proteínas 0%

ROXANA MONTÉMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



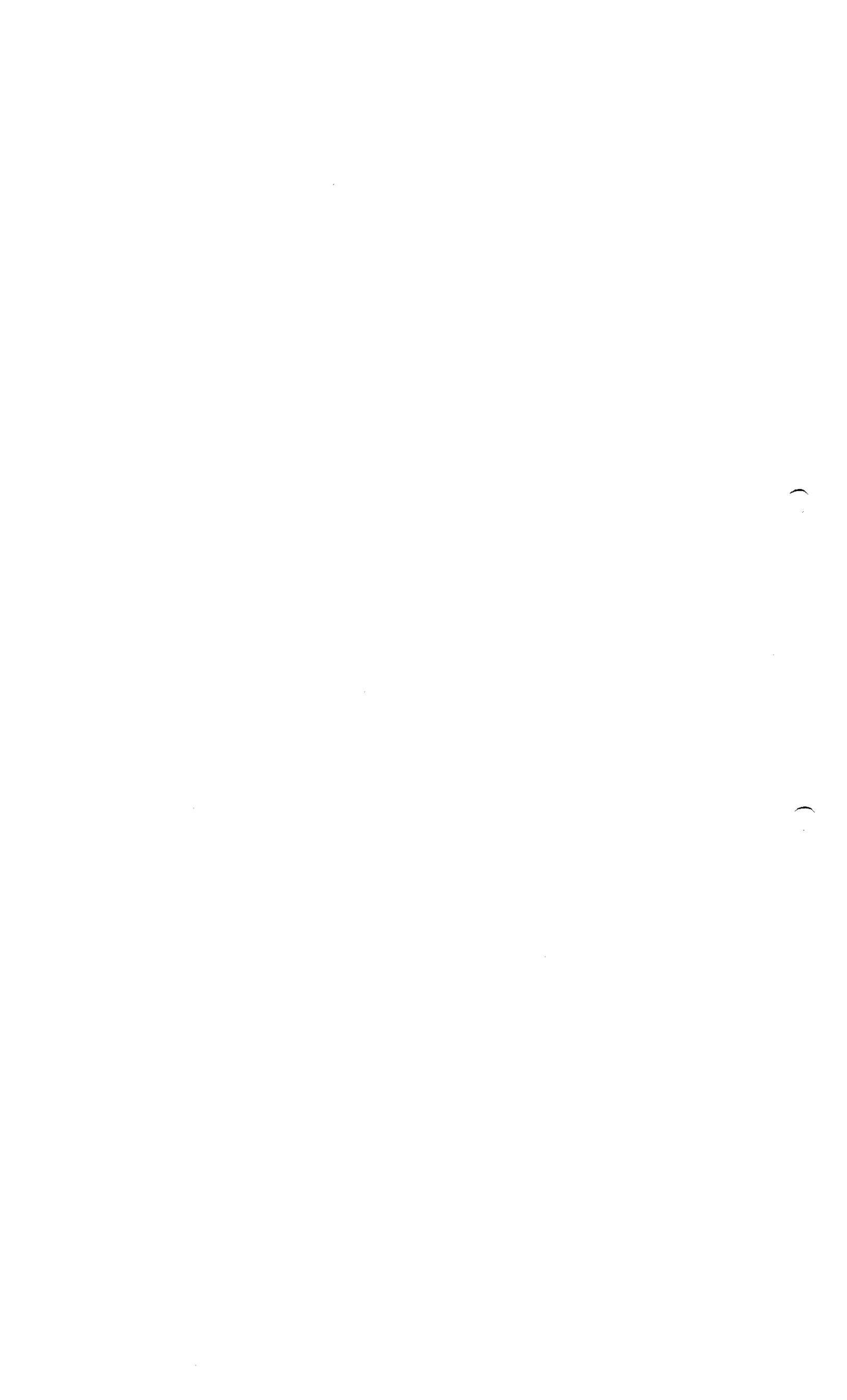


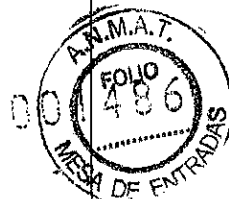
Tabla 27: Resultados del control de calidad del PTxd purificado en solución

Pruebas	Criterios de aceptación	N.º de lote FA109862	N.º de lote FA109863	N.º de lote FA109865	N.º de lote FA109866	N.º de lote FA109867	N.º de lote FA109868
Contenido proteico (µg/mL)	50 a 180 µg/mL	87	51	90	89	95	108
Contenido de glutaraldehído residual (µg/mL)	<8 µg/mL	<2	<2	<2	<2	<2	<2
Irreversibilidad del toxoide pertúsico a +5 °C ± 3 °C o a +37 °C ± 2 °C	≥95% de vida	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Antigenicidad (UE/mg de proteínas)	Actividad específica (UE/mg de proteínas) ≥ límite de confianza inferior (P = 0,95) de la actividad citopática de los lotes	30,4	24,9	53,6	38,7	53,6	43,6
Contenido de endotoxinas	≤ 500 UI/mg de proteína	73,67	10,98	71,00	<5,59	<5,28	<4,63
Actividad de agrupamiento en células CHO	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
OPERARIO
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0301918



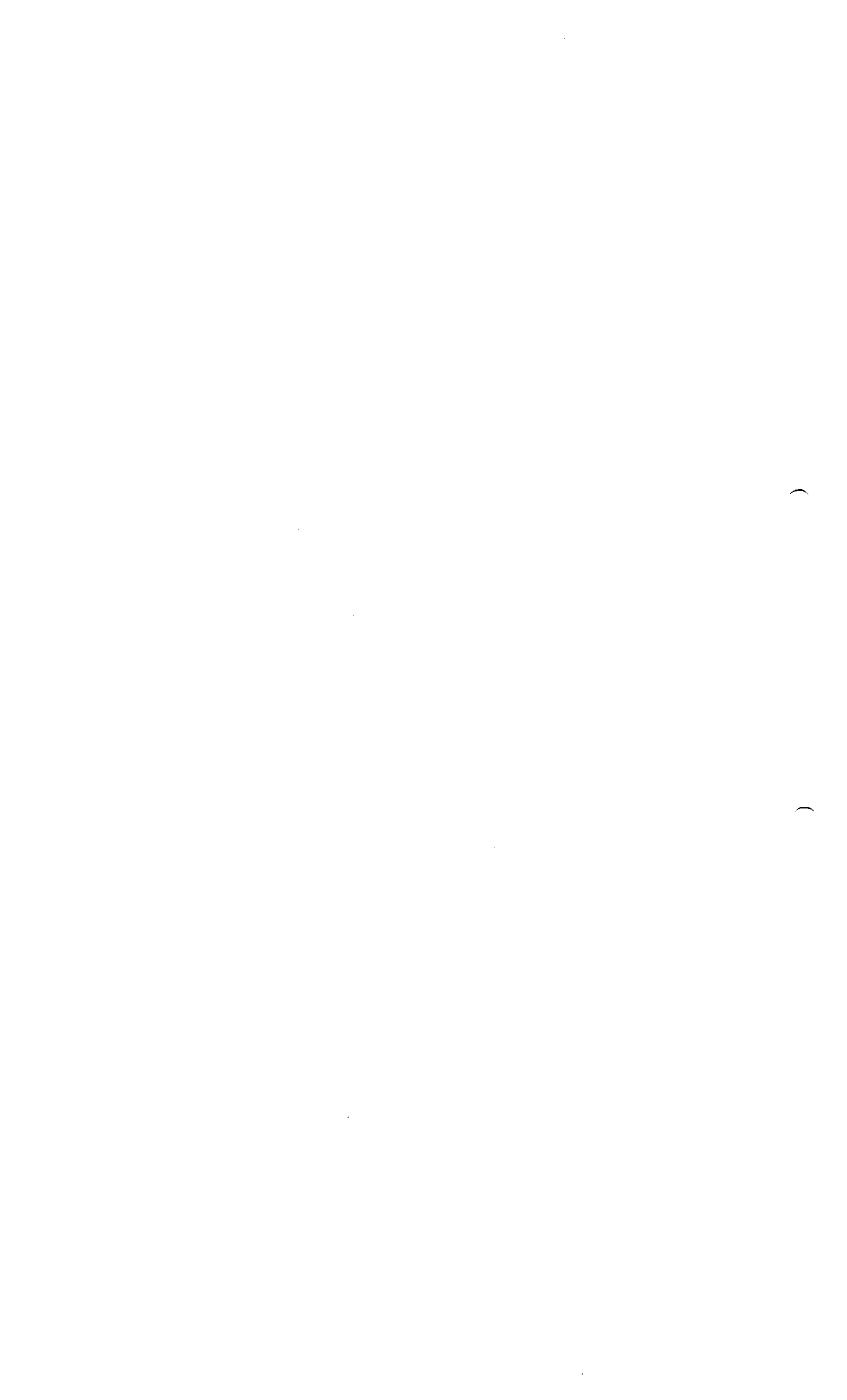


Tabla 28: Resultados del control de calidad de la FHA purificada nativa

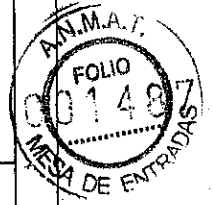
Pruebas	Criterios de aceptación	N.º de lote FA109856	N.º de lote FA109857	N.º de lote FA109858	N.º de lote FA109859	N.º de lote FA109860	N.º de lote FA109861
Contenido proteico	Para cálculos	852,49 µg/mL	1043 µg/mL	869 µg/mL	1101 µg/mL	719 µg/mL	914 µg/mL
SDS-PAGE	Perfil electroforético comparable con el perfil de la referencia	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Identificación de la FHA	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Actividad de agrupamiento en células CHO	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Sin efecto citopático	Negativo
Actividad de hemaglutinación	200 000 a 2 500 000 UHA/mg de proteínas IHA con colesterol \geq 80%	1 021 009 UHA/mg de proteínas 88 %	512 928 UHA/mg de proteínas 94 %	1 024 012 UHA/mg de proteínas 97 %	1 022 856 UHA/mg de proteínas 97 %	2 049 993 UHA/mg de proteínas 97 %	1 024 146 UHA/mg de proteínas 97 %

Tabla 29: Resultados del control de calidad de la FHA purificada en solución

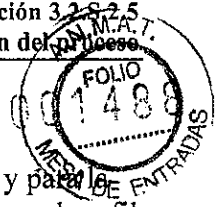
Pruebas	Criterios de aceptación	N.º de lote FA109876	N.º de lote FA109878	N.º de lote FA109879	N.º de lote FA109880	N.º de lote FA109881	N.º de lote FA109882
Contenido proteico (µg/mL)	350 a 2 100 µg/mL	934,19	983,68	1173,16	1004,82	1256,55	681,96
Antigenicidad (UE/mg de proteínas)	Actividad específica (UE/mg de proteínas) \geq limite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la actividad citopática de los lotes	146,4	93,5	68,9	80,9	59,2	87,7
Contenido de endotoxinas (UI/mg de proteína)	\leq 150 UI/mg de proteína	14,24	1,85	4,43	7,68	1,54	3,28

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

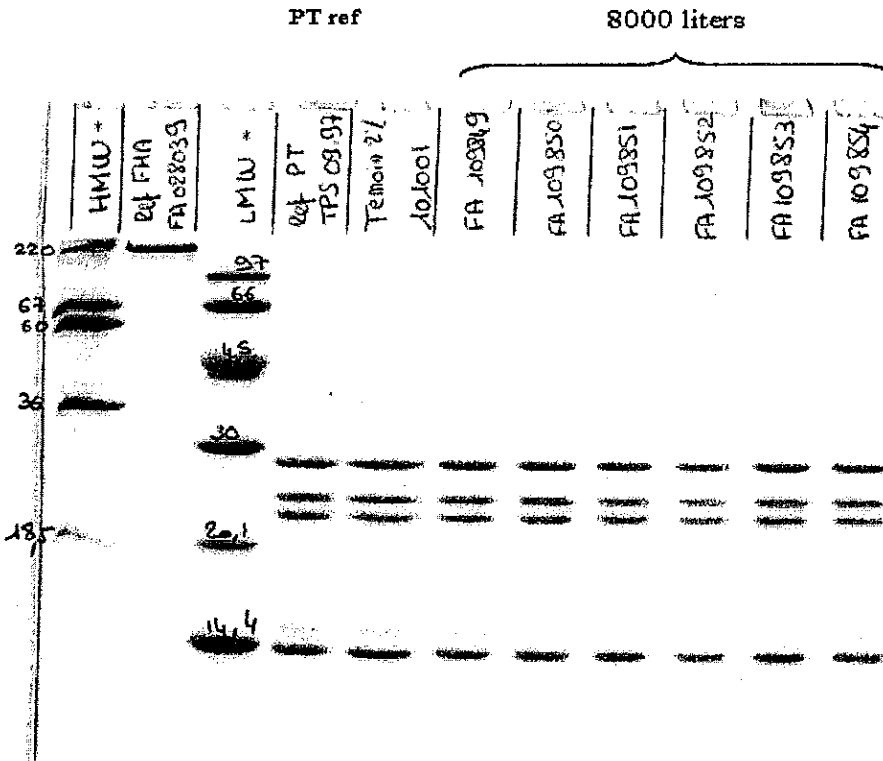






La figura 2 y figura 3 muestran los perfiles de SDS-PAGE para la PT purificada nativa y para FHA nativa de cada lote de uniformidad, respectivamente. Estos perfiles se comparan con el perfil de la referencia.

Figura 2: SDS-PAGE para la toxina pertúsica purificada nativa



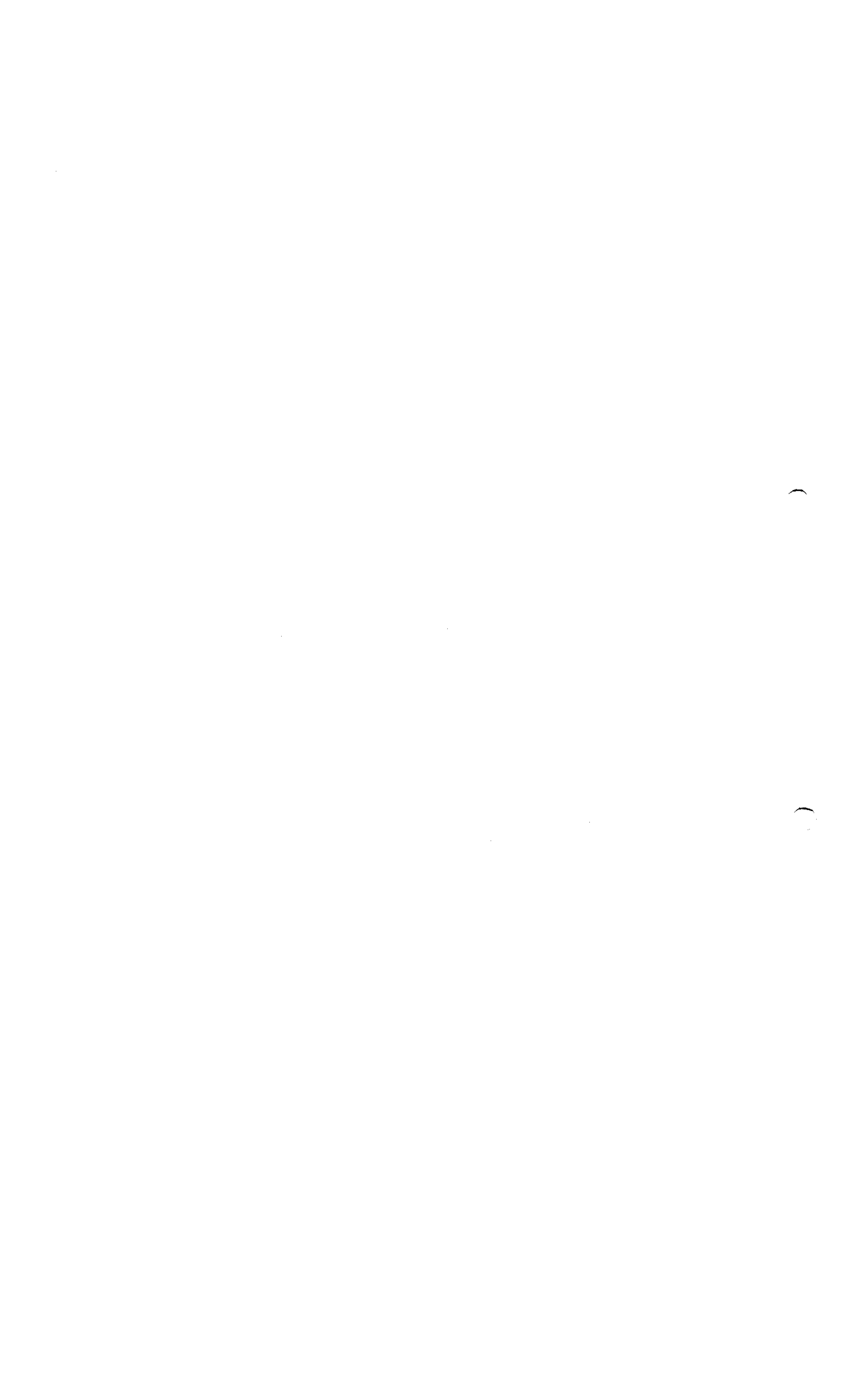




Figura 3: SDS-PAGE para la FHA purificada nativa

