

En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos para el contenido de BSA en lotes de validación:


Tabla 9: Contenido de BSA obtenido en lotes de validación


Tipo	Número de lote	Cosecha (ng/mL)	Susp. purificada GM (ng/mL)	Susp. purificada Sepharose (ng/mL)	Susp. purificada PM (ng/mL)
Tipo 1	FA265069	34 900	12,4	11,5	<3,9*
	FA266559	31 500	5,7	4,6	<3,9
	FA273636	38 300	5,8	12,6	<3,9
Tipo 2	FA269715	34 300	5,2	<3,9	<3,9
	FA270301	32 700	5,4	≤3,9	<3,9
	FA270963	40 400	5,5	<3,9	<3,9
	FA271908	48 800	6,8	4,7	<3,9
	FA272631	45 100	9,3	10	<3,9
	FA274124	45 300	12,3	7,3	<3,9
Tipo 3	FA267098	39 600	21,6	34,6	9,2
	FA267099	43 000	20,1	28,2	5,2
	FA267770	41 400	14,6	12,6	<3,9

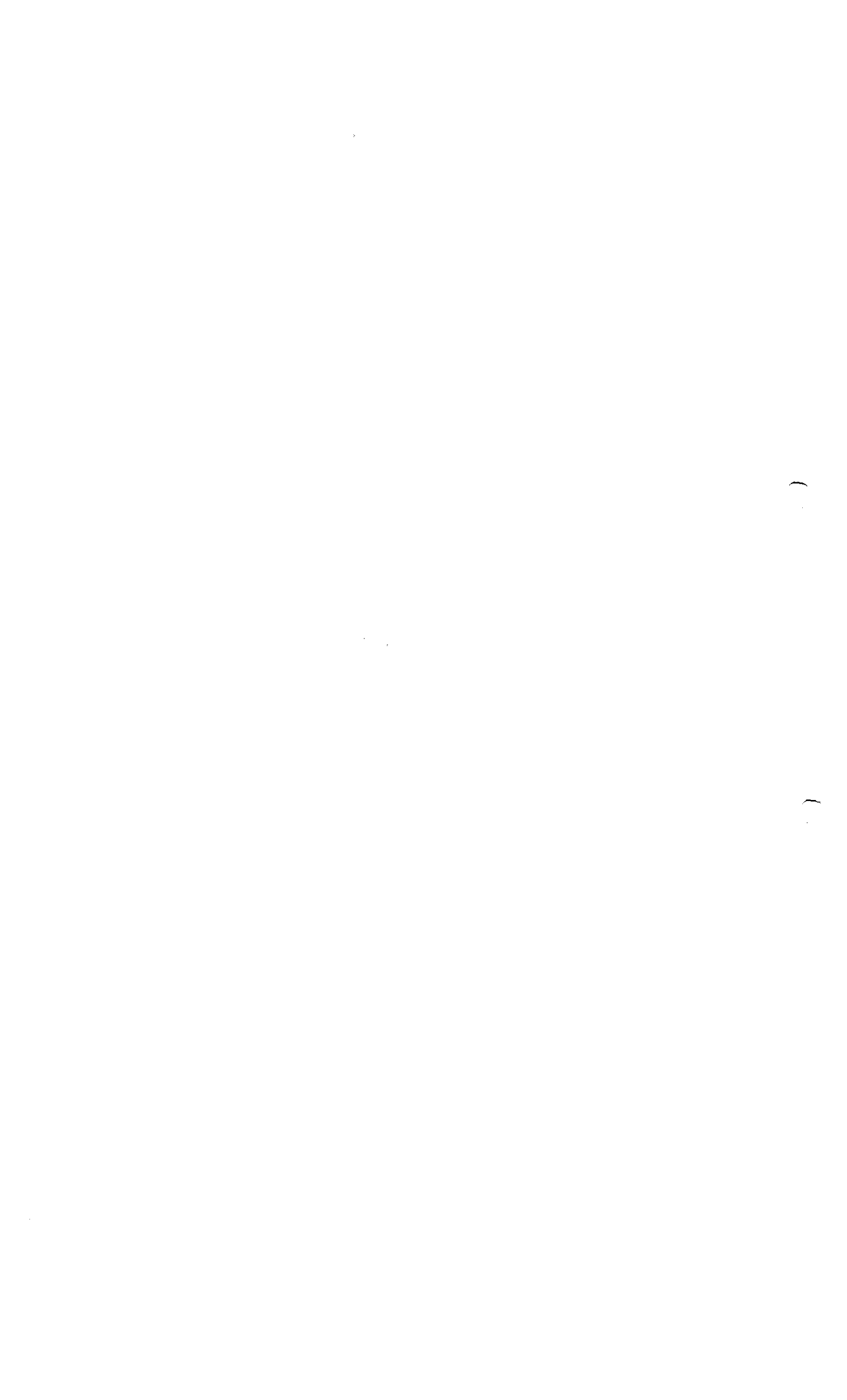
* <3,9 corresponde a un valor inferior al primer punto de la curva de calibración.

La comparación de los datos se lleva a cabo en cada etapa de la elaboración: cosecha cruda, suspensión purificada GM, suspensión purificada Sepharose y suspensión purificada PM, utilizando el tratamiento estadístico adecuado en función de los siguientes datos:

- En la etapa de cosecha cruda, no se pueden calcular límites de comparabilidad para el contenido de BSA, ya que la distribución no es gaussiana. Se lleva a cabo, por tanto, una comparación de la media. En esta etapa solo se pueden utilizar 9 valores para expresar la comparación entre los lotes históricos y de uniformidad. Las medias de los datos históricos y de uniformidad para el contenido de BSA no son estadísticamente diferentes con un intervalo de confianza del 1 %.
- En la etapa de suspensión purificada GM, se determinó un intervalo de comparabilidad con un NCompI a 2,0 ng/mL y un NCompS a 107,3 ng/mL. Todos los resultados de los lotes de uniformidad para el contenido de BSA en la suspensión purificada GM se encuentran dentro del rango de comparabilidad.
- En la etapa suspensión purificada Sepharose solo se pueden utilizar 9 valores de los lotes de uniformidad para expresar la comparación entre los lotes históricos y de uniformidad. Se determinó un intervalo de comparabilidad en los datos históricos con un NCompI a 1,1 ng/mL y un NCompS a 626,8 ng/mL. Todos los resultados de los lotes de uniformidad para el contenido de BSA en la etapa de suspensión purificada Sepharose se encuentran dentro del rango de comparabilidad.


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 INGENIERO
 SANOFI PASTEUR S.A.



- En la suspensión purificada PM no se puede representar ningún límite para el contenido de BSA ya que la distribución no es gaussiana en los datos históricos. Tampoco es posible una comparación de la media porque la distribución no es gaussiana en los lotes de uniformidad. En ese caso, tan solo se lleva a cabo una comparación de los datos: un 63,33 % de los datos históricos y un 83,33 % de los lotes de uniformidad son inferiores a 3,9 ng/mL. La eliminación de BSA en los lotes de uniformidad se considera, por lo tanto, equivalente a la obtenida en los lotes históricos, por lo que queda demostrada la eficiencia de esta eliminación.

2.2.5.2 Comparación de contenido de ADN en lotes históricos y de uniformidad

La comparación entre los resultados de lotes históricos y de uniformidad se llevó a cabo como prueba de caracterización adicional en el contenido de ADN, con el fin de caracterizar el proceso en diferentes etapas: etapas de cosecha cruda, suspensión purificada GM, suspensión purificada Sepharose y suspensión purificada PM.

En el momento del inicio del protocolo, cuando se identificaron lotes históricos para el estudio de comparación, todas las muestras analizadas para detectar ADN residual fueron tratadas con una solución de lejía al 1 %, mientras no se permitía que el laboratorio de control de calidad manejara muestras virulentas. Tras la implantación del nivel 2 de bioseguridad en el laboratorio de control de calidad, las muestras dejaron de tratarse con solución de lejía al 1 %. Por lo tanto, cuando se inició el estudio de comparabilidad, no fue posible utilizar los 30 lotes previstos inicialmente en el protocolo. Solo se utilizaron entonces nueve lotes disponibles para su comparación con los lotes de uniformidad, y todas las muestras se analizaron sin agregar la solución de lejía al 1 %.

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para el contenido de ADN en lotes históricos.

Tabla 10: Contenido de ADN obtenido en lotes históricos elaborados en Marcy l'Etoile

Tipo	Número de lote	Cosecha (pg/mL)	Susp. purificada GM (pg/mL)	Susp. purificada Sepharose (pg/mL)	Susp. purificada PM (pg/mL)
Tipo 1	FA169894	9 200 000	NA*	NA	NA
	FA171610	8 100 000	NA	NA	NA
	FA172063	5 900 000	NA	NA	NA
	FA182835	NA	≤500	≤500	≤500
	FA184385	NA	≤500	≤500	≤500
	FA194482	NA	≤1500	≤500	≤1000
	FA194985	NA	32 000	1800	≤500
	FA196067	NA	31 000	2400	≤500
Tipo 2	FA179228	9 400 000	≤260	≤500	≤500
	FA179654	NA	≤260	≤500	≤500
	FA180072	7 000 000	NA	NA	NA
	FA180681	9 900 000	NA	NA	NA
Tipo 3	FA173865	6 800 000	NA	NA	NA
	FA174755	NA	≤260	≤500	≤500
	FA176860	NA	230 000	≤30 000	≤500
	FA190604	15 500 000	NA	NA	NA

del proceso

Tipo	Número de lote	Cosecha (pg/mL)	Susp. purificada GM (pg/mL)	Susp. purificada Sepharose (pg/mL)	Susp. purificada PM (pg/mL)
	FA191248	7 300 000	NA	NA	NA



* NA: No disponible

[Signature]
ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

[Signature]
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

()

()



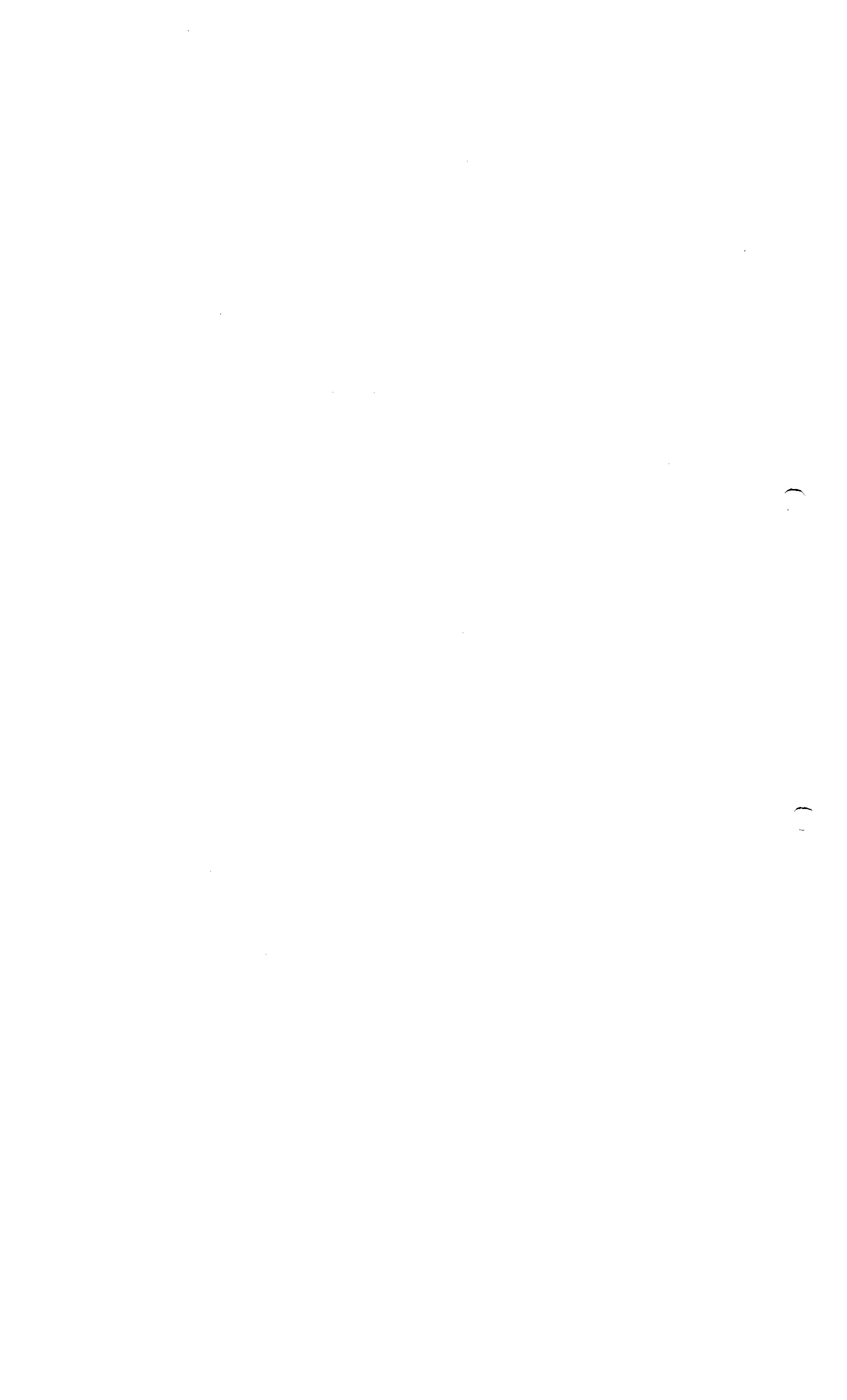
En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para el contenido de ADN en lotes de validación:

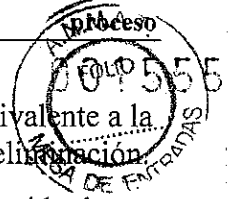
Tabla 11: Contenido de ADN obtenido en lotes de validación

Tipo	Número de lote	Cosecha (pg/mL)	Susp. purificada GM (pg/mL)	Susp. purificada Sepharose (pg/mL)	Susp. purificada PM (pg/mL)
Tipo 1	FA265069	7 600 000	≤260	≤500	≤500
	FA266559	10 000 000	≤256	≤500	≤500
	FA273636	9 800 000	≤50	≤260	≤50
Tipo 2	FA269715	10 700 000	≤260	≤510	≤510
	FA270301	13 000 000	≤260	≤500	≤500
	FA270963	12 200 000	≤260	≤500	≤500
	FA271908	13 500 000	≤260	≤500	≤260
	FA272631	11 200 000	25 000	3200	≤400
	FA274124	9 600 000	≤50	≤260	≤260
Tipo 3	FA267098	9 300 000	≤256	≤500	≤500
	FA267099	11 000 000	≤260	≤510	≤510
	FA267770	10 100 000	≤260	≤510	≤510

La comparación de los datos se lleva a cabo en cada etapa de la elaboración: la cosecha cruda, suspensión purificada GM, suspensión purificada Sepharose y suspensión purificada PM:

- En la cosecha cruda no se pueden determinar límites para el contenido de ADN, ya que no existen datos históricos suficientes en esta etapa. Se lleva a cabo, por lo tanto, una comparación de la media. Las medias de los datos históricos y de uniformidad para el contenido de ADN en esta etapa no son estadísticamente diferentes con un intervalo de confianza del 1 %.
- En la etapa de suspensión purificada GM no se pueden determinar límites para el contenido de ADN ya que la distribución no es gaussiana en los datos históricos. Tampoco es posible una comparación de la media porque la distribución no es gaussiana en los lotes de uniformidad. En ese caso, tan solo se lleva a cabo una comparación de los datos: un 55,56 % de los datos históricos y todos los lotes de uniformidad son menores o iguales que 500 pg/mL. La eliminación de ADN en los lotes de uniformidad se considera, por lo tanto, equivalente a la obtenida en los lotes históricos, por lo que queda demostrada la eficiencia de esta eliminación.
- En la etapa de suspensión purificada Sepharose no se pueden determinar límites para el contenido de ADN ya que la distribución no es gaussiana en los datos históricos. Tampoco es posible una comparación de la media porque la distribución no es gaussiana en los lotes de uniformidad. En ese caso, tan solo se lleva a cabo una comparación de los datos: un 66,67% de los datos históricos y todos los lotes de uniformidad son menores o iguales que 510pg/mL.





La eliminación de ADN en los lotes de uniformidad se considera, por lo tanto, equivalente a la obtenida en los lotes históricos, por lo que queda demostrada la eficiencia de esta eliminación.

- En la suspensión purificada PM no se puede representar ningún límite para el contenido de ADN ya que la distribución no es gaussiana en los datos históricos. Tampoco es posible una comparación de la media porque la distribución no es gaussiana en los lotes de uniformidad. En ese caso, tan solo se lleva a cabo una comparación de los datos: un 88,89 % de los datos históricos y todos datos de los lotes de uniformidad son menores o iguales que 510 pg/mL. La eliminación de ADN en los lotes de uniformidad se considera, por lo tanto, equivalente a la obtenida en los lotes históricos, por lo que queda demostrada la eficiencia de esta eliminación.

2.2.5.3 Perfil electroforético SDS-PAGE

En la figura 1 a la figura 4 se muestran los perfiles electrolíticos SDS para los lotes de validación.

- Electroforesis SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio)

Se utilizó electroforesis SDS-PAGE durante la elaboración del monovalente tipo 1, 2 y 3 para verificar la equivalencia entre los productos intermedios de validación y los productos intermedios históricos utilizados como referencia. Las referencias de productos intermedios son lotes históricos y se presentan en la tabla 12.

Tabla 12: Referencias y lotes históricos correspondientes

Nombre de la referencia	Número de lote del producto intermedio
IPV9234 tipo 1 GM	FA211527 (GM)
IPV9250 tipo 2 GM	FA225735 (GM)
IPV9232 tipo 3 GM	FA210286 (GM)
IPV9234 tipo 1 Sepharose	FA211527 (Sepharose)
IPV9250 tipo 2 Sepharose	FA225735 (Sepharose)
IPV9232 tipo 3 Sepharose	FA210286 (Sepharose)
IPV9234 tipo 1 PM	FA211527 (PM)
IPV9250 tipo 2 PM	FA225735 (PM)
IPV9232 tipo 3 PM	FA210286 (PM)

Los perfiles de SDS-PAGE se presentan en las siguientes figuras.

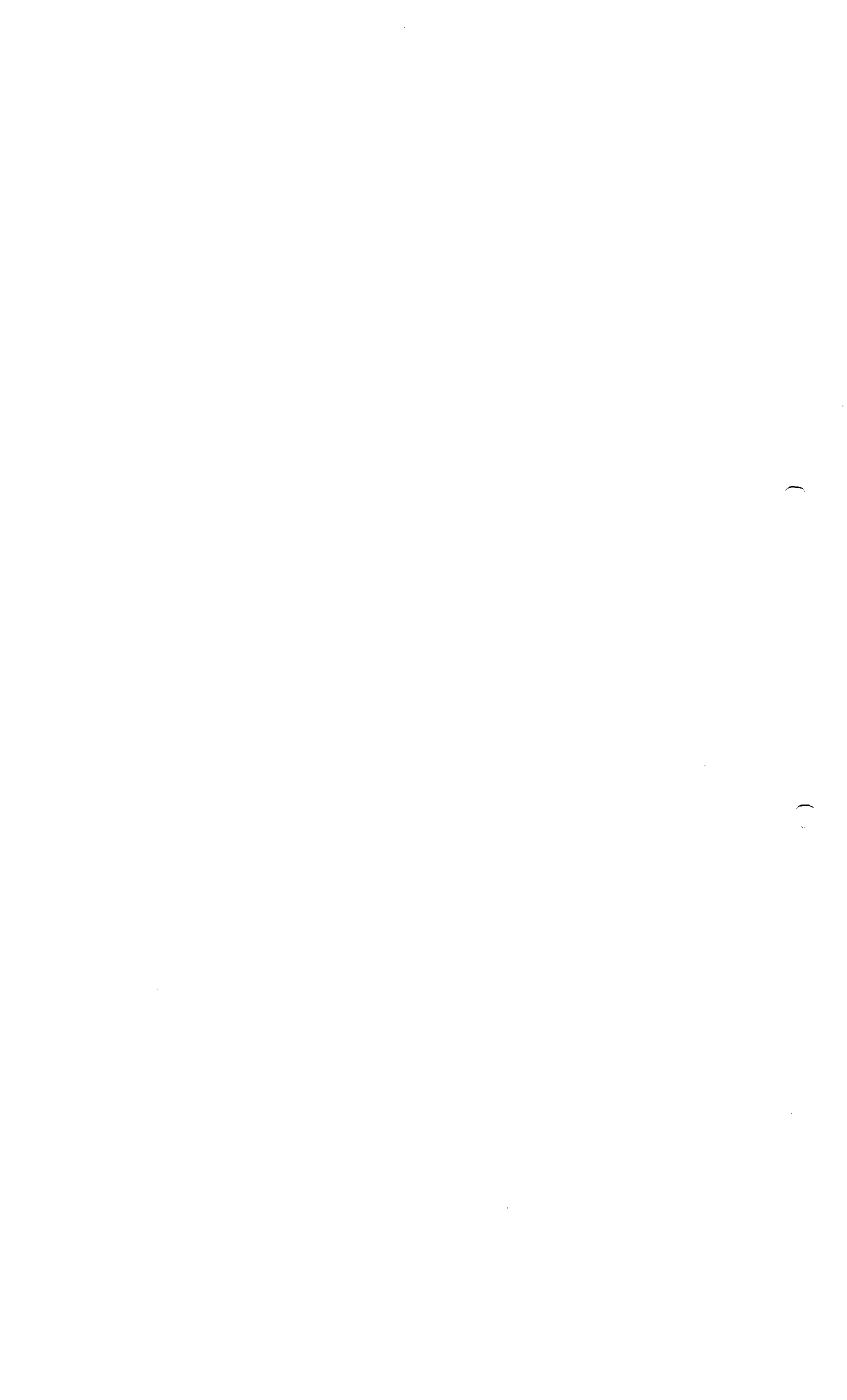
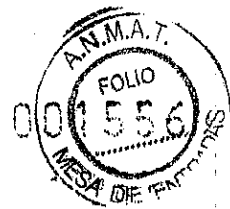


Figura 1: Perfil electroforético SDS para los lotes de elaboración del tipo 1



SDS-IPV, Instruction n° 114101/1,0

Gel Biorad 4% - 12% Conditions réductrices = Condiciones de reducción

Guillaume Bourgoïn le 07/08/2007

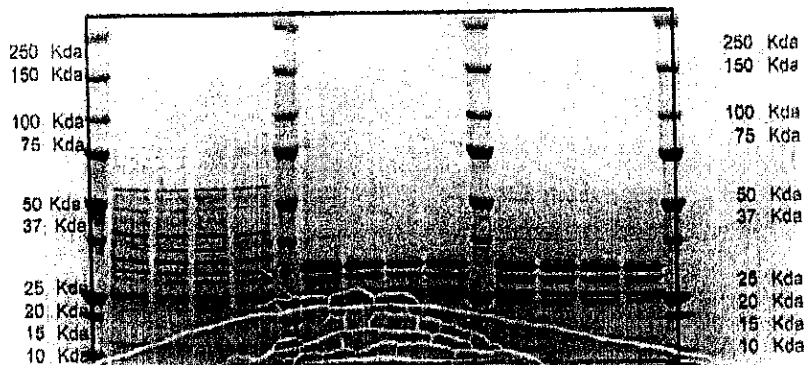
SDS-IPV07.006
IPV Type 1

gel 3.

G. BOURGOÏN
Cp.
08 JUN 2007

PPPS
FA 266559 GM
FA 265069 GM
FA 273636 GM
Ref IPV9234 Type 1 GM
PPPS
FA 266559 Sèpharose
FA 265069 Sèpharose
FA 273636 Sèpharose
Ref IPV9234 Type 1 Sèpharose
PPPS
FA 266559 PM
FA 265069 PM
FA 273636 PM
Ref IPV9234 Type 1 PM
PPPS

15 JUN 2007
NCR



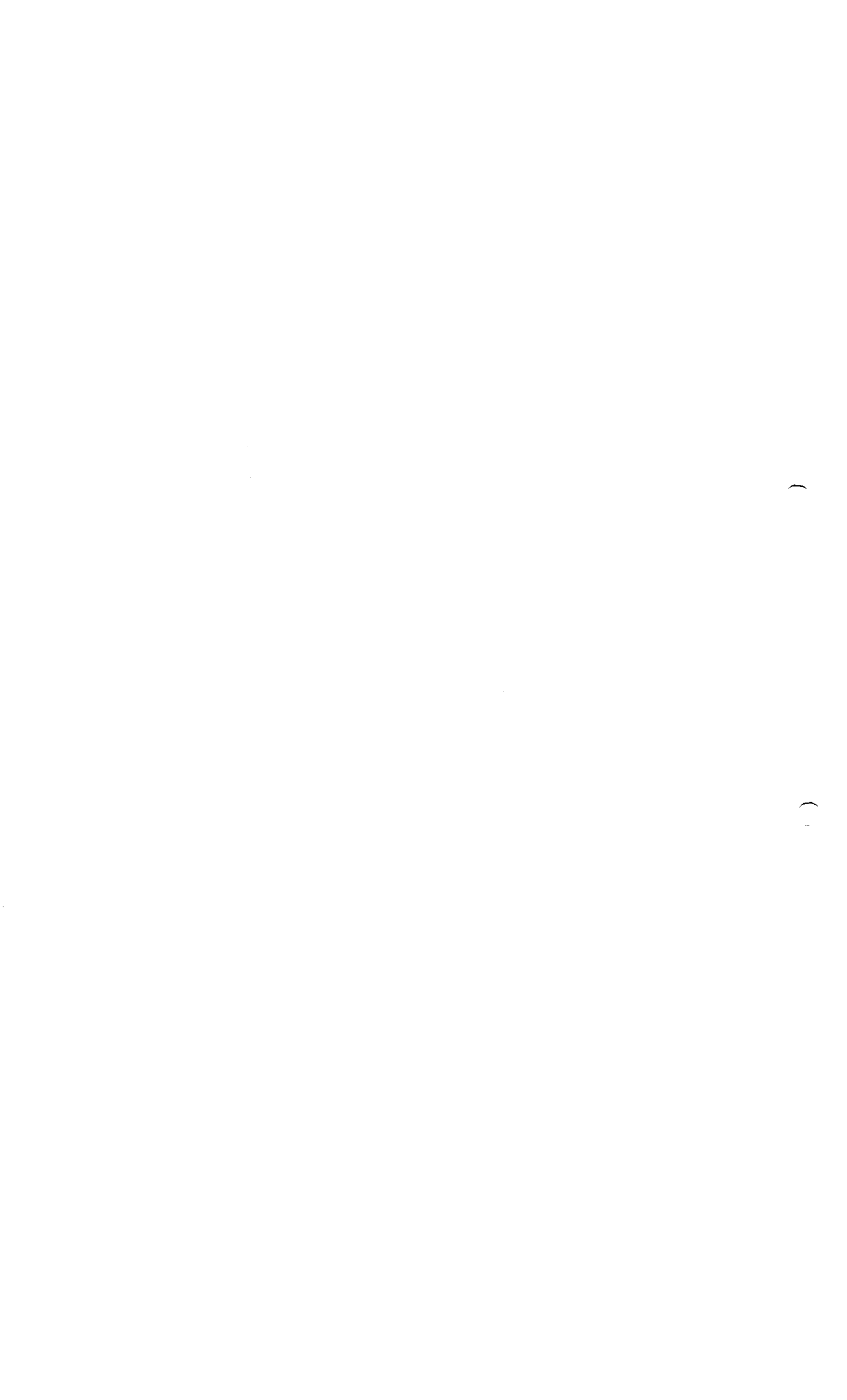




Figura 2: Perfil electroforético SDS para los lotes de elaboración del tipo 2

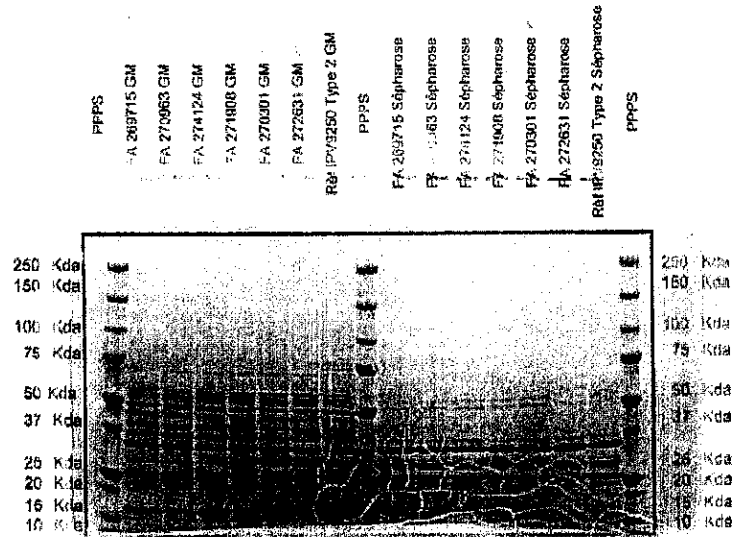
C. BOURGOUIN
CO.
08 JUN 2007

SDS-IPV, instrucción n° 114101/1,0

Gel Biorad 4% - 12% · Conditions réductrices = Condiciones de reducción

Guillaume Bourgoquin le 06/06/2007

SDS-IPV07.006
IPV Type 2



15 JUN 2007
n ur



Figura 3: Perfil electroforético SDS para los lotes de elaboración del tipo 2 (continuación)

SDS-IPV, Instruction n° 114101/1,0

Gel Biorad 4% - 12% Conditions réductrices = Condiciones de reducción

Guillaume Bourgoïn le 11/06/2007

SDS-IPV07.007
IPV Type 2

PPPS
FA 269715 PM
FA 270963 PM
FA 274124 PM
FA 271908 PM
FA 270301 PM
FA 272631 PM
FA IPV250 Type 2 PM
PPPS

G. BOURGOÏN
12 JUN 2007

NR
15 JUN 2007

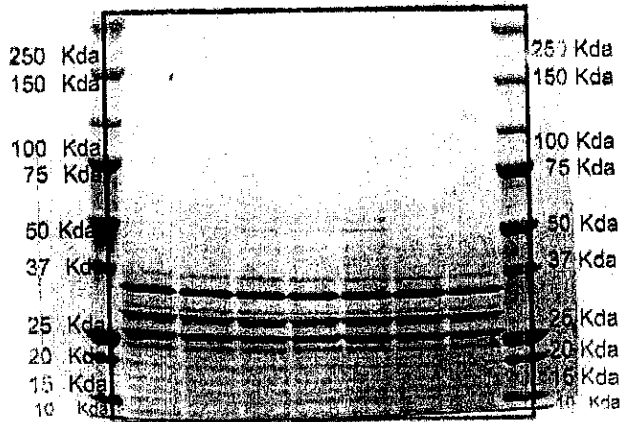






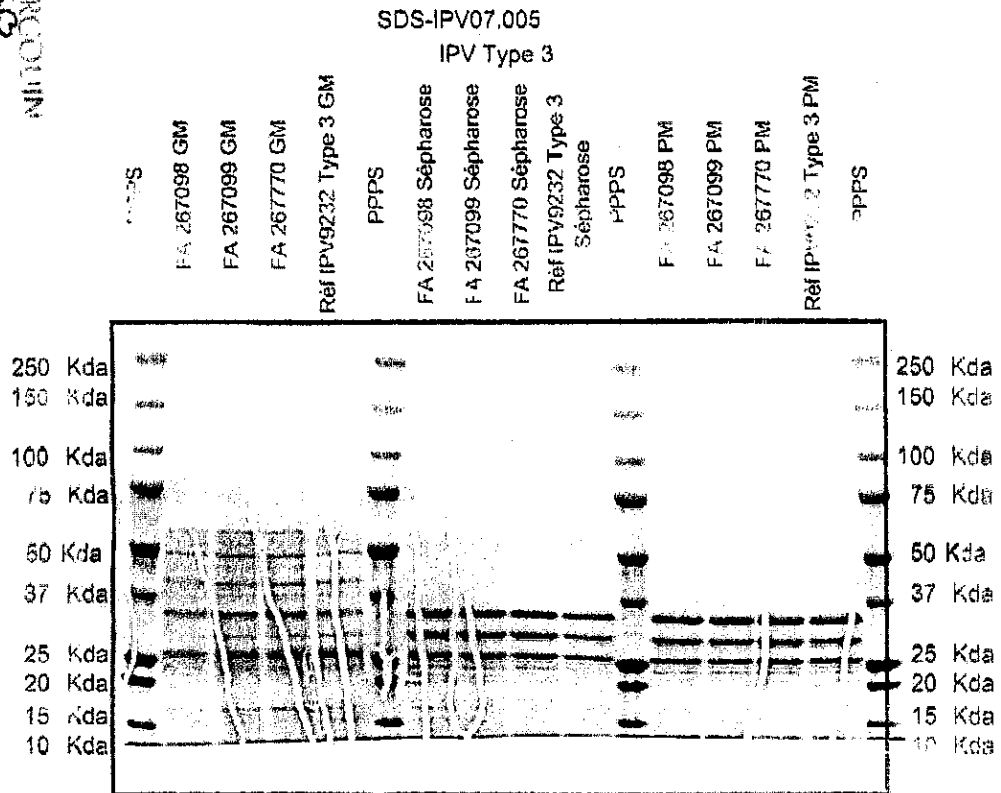
Figura 4: Perfil electroforético SDS para los lotes de elaboración del tipo 3

SDS-IPV, Instruction n° 114101/1,0

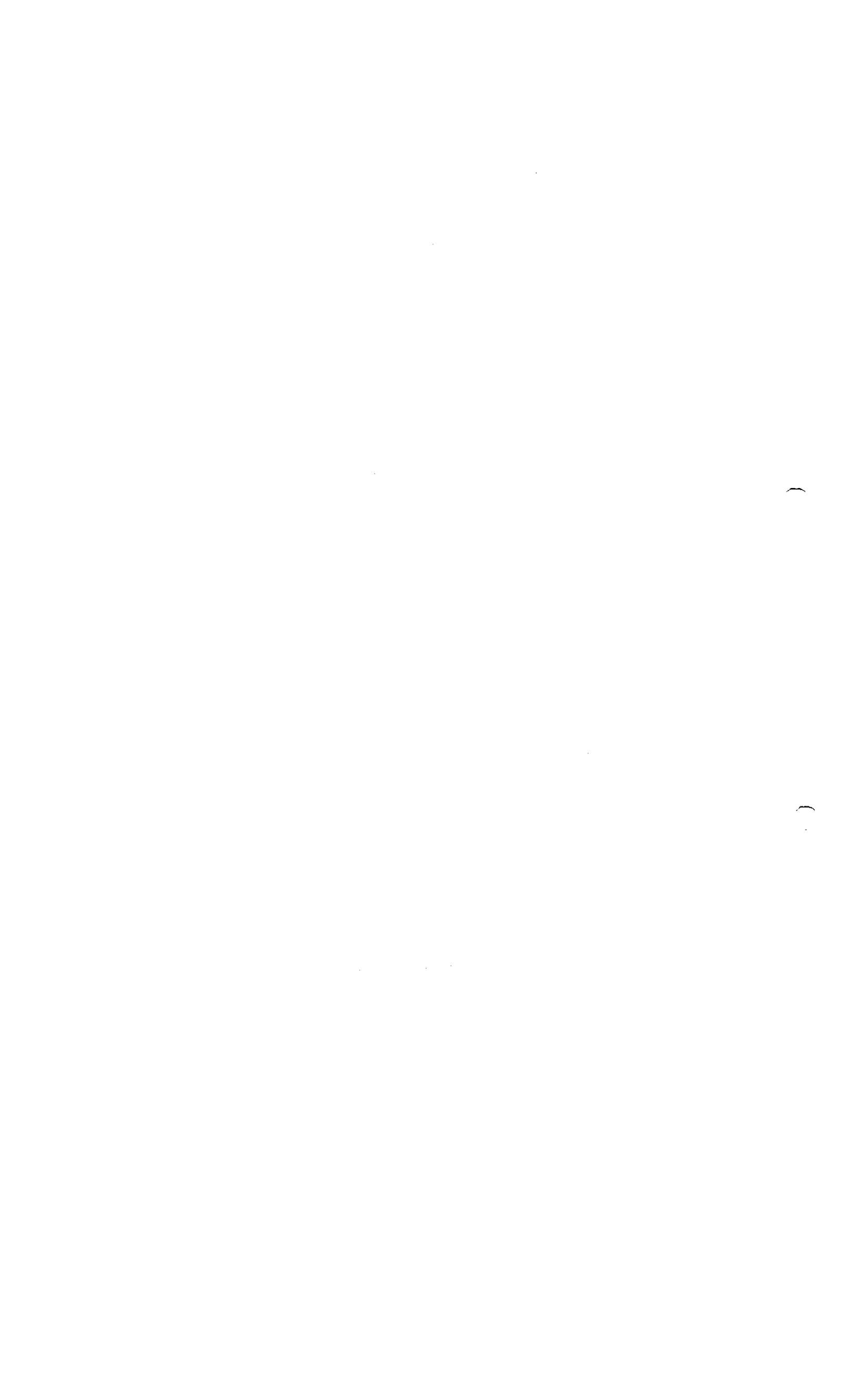
Gel Biorad 4% - 12% . Conditions réductrices = Condiciones de reducción

Guillaume Bourgoïn le 30/04/2007

G. BOURGOÏN
 GP
 02 MAI 2007



MCR





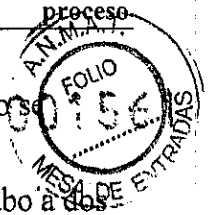
Los perfiles electrolíticos SDS (que muestran la evolución de los perfiles de proteínas durante la purificación) de los lotes de validación se han comparado con lotes elaborados históricos. No existen diferencias entre las referencias de lotes y los lotes de validación.

2.2.6 Discusión

Todos los valores de validación registrados para los parámetros de producción durante los pasos de purificación de la cosecha, desde el producto cosechado hasta la suspensión purificada PM (vea la tabla 6), cumplen con los rangos operativos definidos anteriormente con las siguientes excepciones.

- Desviación PR70146: durante la purificación en columna Sepharose, tres fracciones (fracción Sepharose V₀, fracción Sepharose viral, fracción de la banda Sepharose) se cosechan en tres recipientes específicos. Para el lote FA269715, no se ha recogido la fracción Sepharose V₀. Se ha recogido la fracción Sepharose viral en los recipientes correspondientes a las fracciones primera y segunda. Por último, estos dos primeros recipientes se han agrupado para obtener la fracción Sepharose viral completa. Se consideró que esta desviación carecía de impacto sobre la calidad del producto, como se demostró en los pasos siguientes del proceso de elaboración.
- Desviación PR75088: durante la cromatografía en Sepharose, la cosecha purificada de suspensión Sepharose se anticipó para los lote correspondientes: FA265069, FA266559, FA267770, FA270301, FA271908, FA274124, FA273636. En el perfil cromatográfico no hubo retornos al valor inicial al final de la curva del perfil. El riesgo principal es una eliminación incompleta de la proteína durante la cromatografía en Sepharose y una obstrucción de la columna. La pureza de los lotes y el perfil cromatográfico cumplen con las especificaciones. Los parámetros operativos y de producción para la limpieza también cumplen. Se consideró que esta desviación carecía de impacto sobre la calidad del producto, como se demostró en los pasos siguientes del proceso de elaboración.
- Desviación PR66933: durante la regeneración de cartuchos, el tiempo de contacto con hidróxido de sodio debe mantenerse entre 15 y 20 horas para el cartucho de 100 kDa y entre 15 y 19,7 horas para el cartucho de 10 kDa. Para los procesos de regeneración de los dos cartuchos de 100 kDa y 10 kDa (durante la elaboración de los lotes de validación FA266559, FA267098, FA267099 y FA267770), el tiempo de contacto no se mantuvo dentro de las tolerancias debido a la planificación de la validación de la limpieza. Como todas las mediciones (tiempo del proceso de concentración, prueba de integridad del cartucho) y los controles (rendimiento de antígeno D, contenido de proteínas en el lado del permeato) realizados en el siguiente lote de producción cumplieron los criterios de aceptación, se consideró que esta desviación carecía de impacto sobre la calidad del producto, como se demostró en los pasos siguientes del proceso de elaboración.
- Desviación PR75166: durante la cromatografía en Sepharose, el volumen de virus purificado en columnas de Sepharose debe controlarse entre 6,5 L y 8,5 L. Durante la elaboración del lote FA273636, el volumen de virus obtenido fue de 8,6 L. El riesgo principal es eluir, en la fracción viral, impurezas habitualmente recuperadas en la columna de Sepharose. El perfil cromatográfico PM, el contenido de proteínas de la suspensión purificada Sepharose y la suspensión viral purificada y concentrada cumplen con las especificaciones; se consideró que





esta desviación carecía de impacto sobre la calidad o la seguridad del producto, como se demostró en los pasos siguientes del proceso de elaboración.

- Desviación PR95983: durante la cromatografía en Sepharose, la elución se lleva a cabo a dos caudales, esto es, a $0,40 \pm 0,04$ L/h para caudal de baja velocidad y a $1,80 \pm 0,20$ L/h para caudal de alta velocidad. Durante la elaboración del lote FA270963 se registró una parada de los caudales de elución durante más de una hora (a saber, 1 h 38 min) y durante la elaboración del lote FA274124 se registró una parada de tres minutos para el caudal de baja velocidad y una parada de 1 h 01 min. para el caudal de alta velocidad. El origen de esta desviación está relacionado con el sistema de comando de control; por tanto, se llevó a cabo un cambio del sistema de comando de control. Se consideró que la conformidad de los cromatogramas, el volumen de las diferentes fracciones y la pureza carecían de impacto sobre la seguridad del producto.
- Desviación PR90072: durante el proceso de inactivación se añade medio de inactivación a la suspensión PM según la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen de medio inactivado} \pm 0,1 \text{ kg} = \text{volumen de la suspensión PM} \times 9/11$$

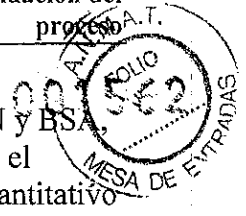
Durante la elaboración del lote FA269715, el volumen de suspensión PM utilizado para este cálculo es de 11 L en lugar de 11,2 L así que el medio de inactivación añadido son 9 L en lugar de 9,16 L (tolerancia 9,06 L a 9,26 L). Así, en el paso de suspensión viral purificada y concentrada y en el paso de suspensión viral purificada y diluida, la falta de medio de inactivación es igual al 0,80 % y al 0,15 %, respectivamente. Esta desviación carece de impacto sobre la calidad del producto basándose en la inactivación cinética y no se observa ningún efecto de esta desviación en el paso de inactivación. Se consideró que esta desviación carecía de impacto sobre la calidad del producto.

- Desviación PR68620: durante la cromatografía PM, el volumen estándar de suspensión purificada PM es de unos 11 L. Se añaden 9 L de medio de inactivación a la suspensión PM y se filtran a $0,2 \mu\text{m}$ para obtener la suspensión viral purificada y concentrada. Durante la elaboración del lote FA267099, el volumen de suspensión PM cosechado es de unos 13,3 L en lugar de 11 L (por problemas de las balanzas). El volumen de medio de inactivación añadido a la suspensión PM es de 9,2 L (de forma que no se obtiene la proporción exacta entre suspensión PM y medio de inactivación); esta suspensión se filtra. Por tanto, se añade el volumen faltante de medio de inactivación (1,6 L); la suspensión se filtra de nuevo. El rendimiento de antígeno D, el contenido de proteínas y la pureza cumplen los criterios de aceptación. Se consideró que esta desviación carecía de impacto sobre la calidad del producto.

Se ha definido que todas las desviaciones de los rangos operativos de los parámetros de producción carecían de consecuencias sobre el control del proceso y por tanto ha quedado demostrado el control del proceso de elaboración.

Todos los resultados de control de calidad para la purificación de la cosecha cruda cumplen los criterios de aceptación (vea la tabla 7).

Se ha demostrado también la reproducibilidad del proceso mediante la producción de 3 ó 6 lotes consecutivos de suspensiones virales purificadas y concentradas para cada serotipo (3 para los tipos 1 y 3; 6 para el tipo 2) que se ajustan a los intervalos operativos o a los criterios de aceptación para el control de los parámetros de producción y a los IPC.



Se han llevado a cabo algunas pruebas de caracterización adicionales (contenido de ADN y BSA, perfil electroforético SDS) en los lotes de uniformidad. El método utilizado para analizar el contenido de ADN en diferentes etapas del proceso de purificación es un método semicuantitativo con adición de referencia a la muestra y diluciones que explica la expresión de los resultados.

Para el lote FA272631, el contenido de ADN es más elevado en las etapas de suspensión purificada GM y suspensión purificada Sepharose que para los demás lotes. Estos contenidos eran predecibles basándose en el análisis del perfil cromatográfico GM. Según el procedimiento interno, la columna se cambió inmediatamente antes de la elaboración de este lote. En la siguiente etapa (etapa de suspensión purificada PM), el contenido de ADN para este lote es comparable con los resultados obtenidos para los demás lotes.

El contenido de ADN y BSA mostró el mismo perfil de eliminación entre los lotes históricos y de uniformidad (vea la tabla 8, la tabla 9 y la tabla 10, la tabla 11).

Estos resultados confirman la eficiencia de las diferentes etapas de purificación (vea al capítulo 2.2.1).

2.2.7 Conclusión

Todos los valores registrados para los parámetros de producción durante los pasos de purificación del programa de validación se ajustan a los intervalos operativos, excepto ciertas desviaciones que se consideró que no tenían impacto sobre la calidad del producto.

Todos los controles durante el proceso cumplen también los criterios de aceptación, excepto ciertas desviaciones que se consideró que no tenían impacto sobre la calidad del producto.

El monitoreo de los parámetros de producción cumple con los rangos operativos.

Todos los resultados de control de calidad medidos durante los pasos de purificación cumplen las especificaciones de liberación.

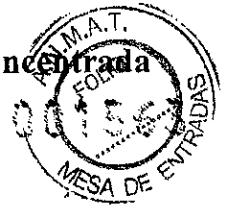
El proceso de producción está bajo control: el proceso ha sido controlado para que cumpla con los rangos operativos de control de los parámetros de producción. Se han observado algunas desviaciones de los parámetros de producción e IPC, controladas mediante investigaciones que demostraron que la calidad del producto es uniforme.

El proceso de producción es reproducible: se han producido 12 lotes consecutivos de la suspensión viral purificada y concentrada (para obtener 3 monovalentes consecutivos para cada serotipo) de conformidad con el control del proceso.

En conclusión, el proceso de elaboración desde la cosecha única hasta la suspensión viral purificada y concentrada queda validado, desde el cultivo celular hasta el final del paso de purificación.



2.3 Validación de la inactivación de la suspensión viral purificada y concentrada



2.3.1 Introducción

Para la validación de los pasos de inactivación, se produjeron tres lotes monovalentes consecutivos de cada serotipo, vea la tabla 3, de conformidad con el proceso de elaboración descrito en la sección 3.2.S.2.2 Reacciones de purificación y modificación, llenado, almacenamiento y transporte.

2.3.2 Parámetros de producción

Se registraron los parámetros de producción rutinarios para el seguimiento de cada paso del proceso de elaboración durante la inactivación. Se siguieron también parámetros de producción adicionales considerados importantes para respaldar el proceso de validación.

Los resultados se presentan en la tabla 13.

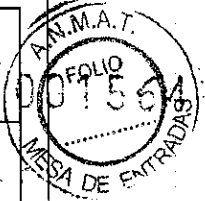
Todas las desviaciones de los parámetros de producción con respecto a los rangos operativos se explican en el capítulo 2.3.5.



Tabla 13: Parámetros de producción registrados durante el proceso de inactivación

Etapas de elaboración	Parámetros de producción	Parámetros de producción rutinarios	Parámetros de producción adicionales	Rangos operativos	TIPO 1			TIPO 2			TIPO 3			
					FA271471	FA272625	FA278912	FA277041	FA277660	FA278342	FA273635	FA274095	FA274104	
DILUCIÓN DE LA SUSPENSIÓN CONCENTRADA	pH de la suspensión concentrada		X	[6,76 - 7,19]	7,05	7,08	7,02	FA269715: 6,98 FA270301: 7,05	FA270963 : 6,99 FA271908 : 7,14	FA272631: 7,03 FA274124: 7,08	7,08	7,00	7,08	
	Volumen de medio de inactivación para la dilución de la suspensión concentrada *	X		Para 0 kg < m ≤ 50 kg: vol ± 0,1 kg. Para 50 kg < m ≤ 200 kg: vol ± 0,2 kg. Para 200 kg < m ≤ 600 kg: vol ± 0,3 kg.	Vol = 70 L ΔT = 0,0 L	Vol = 100 L Δ = 0,0 L	Vol = 79,9 L Δ = 0,1 L PR88945	Vol = 79,9 L Δ = 0,1 L	Vol = 80,0 L Δ = 0,0 L PR88945	Vol = 54,9 L Δ = 0,1 L PR88945	Vol = 80 L Δ = 0,1 L	Vol = 87,5 L Δ = 0,1 L	Vol = 90 L Δ = 0,1 L	
INACTIVACIÓN	Temperatura del medio de inactivación †		X	Para información (aprox. +37 °C).	CS									
	pH del medio de inactivación		X	[6,93 - 7,22]	7,01	7,03	7,12	6,98	7,08	6,99	6,98	6,93	7,04	
	pH de la suspensión purificada diluida		X	[6,86 - 7,21]	7,05	7,08	7,07	7,02	7,04	7,08	7,05	6,97	7,09	
	Volumen de solución primaria de formaldehído para dilución 1/10 en formaldehído		X	Para información.	25	35	30	30	35	30	30	30	30	
	Volumen de medio de inactivación para dilución 1/10 en formaldehído		X	Para información.	225	315	270	270	265	270	270	270	270	
	Volumen de formaldehído 1/10 para preparación de formaldehído 1/200		X	Para información.	237	316	263	289	316	250	263	289	289	
Volumen de medio de inactivación para dilución 1/200 en formaldehído		X	Para 0 kg < m ≤ 10 kg: vol ± 0,02 kg. Para 10 kg < m ≤ 40 kg: vol ± 0,04 kg.	Vol = 4,52 L Δ = 0,2 L	Vol = 6,0 L Δ = 0,00 L	Vol = 5,26 L Δ = 0,00 L	Vol = 5,50 L Δ = 0,00 L	Vol = 6,00 L Δ = 0,00 L	Vol = 4,75 L Δ = 0,00 L	Vol = 5,0 L Δ = 0,00 L	Vol = 5,50 L Δ = 0,00 L	Vol = 5,50 L Δ = 0,00 L		

ROXANA MONTEMILONE DIRECTORA TÉCNICA SANOFI PASTEUR S.A.
CHRISTIAN DOMÍNGUEZ GERENTE SANOFI PASTEUR S.A.





Etapas de elaboración	Parámetros de producción	Parámetros de producción rutinarios	Parámetros de producción adicionales	Rangos operativos	TIPO 1			TIPO 2			TIPO 3			
					FA271471	FA272625	FA278912	FA277041	FA277660	FA278342	FA273635	FA274095	FA274104	
	Temperatura de inactivación desde el día 0 hasta el día 6†	X		{+36,5°C - +37,5°C}	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
	Velocidad de agitación durante la inactivación desde el día 0 hasta el día 6†		X	[41 rpm - 53 rpm]	C	C	NC** PR77923	C	NC PR76746	C	C	C	NC PR73118	C
	Temperatura de inactivación desde el día 6 hasta el día 12†	X		{+36,5°C - +37,5°C}	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
	Velocidad de agitación durante la inactivación desde el día 6 hasta el día 12†		X	[41 rpm - 53 rpm]	C	C	NC PR79115	C	C	C	C	C	C	C
	Tiempo total de inactivación (horas)	X		≥284 h	288,68	289,05	286,72	288,77	287,28	286,75	290,38	286,65	288,08	
	pH de la suspensión viral purificada y diluida de los tipos 1, 2 y 3 tras la inactivación y el ajuste	X		[6,95 - 7,25]	7,04	7,04	7,03	7,16	7,22	7,21	7,19	7,16	7,17	

* La cantidad de medio de inactivación se determina en unidades de volumen pero se mide en cantidad de peso durante la elaboración.

† Δ es la diferencia entre el volumen teórico y el volumen real.

‡ Este parámetro se controla durante los pasos del proceso y su conformidad con el intervalo definido se documenta como "C" por "Cumple".

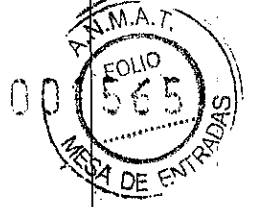
C: cumple

NC: no cumple.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

RA_0302316







2.3.3 Controles durante el proceso

Se llevaron a cabo controles durante el proceso y los resultados para el proceso de inactivación se presentan en la tabla 14.

Todos los resultados cumplen con los criterios de aceptación definidos.


2.3.4 Pruebas de control de calidad

Se han controlado los 9 lotes de monovalente producidos durante la validación.

Los resultados de liberación para el proceso de inactivación se presentan en la tabla 14.

Todos los resultados cumplieron las especificaciones de las pruebas de control de calidad durante la inactivación.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
GERENTE
SANOFI PASTEUR S.A.

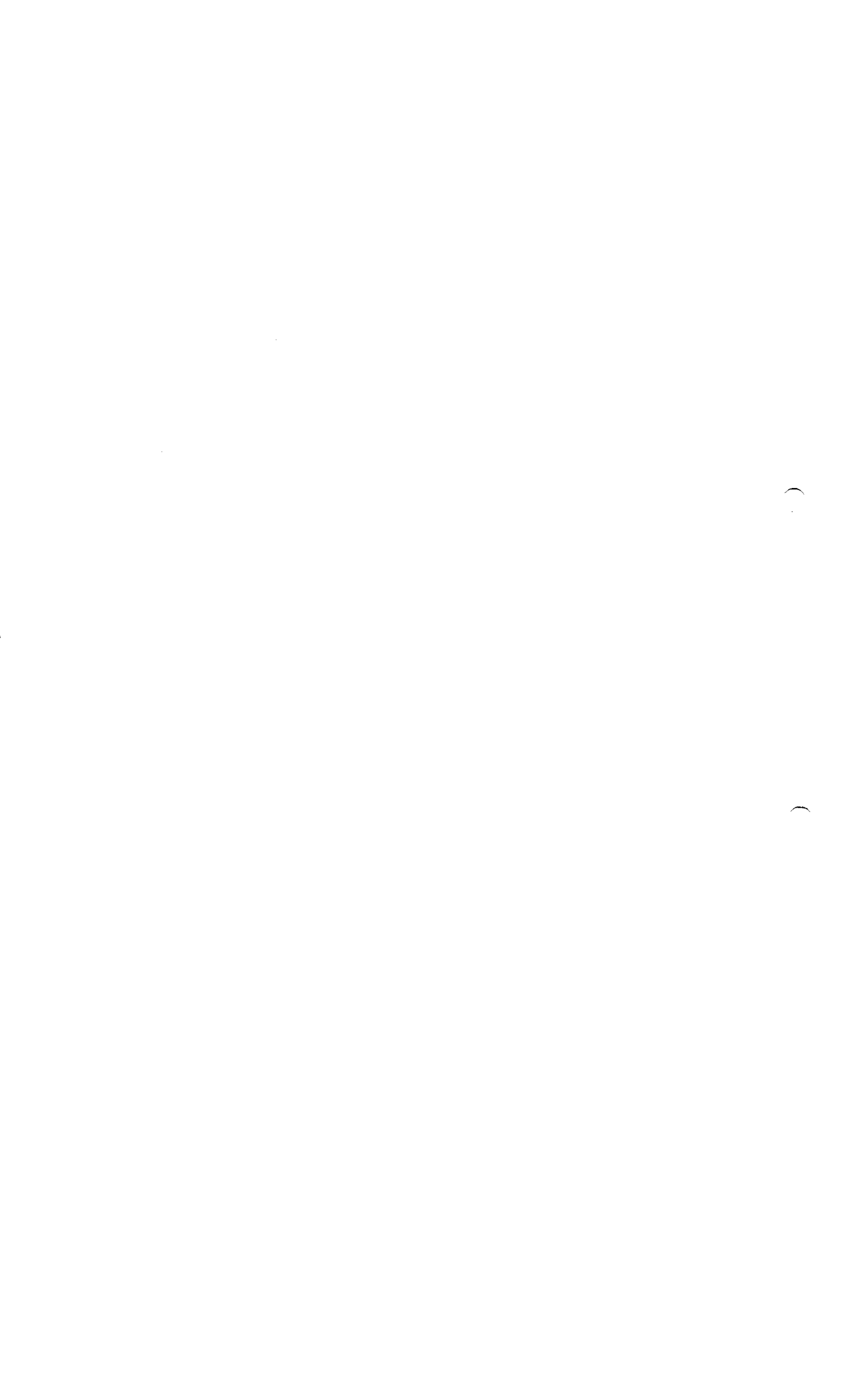


Tabla 14: Resultados de control (control de calidad e IPC) para el proceso de inactivación

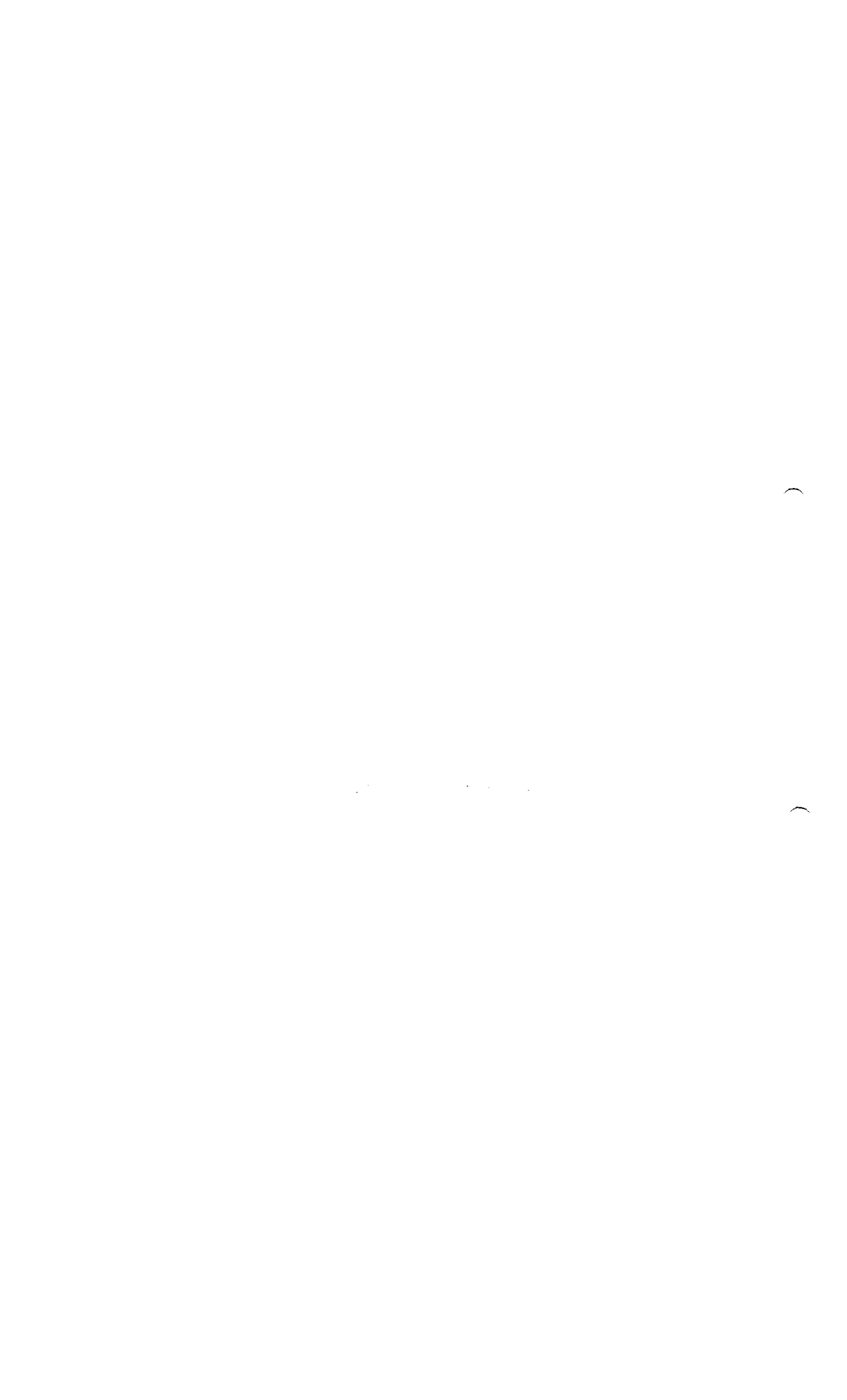
Etapas de elaboración	Pruebas	Prueba de CC	IPC	Criterios de aceptación	TIPO 1			TIPO 2			TIPO 3				
					FA271471	FA272625	FA278912	FA277041	FA277660	FA278342	FA273635	FA274095	FA274104		
INACTIVACIÓN	SUSPENSIÓN VIRAL CON FORMALDEHIDO	X	X	Tipo 1: -0,1187 a -0,1738 Tipo 2: -0,0955 a -0,1890 Tipo 3: -0,1090 a -0,1933	-0,1552	-0,1583	-0,1521	-0,1354	-0,1563	-0,1604	-0,1521	-0,1646	-0,1448		
				Control de inactivación el día 9	C*	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
				Contenido de antígeno D por el método sigmoidico el día 9 Para el cálculo del índice (UID/mL).	1566	1591	1952	810	906	950	1277	1217	1210		
	MONOVALENTE	Prueba adicional.	Prueba adicional.	≤10 UFC/10 mL.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				Control de inactivación el día 12	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
				Contenido de antígeno D por el método sigmoidico (día 12) Para los cálculos de pureza.	1150	1458	1671	812	887	970	1147	1057	1095		
	MONOVALENTE	Prueba adicional.	Prueba adicional.	No se aplica.	15 591,01	17 249,26	20 961	33 910	33 240	33 640	19 227,54	18 255,29	17 993,53		
				Control de inactivación el día 12	13,557	11,831	12,544	41,755	37,479	36,746	16,763	17,271	16,432		
				Pureza (día 12)	73	92	86	100	98	102	90	87	90		
				Rendimiento de antígeno D entre el día 0 y el día 12	69 - 108 %										
				Osmolalidad (día 12)	381	389	381	382	386	386	388	388	385		
				Formaldehído residual (día 12)	85,92	87,46	87,36	84,23	86,78	87,79	83,47	86,23	84,94		
MONOVALENTE	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica (día 12)	X	≤25 ng/mL.	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9	<3,9			
			No se observa crecimiento microbiano.	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C		
			Contenido de endotoxinas (día 12)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		

C: Cumple

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
ENCARGADO
SANOFI PASTEUR S.A.







2.3.5 Discusión

Todos los valores de validación registrados para los parámetros de producción durante el proceso de inactivación (vea la tabla 13) cumplen con los rangos operativos definidos anteriormente con las siguientes excepciones:

- Desviación PR73118: durante la elaboración del lote FA294095, la agitación se ha detenido durante una hora el día 4 por un problema de voltaje.
- Desviación PR76746: durante la elaboración del lote FA277660, la agitación se ha detenido durante 15 minutos el día 6 por un problema de voltaje.
- Desviación PR77923: durante la elaboración del lote FA278912, la agitación se ha detenido durante 4 minutos el día 1 por un problema de voltaje.
- Desviación PR79115: durante la elaboración del lote FA278912, la agitación se ha detenido durante una hora y 10 minutos el día 7 por un problema de voltaje.

Para todos estos incumplimientos, el riesgo principal es una homogeneización incorrecta durante la inactivación. Un estudio de la detención de la agitación después de la homogeneización de formaldehído/producto durante la cinética de inactivación muestra que la inactivación puede progresar sin impacto alguno sobre la calidad del producto cuando se produce una detención de la agitación. Además, todos los resultados de cinética de inactivación y los controles de inactivación cumplen las tolerancias definidas. Se consideró que estas desviaciones no tenían de impacto sobre la calidad del producto, como se demostró con los resultados obtenidos en los pasos siguientes del proceso de elaboración.

- Desviación PR88945: el primer paso de la inactivación es diluir la suspensión viral purificada y concentrada con medio de inactivación. El volumen del medio de inactivación se calcula basándose en el volumen de la suspensión viral purificada y concentrada. Durante la elaboración de los lotes FA277660, FA278342 y FA278912, se produjo un error en la evaluación del volumen de suspensión viral purificada y concentrada utilizada para la dilución de la suspensión con medio de inactivación. Se han realizado nuevos cálculos basados en volúmenes reales para evaluar el impacto sobre la calidad de producto:
 - El contenido teórico de antígeno D sigue estando dentro de las especificaciones.
 - La concentración de formaldehído debe ser de 1/4000. Un estudio histórico de robustez ha demostrado que la concentración calculada real no afecta a la cinética de inactivación. Además, todos los controles (cinética y contenido de formaldehído) cumplen los criterios de aceptación.

Se consideró que esta desviación no tenía impacto sobre la calidad del producto.

Se ha considerado que todas las desviaciones de los rangos operativos del control de los parámetros de producción no tenían consecuencias sobre el control del proceso y por lo tanto ha quedado demostrado el control del proceso de elaboración.

Todos los resultados de control de calidad durante el proceso de inactivación cumplen las especificaciones de aprobación (vea la tabla 14).

