

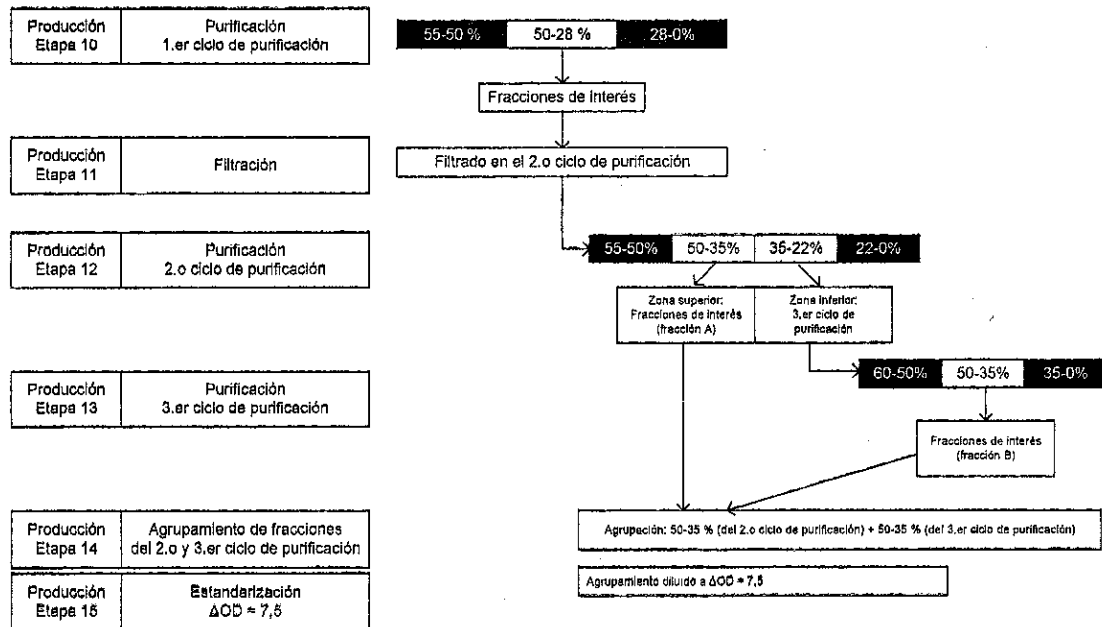


## 2 Descripción de las etapas de elaboración

### 2.1 Purificación

El diagrama de flujo detallado del proceso de purificación en gradientes de sacarosa se presenta en la Figura 2

Figura 2: Diagrama de flujo detallado de la purificación en gradientes de sacarosa



#### 2.1.1 Paso de purificación 1

Un panorama del proceso de purificación se presenta en la Figura 2.

Etapa 10: Cada fracción de la cosecha monovalente concentrada, que contiene el equivalente de  $35\ 000 \pm 5\ 000$  huevos, se purifica mediante ultracentrifugación isopícnica en un gradiente de sacarosa. Este gradiente se obtiene introduciendo sucesivamente las siguientes soluciones en el rotor de la centrifuga:

- una solución tamponada de citrato (0,125 M);
- Una solución de sacarosa al  $55\% \pm 0,5\%$  (peso/peso).

Estas dos soluciones se centrifugan mediante aceleración centrífuga, la cual da origen a un gradiente de sacarosa continuo que va del 55 % al 0 % (p/p). Cuando la fuerza supera las 90.000 g, la cosecha concentrada se introduce en el rotor de la centrifuga. Las moléculas pequeñas fluyen a través del rotor sin penetrar el gradiente de sacarosa, mientras que las moléculas más grandes ingresan en el gradiente a mayor o menor profundidad, según su tamaño y

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S.A.





densidad. Cuando termina el centrifugado, se recoge el contenido de la centrifuga de rotor. La concentración de sacarosa de cada fracción se evalúa mediante refractometría.

Las fracciones del 50 % al 28 % de sacarosa contienen la mayor parte de los virus; éstas se recolectan y se agrupan (vea la sección 3.2.S.2.5 Validación y/o evaluación del proceso).

Etapa 11: Las suspensiones virales obtenidas del paso anterior se agrupan para obtener el equivalente de 90 000 hasta 160 000 huevos para la etapa 12 que se describe a continuación. La suspensión viral obtenida se filtra a través de membranas de tamaño de poro decreciente, desde 1,2  $\mu\text{m}$  hasta 0,45  $\mu\text{m}$ , y luego se diluye en solución salina tamponada con fosfato (PBS) antes del segundo paso de purificación. Los filtros se tratan antes de su uso con una solución PBS con polisorbato 80 para mojar las membranas y facilitar el paso de filtración. La solución PBS con polisorbato 80 se elimina antes de filtrar la suspensión viral.

Se puede aplicar un tiempo de retención máximo de 84 horas a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  después de la filtración.

### 2.1.2 Paso de purificación 2

Etapa 12: Cada fracción, que contiene el equivalente de 90 000 hasta 160 000 huevos, se centrifuga nuevamente por ultracentrifugación isopícnica en un gradiente de sacarosa, en las mismas condiciones de preparación de la primera etapa de purificación. Se recolectan las fracciones que contienen del 50 % al 35 % de sacarosa (fracción A, que corresponde a las fracciones que contienen la mayor parte de la actividad viral). Las fracciones que contienen del 35 % al 22 % de sacarosa también se recolectan y se agrupan para una nueva purificación en un tercer gradiente de sacarosa.

### 2.1.3 Paso de purificación 3

Etapa 13: Después de la adición de PBS, se lleva a cabo una última etapa de purificación con la agrupación de las fracciones recolectadas de la segunda etapa de ultracentrifugación isopícnica, las cuales contienen del 35 % al 22 % de sacarosa. Se procesan mediante una tercera y última ultracentrifugación isopícnica a alrededor de 58 000 g en un gradiente de sacarosa que va del 60 % al 0 % (p/p). El gradiente de sacarosa se prepara utilizando soluciones de sacarosa al  $34\% \pm 0,5\%$  (p/p) y al  $60\% \pm 0,5\%$  (p/p).

Después de una centrifugación estable de al menos 3 horas, se cosechan las fracciones de sacarosa. El contenido de sacarosa de las fracciones se evalúa mediante refractometría. Las fracciones que contienen del 50 % al 35 % de sacarosa se cosechan y se agrupan (fracción B).

Etapa 14: La fracción B se agrupa con la fracción A para constituir la agrupación viral purificada.

Se puede aplicar un tiempo de retención máximo de 36 horas a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  en la etapa de agrupación viral purificada.

### 2.1.4 Parámetros críticos del proceso de los pasos del proceso de purificación

Los parámetros críticos del proceso (CPP) se han definido después del análisis de criticidad del proceso (PCA) para controlar los pasos del proceso de purificación. Estos parámetros se describen en la Tabla 1.





Tabla 1: CPP durante los pasos de purificación

Etapa del proceso de elaboración	Parámetros críticos del proceso (CPP)	Rango de operación/criterio de aceptación
Paso 10: primera etapa de purificación mediante ultracentrifugación isopícnica	Fuerza centrífuga	Aproximadamente 90 000 g
	Carga del producto (criterio de equivalencia en huevos para cada fracción)	35 000 ± 5000 huevos
	Fracciones de interés	50 %-28 % de sacarosa
Paso 12: segunda etapa de purificación mediante ultracentrifugación isopícnica	Carga del producto (criterio de equivalencia en huevos para cada fracción)	90 000-160 000 huevos
	Fuerza centrífuga	Aproximadamente 90 000 g
	Fracciones de interés (parte superior del gradiente)	50 %-35 % de sacarosa
	Fracciones de interés (parte inferior del gradiente)	35%-22 % de sacarosa
Paso 13: tercera etapa de purificación mediante ultracentrifugación isopícnica	Fuerza centrífuga	Aproximadamente 58 800 g
	Duración de la centrifugación	≥3 h
	Fracciones de interés	50%-35 % de sacarosa

## 2.2 Fraccionamiento

Etapa 15: El contenido proteico de la agrupación viral purificada se reduce y estandariza mediante una dilución apropiada en solución PBS hasta aproximadamente la diferencia de la densidad óptica medida, respectivamente, a 280 nm (absorción de proteínas y absorción debida a la opalescencia de la suspensión viral) y a 320 nm (absorción debida a la opalescencia de la suspensión viral):  $\Delta DO = DO_{280 \text{ nm}} - DO_{320 \text{ nm}} = 7,5 \pm 0,5$  (DO: densidad óptica).

Etapa 16: Se agrega solución de octoxinol 9 (el agente de fraccionamiento) para obtener una concentración final de 0,5 % ± 0,05 % v/v. El contacto es de al menos 1 hora con una velocidad de agitación de 300 a 330 rpm para un volumen igual o menor que 25 L o de 400 a 440 rpm para un volumen de más de 25 L. La etapa de fraccionamiento se realiza a 22 °C ± 3 °C. La suspensión viral fraccionada se añade a la centrífuga a una velocidad objetivo de 200 ± 10 mL/min y se clarifica mediante centrifugación a alrededor de 32 000 g. Cuando termina la centrifugación, se asegura la máxima recolección de suspensión viral mediante la introducción de una solución de sacarosa al 60 % ± 0,5% en el rotor.

Etapa 17: Un volumen de la suspensión viral fraccionada se diafiltra frente a 10 ± 2 volúmenes de solución salina tamponada con fosfato (PBS), utilizando una membrana con un corte de peso molecular de 50 kDa, a fin de eliminar el octoxinol 9. Al final de la etapa, la suspensión viral fraccionada se concentra con un factor de entre 1 y 2.

Los CPP se han definido después de un PCA para controlar los pasos del proceso de fraccionamiento. Estos parámetros se describen en la Tabla 2.





Tabla 2: CPP durante los pasos de fraccionamiento

Etapa del proceso de elaboración	Parámetros críticos del proceso (CPP)	Rango de operación/criterio de aceptación
Paso 15: Dilución para $\Delta DO \approx 7,5 \pm 0,5$	Longitudes de onda de las mediciones del $\Delta DO$	280-320 nm
	$\Delta DO$ de la suspensión viral	$7,5 \pm 0,5$ (unidades de absorbancia)
Paso 16: Fraccionamiento con octoxinol 9 y centrifugación	Proporción de octoxinol 9	$0,5 \% \pm 0,05 \% (v/v)$
	Velocidad de homogeneización después de añadir el octoxinol 9	300-330 rpm ( $V \leq 25$ L) 400-440 rpm ( $V > 25$ L)
	Duración de la homogeneización después de añadir el octoxinol 9	$\geq 1$ h
	Temperatura de la suspensión viral durante el fraccionamiento	$22 \pm 3$ °C
	Flujo de alimentación de la centrifugación	$200 \pm 10$ mL/min
	Fuerza centrífuga	Aproximadamente 32 000 g
Paso 17: Diafiltración	Volumen de diafiltración	$10 \pm 2$ volúmenes de PBS para 1 volumen de suspensión viral
	Valor de corte de la membrana	50 kDa
	Factor de concentración	$1 \leq Fc \leq 2$

### 2.3 Inactivación

Etapa 18: El contenido proteico se reduce y estandariza mediante dilución en solución PBS y luego se pasa a través de un filtro con una doble porosidad de  $0,65 \mu m$  y de  $0,45 \mu m$ . La solución se homogeneiza durante al menos 15 minutos a una velocidad de agitación que permita tener un número de Reynolds no inferior a 10 000. Tras la homogeneización, la diferencia de densidad óptica determinada a 280 nm y a 320 nm, respectivamente, es  $\Delta DO = DO_{280 \text{ nm}} - DO_{320 \text{ nm}} = 2,5 \pm 0,3$ .

Etapa 19: La temperatura de la suspensión viral es de  $20 \text{ °C} \pm 5 \text{ °C}$ . Se diluye formaldehído con solución PBS hasta obtener una solución de formaldehído al  $0,2 \% (p/v)$ . Se añade un volumen de  $5 \pm 0,5 \% (v/v)$  (para las cepas de gripe A) o  $2,5 \pm 0,25 \% (p/v)$  (para las cepas de gripe B) de una solución de formaldehído al  $0,2 \% (p/v)$  a la suspensión viral hasta alcanzar una concentración de formaldehído de  $0,01 \% (p/v)$  o  $0,005 \% (p/v)$ , respectivamente. Después de agregar la solución de formaldehído, la suspensión se agita durante al menos 15 minutos con una velocidad de agitación que permita tener un número de Reynolds no inferior a 10 000. La suspensión se trasvasa a varios envases que se transfieren a otra sala. La inactivación del virus lleva de 25-26 horas a  $+20 \text{ °C} \pm 5 \text{ °C}$  con una agitación que permita tener un número de Reynolds no inferior a 10 000, seguida de una etapa a  $+5 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$  durante 24-96 horas.





Los CPP se han definido después de un PCA para controlar los pasos de inactivación. Estos parámetros se describen en la Tabla 3.

**Tabla 3: CPP durante los pasos de inactivación**

Etapa del proceso de elaboración	Parámetros críticos del proceso (CPP)	Rango de operación/criterio de aceptación
<b>Paso 18: Dilución para <math>\Delta DO \approx 2,5</math> y filtración</b>	Potencia de homogeneización de la suspensión viral; número de Reynolds	$\geq 10\ 000\ Re$
	Duración de la homogeneización de la suspensión viral	$\geq 15\ min$
	Longitudes de onda de las mediciones del $\Delta DO$	280-320 nm
	$\Delta DO$ de la suspensión viral	$2,5 \pm 0,3$ (unidades de absorbancia)
<b>Paso 19: Inactivación</b>	Temperatura, preparación de la adición de formaldehído	$20^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$
	Dilución de la solución de formaldehído	Con respecto a las cantidades calculadas y con respecto a la homogeneización para obtener una solución de formaldehído al 0,2 % p/v
	Volumen de PBS	Según el cálculo
	Proporción de formaldehído	Cepa A: 5 % (v/v) $\pm$ 0,5 % (para obtener una concentración de 0,01 % p/v) Cepa B: 2,5 % (v/v) $\pm$ 0,25 % (para obtener una concentración de 0,005 % p/v)
	Potencia de homogeneización de la suspensión viral; número de Reynolds	$\geq 10\ 000\ Re$
	Duración de la homogeneización de la solución	$\geq 15\ min$
	Trasvase de la suspensión a los envases	Trasvase obligatorio a otros envases y a otra sala
	Temperatura de inactivación	$20^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$
	Duración de la inactivación	25-26 h
	Potencia de homogeneización durante la inactivación; número de Reynolds	$\geq 10\ 000\ Re$
	Temperatura al final de la inactivación	$5^{\circ}C \pm 3^{\circ}C$
	Duración del final de la inactivación	24-96 horas

**2.4 Filtración esterilizante de 0,22  $\mu m$**

Etapa 20: La suspensión viral inactivada y fraccionada se pasa a través de un filtro esterilizante con una porosidad doble de 0,45  $\mu m$  y 0,22  $\mu m$  y se diluye a un factor de  $1,2 \pm 0,1$  en PBS para

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S.A.





constituir el DS. Se prueba la integridad de la membrana del filtro. La suspensión se agita al menos 30 minutos a una velocidad que permita tener un número de Reynolds no inferior a 10 000.

Los CPP se han definido después de un PCA para controlar los pasos de la filtración esterilizante. Estos parámetros se describen en la Tabla 4.

Tabla 4: CPP durante los pasos de filtración esterilizante

Etapa del proceso de elaboración	Parámetros críticos del proceso (CPP)	Rango de operación/criterio de aceptación
Paso 20: Filtración esterilizante y dilución	Porosidad del filtro esterilizante	0,45 µm y 0,22 µm
	Volumen de PBS para enjuagar el filtro (factor de dilución)	1,2 ± 0,1
	Potencia de homogeneización; número de Reynolds	≥10 000 Re
	Duración de la homogeneización	≥ 30 min

## 2.5 Llenado y almacenamiento

Etapa 21: Se toman muestras para las pruebas de control de calidad de liberación.

Etapa 22: El granel monovalente se trasvasa a los envases descritos en la sección 3.2.S.6 Sistema de cierre del envase.

Los CPP se han definido después de un PCA para controlar el almacenamiento. Estos parámetros se describen en la Tabla 5.

Tabla 5: CPP durante el almacenamiento

Etapa del proceso de elaboración	Parámetros críticos del proceso (CPP)	Rango de operación/criterio de aceptación
Paso 22: Almacenamiento	Temperatura	5°C ± 3°C
	Duración	24 meses

## 2.6 Transporte

Los DS se utilizan para la mezcla en la planta de elaboración de Val de Reuil y no hay transporte del DS entre plantas de elaboración.

## 3 Pruebas de control durante el proceso

La Tabla 6 enumera las pruebas IPC para cada etapa de producción (vea la sección 3.2.S.2.4 Controles de los pasos críticos e intermedios y la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo









**Tabla 6: Pruebas IPC realizadas durante la elaboración del DS**

Etapa del proceso de elaboración	Prueba	Criterio de aceptación
Etapa 15	Contenido de nitrógeno total	≤600 µg/mL
Etapa 18	Contenido de nitrógeno total	≤200 µg/mL
Etapa 18	pH	7,2-7,5
Antes de la filtración esterilizante de 0,22 µm (etapa 20)	Carga microbiana	≤100 UFC/100 mL
Principio activo (etapa 21)	Aspecto	Líquido ligeramente blancuzco y opalescente.
Principio activo (etapa 21)	pH	6,8-7,6
Principio activo (etapa 21)	Contenido de endotoxinas bacterianas	≤100 UI/mL
Principio activo (etapa 21)	Contenido de formaldehído residual.	≤85 µg/mL

#### 4 Preparación de tampones y soluciones

A excepción de la solución de formaldehído preparada de forma extemporánea, los tampones y soluciones se someten a una filtración de 0,2 µm. Su composición cualitativa y cuantitativa se presenta a continuación. Para obtener más información sobre los componentes de los tampones y las soluciones, vea la sección 3.2.S.2.3 Lista y controles de materias primas.

Para obtener información sobre la composición de la solución tamponada de citrato 0,125 M utilizada en las etapas de purificación 10 y 12, vea la sección 3.2.S.2.2 Multiplicación y cosecha viral.

**Tabla 7: Solución PBS**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapa del proceso de elaboración
Cloruro de sodio	8 g	Purificación (etapas 10, 11 y 12)*
Cloruro de potasio	0,2 g	
Hidrogenofosfato disódico dihidrato	1,15 g	Dilución hasta ΔDO ≈ 7,5 (etapa 15)† Diafiltración (etapa 17)†
Dihidrogenofosfato de potasio	0,2 g	
Al menos agua purificada o agua ultrapurificada	c.s.p. 1 litro	Dilución hasta ΔDO ≈ 2,5 (etapa 18)† Filtración esterilizante de 0,22 µm (etapa 20)†

\* PBS elaborada con agua purificada, agua ultrapurificada o agua para inyectables

† PBS elaborada con agua ultrapurificada o agua para inyectables





**Tabla 8: Solución PBS con polisorbato 80**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapas del proceso de elaboración
Polisorbato 80 (Tween)	1 mL	Purificación (filtro mojado utilizado en la etapa 11)
Solución PBS	999 mL	

**Tabla 9: Solución de sacarosa al 60 %**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapas del proceso de elaboración
Solución PBS	550 mL	Purificación (etapa 13) Fraccionamiento (etapa 16)
Cloruro de sodio	9 g	
Sacarosa	771,9 g	

**Tabla 10: Solución de sacarosa al 55%**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapas del proceso de elaboración
Solución PBS	550 mL	Purificación (etapas 10 y 12)
Cloruro de sodio	9 g	
Sacarosa	650 g	

**Tabla 11: Solución de sacarosa al 34%**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapas del proceso de elaboración
Solución PBS	760 mL	Purificación (etapa 13)
Cloruro de sodio	9 g	
Sacarosa	389,8 g	

**Tabla 12: Solución de formaldehído al 0,2 %**

Componente	Cantidad para 1 litro	Etapas del proceso de elaboración
Formaldehído	Cantidad calculada de manera extemporánea de acuerdo con el título (%) y la densidad (1,09) del formaldehído.	Inactivación (etapa 19)
Solución PBS	c.s.p. 1 litro	

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S. A.





## Sección 3.2.S.2.4 Control de los pasos críticos e intermedios

### Índice

Lista de tablas .....	2
1 Panorama .....	3
2 Pasos críticos .....	3
3 Pruebas de control durante el proceso .....	4
3.1 Fraccionamiento .....	4
3.2 Inactivación .....	4
3.3 Principio activo .....	4
4 Intermedios .....	5





### Lista de tablas

Tabla 1: IPC realizados durante el paso de fraccionamiento .....4  
Tabla 2: IPC realizados durante el paso de inactivación.....4  
Tabla 3: IPC realizados con el principio activo.....5





Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

## 1 Panorama

Cada siembra viral se multiplica en huevos embrionados. Luego de la incubación, los huevos se enfrían a fin de detener la multiplicación viral y evitar la diseminación de células sanguíneas durante la cosecha. El líquido alantoideo se cosecha, se clarifica mediante centrifugación y filtración y luego se concentra mediante ultrafiltración. Se purifican las partículas virales mediante ultracentrifugación isopícnica en un gradiente de sacarosa. La filtración se realiza entre la primera y segunda etapas de ultracentrifugación isopícnica. Luego, las partículas virales se fraccionan con octoxinol 9. La suspensión viral fraccionada se clarifica mediante centrifugación y el contenido de octoxinol 9 se elimina por diafiltración. El virus fraccionado se inactiva con formaldehído luego de un paso de filtración. La etapa final en el proceso de elaboración del granel monovalente es una filtración esterilizante de 0,22  $\mu\text{m}$ .

## 2 Pasos críticos

Los tres pasos siguientes de elaboración se consideran críticos para garantizar la calidad del principio activo (DS) y se comentan más adelante en esta sección.

- **Purificación:** Este paso es crítico para la pureza del DS. El objetivo de este paso es separar las partículas virales de las moléculas de menor peso molecular, tales como las proteínas del huevo.
- **Fraccionamiento:** Este paso, junto con el paso de inactivación, garantiza una infectividad que cumple con la prueba de virus infecciosos residuales que se describe en la monografía n.º 0158 "Vacuna antigripal (virión fraccionado, inactivada)" de la Ph. Eur., edición actual. El objetivo de este paso es fragmentar la integridad de las partículas virales sin disminuir las propiedades antigénicas de la hemaglutinina y de la neuraminidasa.
- **Inactivación:** Este paso, junto con el paso de fraccionamiento, garantiza la inactivación del virus para cumplir con la prueba de virus infecciosos residuales que se describe en la monografía n.º 0158, "Vacuna antigripal (virión fraccionado, inactivada)" de la Ph. Eur., edición actual. El objetivo de este paso es modificar químicamente el virus fraccionado para así reducir su infectividad sin disminuir las propiedades antigénicas.

Los parámetros de producción, las pruebas de control durante el proceso (IPC) y las pruebas de liberación de control de calidad impulsan estos pasos críticos (la información detallada se presenta en las secciones 3.2.S.2.2 Multiplicación y cosecha viral y 3.2.S.2.2 Elaboración del principio activo).





### 3 Pruebas de control durante el proceso

Los IPC realizados durante el proceso de elaboración del DS se presenta a continuación. La justificación de estos IPC y sus especificaciones se presentan en la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración.

#### 3.1 Fraccionamiento

Los IPC realizados durante la etapa 15 del proceso de elaboración del DS (fraccionamiento) se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: IPC realizados durante el paso de fraccionamiento

Etapa del proceso de elaboración	Prueba	Referencia al método	Criterios de aceptación
Etapa 15	Contenido de nitrógeno total	Método interno (método de Kjeldhal) basado en la Ph. Eur. 2.5.9, edición actual Ph. Eur. 2.5.33 (método 7, procedimiento A), edición actual	≤600 µg/mL

#### 3.2 Inactivación

Los IPC realizados durante la etapa 18 del proceso de elaboración del DS (inactivación) se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: IPC realizados durante el paso de inactivación

Etapa del proceso de elaboración	Prueba	Referencia al método	Criterios de aceptación
Etapa 18	Contenido de nitrógeno total	Método interno (método de Kjeldhal) basado en la Ph. Eur. 2.5.9, edición actual Ph. Eur. 2.5.33 (método 7, procedimiento A), edición actual	≤200 µg/mL
Etapa 18	pH	Ph. Eur. 2.2.3, edición actual	7,2-7,5

#### 3.3 Principio activo

Los IPC realizados con el DS para garantizar el correcto control de su proceso de elaboración se resumen en la Tabla 3.





Tabla 3: IPC realizados con el principio activo

Etapa del proceso de elaboración	Prueba	Referencia al método	Criterios de aceptación
Etapa 20 (antes de una filtración esterilizante de 0,22 µm)	Carga biológica antes de la filtración	Ph. Eur. 2.6.12, edición actual	≤100 UFC/100 mL
Etapa 21	Contenido de formaldehído residual	Método interno (método colorimétrico de Nash)	≤85 µg/mL
Etapa 21	Aspecto	Ph. Eur. 2.9.20, edición actual	Líquido ligeramente blanuzco y opalescente
Etapa 21	pH	Ph. Eur. 2.2.3, edición actual	6,8-7,6
Etapa 21	Contenido de endotoxinas	Ph. Eur. 2.6.14, edición actual	≤100 UI/mL

#### 4 Intermedios

No existe ningún producto intermedio en el proceso de elaboración del DS.





## Sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración

### Índice

Lista de tablas .....	2
1 Desarrollo del proceso de elaboración del principio activo.....	3
2 Atributos críticos de calidad y estrategia de control del principio activo.....	9
2.1 Identificación de CQA y CPP .....	9
2.1.1 Definiciones.....	9
2.1.2 Metodología.....	9
2.1.3 CQA identificados de la QIV .....	9
2.1.4 CPP identificados del proceso de elaboración del DS.....	11
2.2 Resumen de la estrategia de control para el DS.....	17
3 Datos de respaldo para los tiempos de retención del proceso de elaboración del principio activo .....	24





### Lista de tablas

Tabla 1: Derivación de los lotes de QIV producidos durante el desarrollo.....	5
Tabla 2: Lista de CQA para la QIV.....	10
Tabla 3: Lista de CPP y CQA asociados, principio activo.....	12
Tabla 4: Atributos críticos de calidad y controles asociados en las etapas de elaboración del DS.18	
Tabla 5: Resultados de endotoxinas en función de la duración del almacenamiento después de la etapa 9.....	25
Tabla 6: Resultados de endotoxinas y carga microbiana en función de la duración del almacenamiento en la etapa 11.....	26
Tabla 7: Resultados de contenido de endotoxinas y carga microbiana en función de la duración del almacenamiento en la etapa 14.....	26
Tabla 8: Resultados de contenido de endotoxinas y carga microbiana en función de la duración del almacenamiento en la etapa 19.....	28

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A





Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

## 1 Desarrollo del proceso de elaboración del principio activo

La vacuna antigripal tetravalente (QIV) (virión fraccionado, inactivada) es una suspensión estéril de una mezcla de dos cepas del virus de la gripe tipo A (subtipo H1N1 y subtipo H3N2) y dos cepas del virus de la gripe tipo B (linaje Yamagata y linaje Victoria) cultivadas individualmente en huevos de gallina fertilizados, purificadas, tratadas con octoxinol 9 e inactivadas con formaldehído.

El principio activo de cada cepa se obtiene de cepas gripales suministradas por centros de referencia de la OMS de conformidad con las recomendaciones anuales formuladas como consecuencia de las variaciones de los antígenos.

El proceso de elaboración de la QIV se desarrolló utilizando el proceso de elaboración del principio activo (DS) antigripal utilizado para la elaboración de la vacuna antigripal trivalente estacional (TIV) de Sanofi Pasteur, Francia, para uso intramuscular. Como la adición de un DS de una cuarta cepa a la formulación trivalente aumenta el nivel de dilución de los otros tres DS, existía el riesgo de que una serie de lotes de DS no fueran aptos para la formulación tetravalente debido a su bajo contenido de antígeno hemaglutinina (HA). El estudio de los datos históricos de producción desde 2005 hasta 2011 muestra que un 22 % de los lotes de DS de TIV no se pudieron utilizar para la formulación de una vacuna tetravalente.

La parte principal del desarrollo del proceso de elaboración se enfocó, por lo tanto, en obtener un contenido objetivo de HA en el DS que permita una formulación tetravalente.

Con este fin, la etapa final (etapa 20) del proceso de elaboración del DS, que consiste en la dilución de la suspensión viral fraccionada e inactivada mediante solución PBS y posterior filtración estéril a través de una membrana filtrante de 0,22  $\mu\text{m}$ , se adaptó en comparación con el proceso de elaboración del DS de la TIV. Para la TIV, el factor de dilución se estableció en 1,7 (denominado proceso inicial). El factor de dilución se disminuyó para obtener el 100 % de los lotes de DS aptos para la producción de QIV y se estableció en 1,2 (denominado proceso final).

Inicialmente, los lotes de QIV se formularon con DS elaborado según el proceso inicial. Para obtener el contenido de HA objetivo de 15  $\mu\text{g}$  de cada cepa gripal por dosis, se seleccionaron los lotes de DS basándose en su alto contenido de antígeno HA. Los lotes correspondientes de QIV se utilizaron para los estudios de inmunogenicidad y seguridad en adultos y adultos mayores (GQM01 y GQM04); estos estudios no se consideran fundamentales para evaluar la inmunogenicidad de la QIV, aunque se toman en cuenta para la evaluación de la seguridad de la QIV.

Luego, solo se utilizaron los lotes de DS elaborados según del proceso final para los lotes de QIV que participaron en los estudios de seguridad e inmunogenicidad en niños (GQM02 y GQM09) y el nuevo estudio de seguridad e inmunogenicidad en adultos y adultos mayores (GQM11); estos estudios se consideran fundamentales para evaluar la inmunogenicidad de la QIV en niños,





adultos y adultos mayores, así como para la evaluación de su seguridad. Este proceso final se utilizará también para la producción de los futuros lotes comerciales de la QIV.

La derivación de los lotes de QIV producidos para los estudios clínicos y no clínicos se presenta en la Tabla 1.

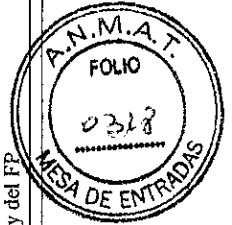


Tabla 1: Derivación de los lotes de QIV producidos durante el desarrollo

Proceso	Cepa	Número del lote de siembra de trabajo	Número de lote del DS	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (litros)	Número de lote de PF	Uso de los lotes							
Proceso inicial	A/California/07/2009 (NYMC-179A) (H1N1)	FA355180	FA414706	09 FEB 2011	93,6	S4361	Estudios clínicos GQM01 y GQM04							
						S4362	Estudios clínicos GQM04							
						S4363	Estudios clínicos GQM04							
	A/Victoria/210/2009 (NYMC X-187) (H3N2)	FA379673	FA415422	12 FEB 2011	90,4	S4363	Estudios clínicos GQM04							
						S4361	Estudios clínicos GQM01 y GQM04							
						S4362	Estudios clínicos GQM04							
						S4363	Estudios clínicos GQM04							
	B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)	FA347108	FA422094	14 ABR 2011	102,9	S4361	Estudios clínicos GQM01 y GQM04							
						S4362	Estudios clínicos GQM04							
						S4363	Estudios clínicos GQM04							
B/Florida/4/2006 (linaje Yamagata)	FA293306	FA430510	28 JUN 2011	117,4	S4361	Estudios clínicos GQM01 y GQM04								
					S4362	Estudios clínicos GQM04								
					S4363	Estudios clínicos GQM04								
					S4363	Estudios clínicos GQM04								
Proceso final	A/California/07/2009 (NYMC-179A) (H1N1)	FA355180	FA432424	13 JUL 2011	60,8	FDNC1059	Estudio de toxicidad reproductiva y del desarrollo (DART)							
						FA356399	FA491837	17 MAR 2013	65,4	S4443	Estudios clínicos GQM02, GQM09			
										FA516286	22 DIC 2013	63,4	S4456	Estudio clínico GQM11
													Estudios no clínicos: Estudio de farmacología en ratones	
													Validación del proceso de PFAG y PP	
Estudio de compatibilidad entre el tapon-embolo de clorobutilo y la QIV														
Estudios de estabilidad del PFAG y del PP														

RA\_0920056

Confidential/Proprietary Information  
Página 5 of 28



ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TECNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.



Sanofi Pasteur

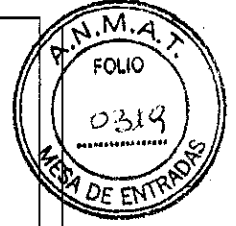
Vacuna antigripal tetavalente (virión fraccionado, inactivada)

Sección 3.2.S.2.6

Desarrollo del proceso de elaboración

Cepa	Número del lote de siembra de trabajo	Número de lote del DS	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (litros)	Número de lote de PF	Uso de los lotes
A/Victoria/210/2009 (NYMC X-187) (H3N2)	FA379673	FA521583	27 FEB 2014	60,7	S4457	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos* Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Validación del proceso del PFAG y del FP Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
		FA28519	09 MAY 2014	64,3	S4458	Estudio clínico GQM11 Estudio no clínico: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)	FA492096	FA427591-	31 MAY 2011	121,9	FDNC1059	Estudio de toxicidad reproductiva y del desarrollo (DART)
		FA495333	18 ABR 2013	144,1	S4443 S4456	Estudios clínicos GQM02, GQM09  Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
		FA493954	19 ABR 2013	131,3	S4457	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos* Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Validación del proceso del PFAG y del FP Estudios de estabilidad del PFAG y del FP

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.



Confidential/Proprietary Information  
Página 6 of 28

RA\_0920056



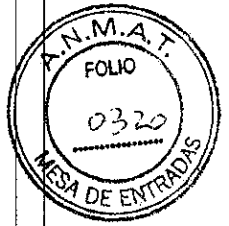
Sanofi Pasteur

Vacuna antigripal tetraavalente (virión fraccionado, inactivada)

Sección 3.2.S.2.6

Desarrollo del proceso de elaboración

Cepa	Número del lote de siembra de trabajo	Número de lote del DS	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (litros)	Número de lote de PF	Uso de los lotes
		FA523944	22 MAR 2014	133,6	S4458	Estudio clínico GQM11 Estudio no clínico: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)	FA413887	FA430215-	24 JUN 2011	114,7	FDNC1059	Estudio de toxicidad reproductiva y del desarrollo (DART)
		FA495974	25 ABR 2013	110,0	S4443	Estudios clínicos GQM02, GQM09
		FA495977	25 ABR 2013	104,5	S4456	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
		FA518528	27 ENE 2014	126,8	S4457	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos* Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Validación del proceso del PFAG y del FP Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
		FA518527	27 ENE 2014	130,0	S4458	Estudio clínico GQM11 Estudio no clínico: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-embolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP



Confidential/Proprietary Information

Página 7 of 28

RA\_0920056

NOXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TECNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.



Sanofi Pasteur

Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivada)

Sección 3.2.S.2.6  
Desarrollo del proceso de elaboración

Cepa	Número del lote de siembra de trabajo	Número de lote del DS	Fecha de elaboración	Tamaño del lote (litros)	Número de lote de PF	Uso de los lotes
B/Florida/4/2006 (linaje Yamagata)	FA293306	FA430515	01 JUL 2011	56,1	FDNC1059	Estudio de toxicidad reproductiva y del desarrollo (DART)
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata)	FA490508	FA492931	27 MAR 2013	118,7	S4443	Estudios clínicos GQM02, GQM09
		FA492930	27 MAR 2013	139,6	S4456	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-émbolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad
		FA525566	31 MAR 2014	112,8	S4457	Estudio clínico GQM11 Estudios no clínicos* Estudio de compatibilidad entre el tapón-émbolo de clorobutilo y la QIV Validación del proceso del PFAG y del FP Estudios de estabilidad del PFAG y del FP
		FA525570	01 ABR 2014	107,6	S4458	Estudio clínico GQM11 Estudio no clínico: Estudio de farmacología en ratones Validación del proceso de PFAG y FP Estudio de compatibilidad entre el tapón-émbolo de clorobutilo y la QIV Estudios de estabilidad del PFAG y del FP

\* Estudio de farmacología en ratones, estudio de toxicidad de dosis repetidas, estudio de farmacología de la seguridad cardiovascular y respiratoria.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.



RA\_0920056

Confidential/Proprietary Information  
Página 8 of 28





## 2 Atributos críticos de calidad y estrategia de control del principio activo

### 2.1 Identificación de CQA y CPP

#### 2.1.1 Definiciones

- Atributo crítico de calidad (CQA): “una característica o propiedad física, química, biológica o microbiológica que se debe mantener en un rango o distribución apropiado a fin de asegurar la calidad esperada para el producto” (definición de la directriz Q8 de la ICH).
- Parámetro crítico del proceso (CPP): “un parámetro del proceso cuya variabilidad afecta un atributo crítico de calidad y por lo tanto se debe monitorear o controlar a fin de asegurar que el proceso produzca la calidad deseada” (definición de la directriz Q8 de la ICH).

#### 2.1.2 Metodología

Se definen CQA para la QIV para garantizar la eficacia y la seguridad del producto. Los CQA se identificaron con base en la experiencia de elaboración y en los datos históricos de la TIV.

Se llevó a cabo un análisis de criticidad del proceso (PCA) con el fin de definir una categoría para cada parámetro del proceso para garantizar que la calidad del producto se mantiene durante todo su ciclo vital. Luego, se describió cada paso del proceso y se identificaron sus contribuciones con respecto a los CQA.

#### 2.1.3 CQA identificados de la QIV

La lista de CQA identificados se presenta en la Tabla 2. Como se indica en la sección 2.1.2, los CQA se definieron con base en la experiencia en la elaboración y en las especificaciones internas del producto. Para una mejor descripción, la lista de CQA toma en cuenta los CQA identificados para los lotes de siembra, para el DS y para el DP.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.

