

15° CUERPO



1-47-15645-16-6

SANOFI PASTEUR

( )

( )



Buenos Aires, 07 de abril de 2017

Señores  
INAME

Atención:  
DIRECCIÓN DE EVALUACIÓN Y CONTROL DE BIOLÓGICOS Y RADIOFÁRMACOS

**Referencia:** para adjuntar al Expediente N° 1-47-1110-1233-16-1  
Solicitud de Inspección para Certificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Fabricación de las Plantas elaboradoras de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)

De nuestra consideración:

**SANOFI PASTEUR S.A.**, con domicilio en Cuyo 3532 (1640) – Martínez, Pcia de Bs. As., inscrita por Legajo N° 6538, bajo la Dirección Técnica de la Farm. Roxana Montemilone (teléfonos de contacto 4732-5920, 4732-5997 o 4732-5965), se dirige a Uds. a fin de solicitar la continuidad de este expediente para el pedido de inspección de la planta de **Sanofi Winthrop Industrie Le Trait – Francia**, interviniente en la elaboración de **ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)** en lugar de la planta de **SANOFI AVENTIS ZRT- HUNGRÍA**, solicitada inicialmente.

Nuestra solicitud se basa en el hecho de que la planta de **SANOFI AVENTIS ZRT- HUNGRÍA** no intervendrá en la elaboración del producto destinado al mercado argentino, tal lo comunicado por Casa Matriz en la nota adjunta y, producto del requerimiento de esta Dirección de iniciar un expediente independiente por cada planta de elaboración, se incluye la solicitud de inspección para la planta de **Sanofi Winthrop Industrie Le-Trait – Francia**.

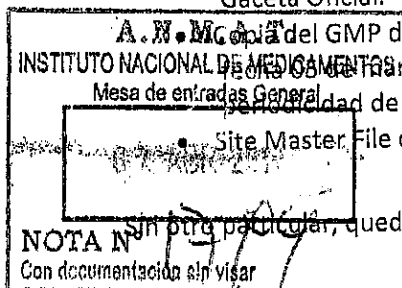
La planta sobre la que solicitamos Inspección se encuentran en **FRANCIA**:

✓ **SANOFI WINTHROP INDUSTRIE**

- **Dirección:** 1051 Boulevard Industriel Zone Industrielle 76580 LE TRAIT - FRANCIA
- **Etapas de fabricación:** Llenado- Acondicionamiento secundario
- **Nombre y función de la persona autorizada:** Laurent Le Bott– Farmacéutico Responsable (e-mail: [Laurent.LeBott@sanofi.com](mailto:Laurent.LeBott@sanofi.com))

A tal fin, adjuntamos:

- Carta recibida de Casa Matriz junto a su correspondiente traducción en la cual se indica que la planta de **SANOFI AVENTIS ZRT- HUNGRÍA** no intervendrá en la elaboración de **ISTIVAC4 - Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)** destinada al mercado argentino. Aclaramos que VaxigripTetra es el nombre comercial utilizado en el país de origen para la vacuna Istivac4.
- Fotocopia de la constancia de cumplimiento GMP de la planta a inspeccionar emitido por la Autoridad Regulatoria de Brasil, ANVISA, junto a la publicación correspondiente en la Gaceta Oficial.



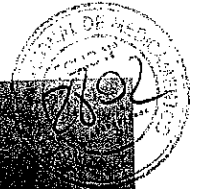
• **Site Master File** de la planta de **SANOFI WINTHROP INDUSTRIE**.

• Sin perjuicio de lo anterior, quedamos a su disposición y los saludamos muy atentamente.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





Fecha de emisión: 20/12/2016

Expediente N° 1-47-5146-16-0

MINISTERIO de SALUD  
ADMINISTRACIÓN NACIONAL  
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS  
Y TECNOLOGÍA MÉDICA  
S / D

Concepto del recibo: 2033

Motivo del trámite: INSPECCIÓN DE PLANTAS ELABORADORAS DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS SITAS EN PAISES EXTRANJEROS

**Referencia: Solicitud de Inspección para Certificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Fabricación de las Plantas elaboradoras de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)**

De nuestra consideración:

**SANOPI PASTEUR S.A.**, con domicilio en Cuyo 3532 - (1640) - Martínez, Provincia de Buenos Aires, y planta en Calle 8 N° 703 (esquina 5) - (1629) - Parque Industrial Pilar, Provincia de Buenos Aires, inscripta en ese Ministerio por Legajo N° 6538, bajo la Dirección Técnica de la Farmacéutica Roxana Montemilone, se dirige a Uds. a fin de solicitar la **Certificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Fabricación** de la Planta elaboradora de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados).

La planta sobre la que solicitamos Inspección se encuentra en **HUNGRÍA**:

✓ **SANOPI AVENTIS ZRT**

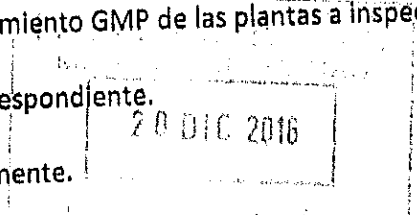
- **Dirección:** 1225 BUDAPEST Campona u.1 (Harbor Park)- HUNGRÍA
- **Etapas de fabricación:** Acondicionamiento secundario (no incluye actividades de etiquetado)- Liberación del producto final
- **Nombre y función de la persona autorizada:** Lack Ferencné - Farmacéutico Responsable (e-mail: kata.lack@sanofi.com)

Asimismo, dejamos constancia que la Solicitud de Inspección de la planta de **N.V. CRNA Z.I-BÉLGICA** se tramita por Expediente separado, mientras que la Solicitud de Inspección de las plantas de **SANOPI PASTEUR S.A.- VAL DE REUIL, FRANCIA; SANOPI PASTEUR S.A.- MARCY L'ETOILE, FRANCIA** y **SANOPI WINTHROP INDUSTRIE- LE TRAIT, FRANCIA**, intervinientes en la elaboración de ISTIVAC4, fue iniciada por Expte 1-47-5146-16-0.

Adjuntamos a la presente:

- Fotocopia autenticada de nuestro Certificado y Disposición de Habilitación de nuestra planta.
- Fotocopia de las constancias de cumplimiento GMP de las plantas a inspeccionar.
- Site Master File de la planta.
- Comprobante del pago de arancel correspondiente.

Sin otro particular, saludamos muy atentamente.



Cuyo 3532 - (1640) Martínez, Buenos Aires  
Asuntos Regulatorios Tel.: 4732-5920/ 4732-6997/ 4732-5965 www.sanofipasteur.com

**ROXANA MONTEMILONE**  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOPI PASTEUR S. A.



Buenos Aires, 24 de abril de 2017

Señores  
INAME

Atención:  
DIRECCIÓN DE EVALUACIÓN Y CONTROL DE BIOLÓGICOS Y RADIOFÁRMACOS

**Referencia:** para adjuntar al Expediente N° 1-47-1110-1232-16-8  
**Producto:** ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)

De nuestra consideración:

**SANOFI PASTEUR S.A.**, con domicilio en Cuyo 3532 (1640) – Martínez, Pcia. de Bs. As., inscrita por Legajo N° 6538, bajo la Dirección Técnica de la Farm. Roxana Montemilone (teléfonos de contacto 4732-5920, 4732-5997 o 4732-5965), se dirige a Uds. a fin de dar cumplimiento a lo solicitado en el corte de plazo de ese Departamento de fecha 10 de enero de 2017.

A tal fin, adjuntamos:

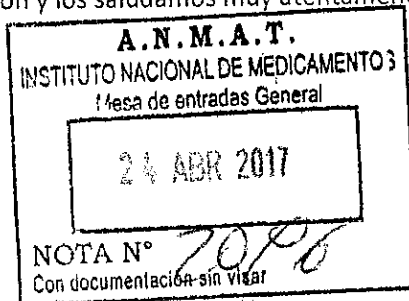
- Carta recibida de Casa Matriz junto a su correspondiente traducción en la cual se indica que la planta de **N.V. CRNA Z.I (Bélgica)** no elabora ningún principio activo ni forma farmacéutica dado que está autorizada exclusivamente a realizar tareas de acondicionamiento secundario, tal lo descripto en el dossier de registro de Istivac4 (Expte. 1-47-15584-16-5)

Por otra parte, informamos que las solicitudes de inspección de las otras plantas intervinientes en la elaboración de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados) fueron solicitadas por los expedientes detallados a continuación:

- **SANOFI PASTEUR S.A. - VAL DE REUIL- Francia:** Expte 1-47-1110-494-17-9
- **SANOFI PASTEUR S.A.- MARCY L'ETOILE – Francia:** Expte 1-47-5146-16-0
- **SANOFI WINTHROP INDUSTRIE- LE TRAIT- Francia:** Expte 1-47-1110-1233-16-1

Asimismo, aclaramos que por Nota N° 1794 se informó que la planta de **SANOFI AVENTIS ZRT-HUNGRÍA**, presentada inicialmente como parte del dossier de registro de Istivac4, no intervendrá en la elaboración del producto destinado al mercado argentino

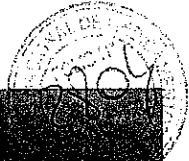
Sin otro particular, quedamos a su disposición y los saludamos muy atentamente.



ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





ADMINISTRACION NACIONAL  
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS  
Y TECNOLOGÍA MÉDICA  
S \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ D

Concepto del recibo: 2033  
Motivo del trámite: INSPECCIÓN DE PLANTAS ELABORADORAS DE  
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS SITAS EN PAISES EXTRANJEROS

**Referencia: Solicitud de Inspección para Certificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de  
Fabricación de las Plantas elaboradoras de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada,  
de virus fraccionados)**

De nuestra consideración:

**SANOPI PASTEUR S.A.**, con domicilio en Cuyo 3532 – (1640) – Martínez, Provincia de Buenos Aires, y planta en Calle 8 N° 703 (esquina 5) – (1629) – Parque Industrial Pilar, Provincia de Buenos Aires, inscrita en ese Ministerio por Legajo N° 6538, bajo la Dirección Técnica de la Farmacéutica Roxana Montemilone, se dirige a Uds. a fin de solicitar la **Certificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Fabricación** de la Planta elaboradora de ISTIVAC4- Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados).

La planta sobre la que solicitamos Inspección se encuentra en **BÉLGICA**:

✓ **N.V. CRNA Z.I**

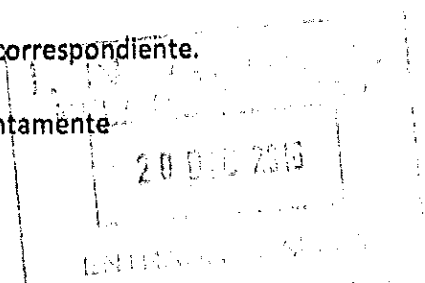
- **Dirección:** Heppignies Ouest Avenue d'Heppignies B-6220 FLEURUS- BÉLGICA
- **Etapas de fabricación:** Acondicionamiento secundario
- **Nombre y función de la persona autorizada:** H. Dedeken – Farmacéutico Responsable (Tel: + 32 (0) 497394082)

Asimismo, dejamos constancia que la Solicitud de Inspección de la planta de **SANOPI AVENTIS ZRT- HUNGRÍA** se tramita por Expediente separado, mientras que la Solicitud de Inspección de las plantas de **SANOPI PASTEUR S.A- VAL DE REUIL, FRANCIA; SANOPI PASTEUR S.A.- MARCY L'ETOILE, FRANCIA** y **SANOPI WINTHROP INDUSTRIE- LE TRAIT, FRANCIA**, intervinientes en la elaboración de ISTIVAC4, fue iniciada por Expte 1-47-5146-16-0.

Adjuntamos a la presente:

- Fotocopia autenticada de nuestro Certificado y Disposición de Habilitación de nuestra planta.
- Fotocopia de las constancias de cumplimiento GMP de las plantas a inspeccionar.
- Site Master File de la planta.
- Comprobante del pago de arancel correspondiente.

Sin otro particular, saludamos muy atentamente



Cuyo 3532 (1640) Martínez, Buenos Aires  
Asuntos Regulatorios Tel.: 4732-5920/ 4732-5997/ 4732-5965 www.sanofipasteur.com

ROXANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOPI PASTEUR S. A.  
  
ROXANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOPI PASTEUR S. A.





**Respuestas a las preguntas  
con fecha de mayo de 2017**

**Presentación de referencia: Registro nuevo**

Solicitante	Sanofi Pasteur
Nombre del producto	Vacuna antigripal tetravalente (inactivada, de virus fraccionados)
País en que se realiza la presentación	Argentina

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





## Índice

Pregunta 1.....	3
Pregunta 2.....	3
Pregunta 3.....	5
Pregunta 4.....	6
Pregunta 5.....	18
Pregunta 6.....	24

HOYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





## Pregunta 1

**Convenio de elaboración firmado con la empresa N.V.CRNA Z.I. Heppignies B-6220 FLEURUS, Bélgica, para las operaciones de acondicionamiento secundario.**

### Respuesta

El acuerdo de elaboración firmado con la empresa N.V.CRNA Z.I. Heppignies B-6220 FLEURUS, Bélgica, para las operaciones de acondicionamiento secundario se presenta en el Anexo (versión original en francés con su correspondiente traducción al español. La firma y fecha de ambas partes se encuentra en la página 22 de 33 del documento original)

## Pregunta 2

**La empresa manifiesta que no existe capacidad de depuración de los virus sin envoltura en el proceso y que se debe definir una estrategia de control de los mismos. Debe presentar documentación que avale la estrategia definida.**

### Respuesta

Como se menciona en la sección 3.2.A.2 "Evaluación de seguridad de agentes extraños", están identificados tres virus no envueltos como potencialmente presentes en el aislado viral humano (adenovirus, rinovirus y enterovirus). No se demostró la capacidad de depuración de los pasos siguientes del proceso (*downstream*) de la vacuna antigripal para estos virus no envueltos. Basándose en esta información, Sanofi Pasteur trabajó en dos enfoques:

- Desarrollar un análisis del lote de siembra, a fin de verificar si el aislado viral humano está contaminado con por lo menos uno de los tres virus;
- Documentar/evaluar si los tres virus humanos pueden o no pasar a través de la barrera interespecie humana-aviar.

Sanofi Pasteur realizó el estudio de la barrera interespecie humana-aviar para completar su evaluación del riesgo viral. La finalidad de este estudio consistía en evaluar las propiedades permisivas del sistema de huevos de gallina con respecto a los tres virus extraños identificados a riesgo, en el contexto de las condiciones experimentales del proceso de elaboración de Sanofi Pasteur de las siembras de vacuna antigripal.

El diseño del estudio consistió en inocular huevos con cada virus extraño (adenovirus, rinovirus y enterovirus) en el pasaje 1 (P1) que representa un primer paso, seguido por 4 pasajes suplementarios en huevos (de P2 a P5). En esta etapa, según el resultado de la permisividad del fluido alantoideo, se realizaría un pasaje más (P6) para una prueba presuntamente negativa o 5 pasajes adicionales en huevos (de P6 a P10) para una prueba presuntamente positiva. El número de pasajes era representativo del proceso de elaboración de la siembra de gripe de Sanofi Pasteur. El fluido alantoideo cosechado de cada pasaje se analizaría mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) basada en métodos específicos para cada virus extraño. Además, dado que los virus extraños que se multiplican causan un efecto citopático (CPE) en una monocapa específica de células sensibles, el fluido alantoideo de los pasajes P1, P5, P6 y/o P10 también se analizaría mediante el ensayo de infección celular: se realizaría un monitoreo del CPE y se detectaría el genoma viral mediante ensayos PCR específicos de los sobrenadantes de las células inoculadas con fluido alantoideo.

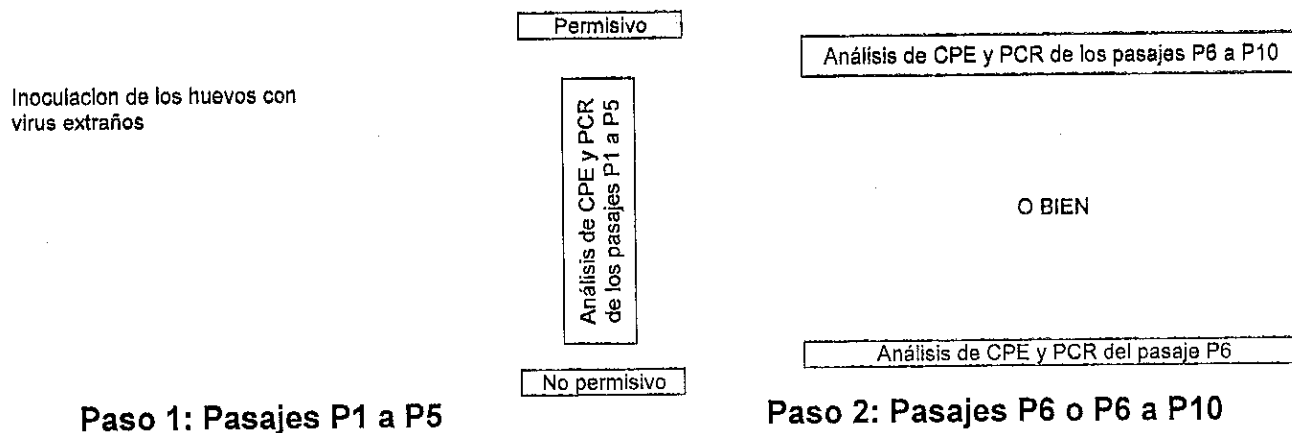
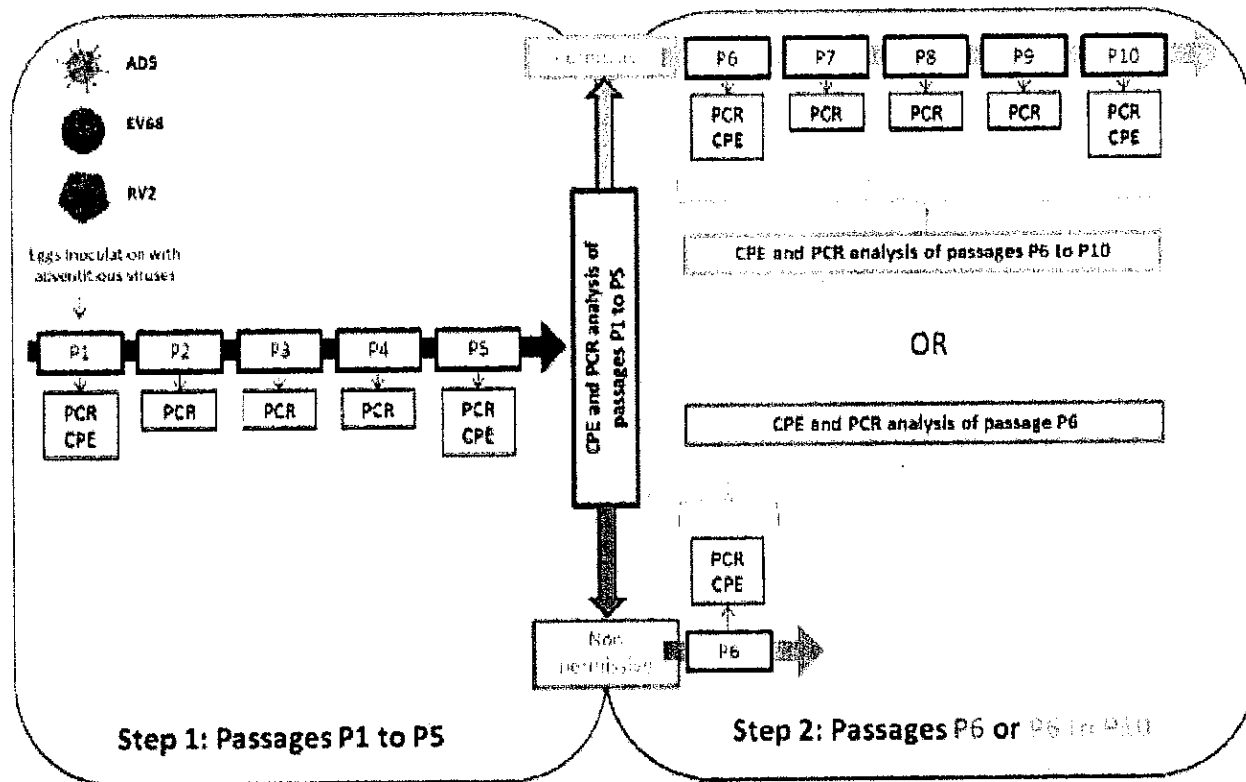
ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





En la Figura 1 se resume el diseño del estudio de la permisividad del sistema alantoideo respecto de los tres virus respiratorios humanos (adenovirus, rinovirus y enterovirus).

**Figura 1: Diseño del estudio de la permisividad del sistema alantoideo respecto de los tres virus respiratorios humanos: adenovirus (AD5), enterovirus (EV68) y rinovirus (RV2)**



El resultado de este estudio muestra la ausencia de genomas y partículas virales infecciosas de los 3 virus considerados a partir del 2º pasaje en huevos en las condiciones experimentales utilizadas.

De esta manera, en las condiciones experimentales de Sanofi Pasteur, el sistema de huevos de gallina no es permisivo para estas tres especies de virus respiratorios humanos extraños.

ACYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Considerando los resultados, Sanofi Pasteur no planea implementar análisis adicionales sobre el lote de siembra con respecto a los virus no envueltos (adenovirus, rinovirus y enterovirus humanos).

La estrategia de análisis ha sido acordada con el Estado Miembro de Referencia (Instituto Paul Ehrlich, Alemania).

### Pregunta 3

**Las cosechas monovalentes tienen un tiempo de retención máximo antes del fraccionamiento de 84 horas a 5°C ± 3°C. Debe presentar informe de estudio que avale dicha conservación.**

#### Respuesta

Cabe destacar que no hay un tiempo de retención que se aplique inmediatamente antes de la etapa de fraccionamiento (etapa 16) en el proceso de elaboración del principio activo (DS) de la vacuna antigripal tetravalente (QIV).

De hecho, como se indica en la sección 3.2.S.2.2 Panorama del proceso de elaboración, durante la elaboración del principio activo, los distintos tiempos de retención, con su duración y temperatura, que se aplican en el tramo anterior (*upstream*) al fraccionamiento son los siguientes:

- Etapa 9: almacenamiento de la cosecha monovalente concentrada luego de la dispensación. Puede aplicarse un período de almacenamiento máximo con una duración de 84 horas a 5°C ±3°C a la cosecha monovalente.
- Etapa 11: almacenamiento de la suspensión viral (paso de purificación 1) tras la filtración a través de un filtro de 0,45 µm. Puede aplicarse un período de almacenamiento máximo con una duración de 84 horas a 5°C ±3°C a la suspensión viral.
- Etapa 14: almacenamiento de la suspensión viral antes de la estandarización de la diferencia de la densidad óptica. Puede aplicarse un período de almacenamiento máximo con una duración de 36 horas a 5°C ±3°C al pool viral purificado.

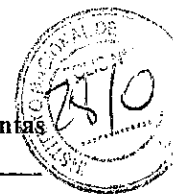
A fin de documentar estas duraciones del tiempo de retención, toda la información relevante referida a la validación del proceso se incluye en la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración, presentada. Los informes de validación también se presentan a continuación:

- Para el tiempo de retención de la etapa 9: informe Q\_0097461;
- Para el tiempo de retención de la etapa 11: informe Q\_134900;
- Para el tiempo de retención de la etapa 14: informe Q\_0134901.

Los informes de validación se presentan en el Anexo.

ROYANA MONTEMAYOR  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





## Pregunta 4

Se presenta informe de estabilidad de IFA a 24 meses con resultados parciales a 18 meses para uno de los tres lotes de cada cepa. Presentar informe actualizado a 24 meses a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

### Respuesta

Los datos de estabilidad del principio activo (DS) están incluidos en las secciones presentadas inicialmente 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad y 3.2.S.7.3 Datos de estabilidad. El presente documento presenta la actualización de estas secciones correspondiente a los datos de estabilidad solicitados.

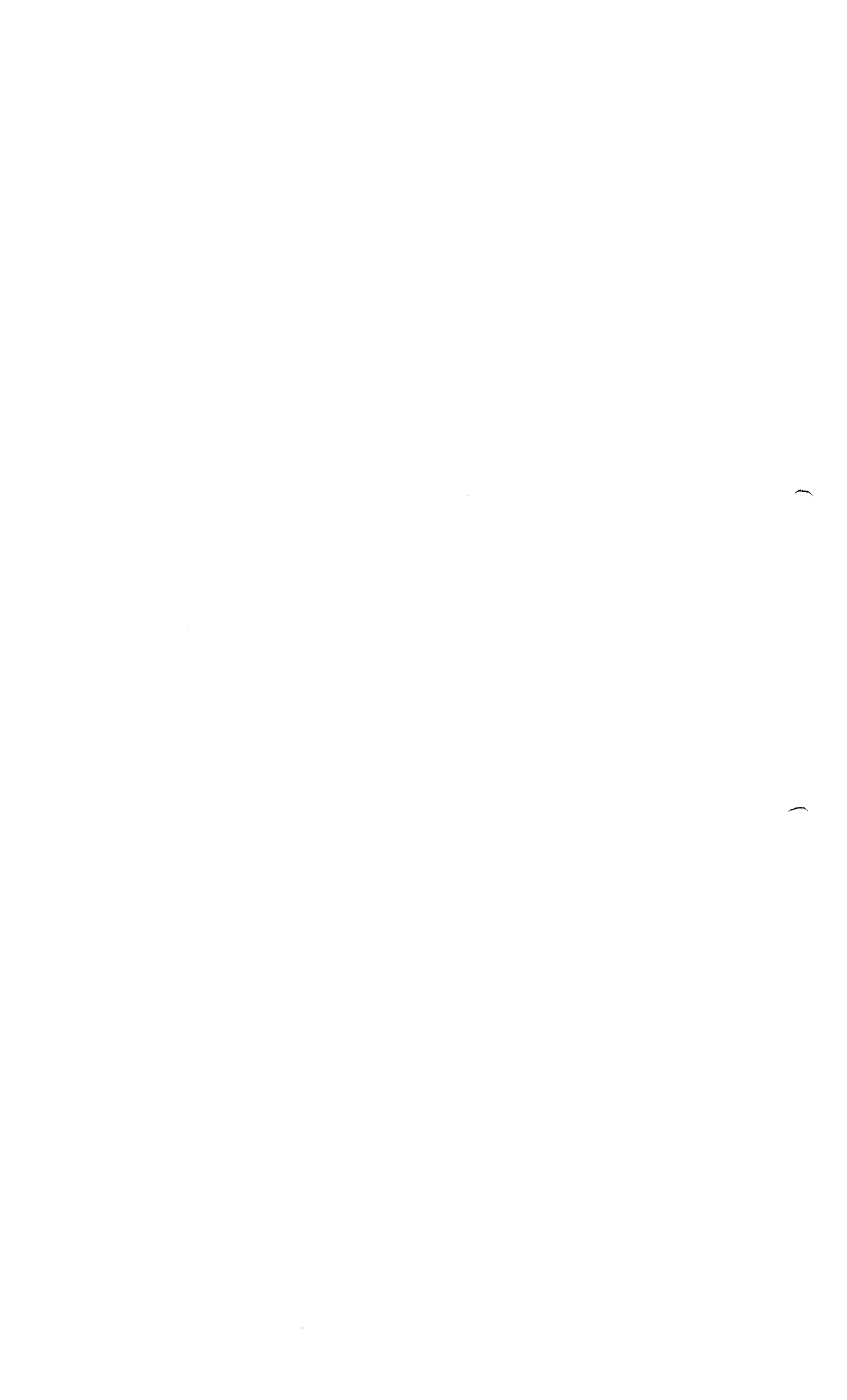
En la Tabla 1 se resumen los estudios de estabilidad actualizados de los lotes de principio activo.

Cabe destacar que todos los estudios de estabilidad incluidos en la presentación inicial del CTD actualmente están finalizados: están disponibles los datos de estabilidad de tres lotes de principio activo almacenados en envases de acero inoxidable y polipropileno hasta 24 meses a  $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

**Tabla 1: Panorama de los estudios de estabilidad actualizados sobre el principio activo**

Cepa	Lotes analizados	Fecha de elaboración	Planta de elaboración	Utilización del lote	Diseño del estudio	Estado del estudio
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	FA516286	22 dic 2013	Sanofi Pasteur, planta de Val de Reuil (VDR)	Lote industrial Estudios no clínicos / estudio clínico GQM11 Validación de lotes de 400 L de PFAG y producto llenado	Envases de acero inoxidable y polipropileno en condiciones de almacenamiento a tiempo real/ temperatura real a $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 meses.	Completado
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)	FA513975	23 nov 2013		Lote industrial		Completado
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)	FA518528	27 ene 2014		Lote industrial Estudios no clínicos / estudio clínico GQM11 Validación de lotes de 400 L de PFAG y producto llenado		Completado
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata)	FA525567	31 mar 2014		Lote industrial Validación de lotes de 1000 L de PFAG y producto llenado		Completado

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





### Resultados y conclusión de estabilidad

A continuación se presentan los resultados y la conclusión de los estudios de estabilidad realizados con los lotes de principio activo mencionados.

#### *Resultados de estabilidad*

Los resultados de los estudios de estabilidad efectuados con los lotes de principio activo FA516286, FA513975, FA518528 y FA525567 en envases de acero inoxidable y polipropileno se presentan de la Tabla 2 a la Tabla 9.

ROYANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.



Tabla 2: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) almacenada a + 5°C ± 3°C en envases de acero inoxidable, n.º de lote FA516286

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		T0	3	6	9*	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente†	Líquido levemente blanqueado y opalescente†	NRS	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente
pH	6,8-7,6	7,3	7,3	7,3	NR	7,2	7,2	7,2
Contenido de octoxinol 9 (µg/mL)	≤ 800 µg/mL	566	NP**	NP	NP	583	NP	529
Contenido de antígeno de HA (µg/mL)	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	232 (215 - 251)	226 (210 - 242)	222 (213 - 231)	NR	226 (209 - 244)	230 (220-241)	213 (205-222)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* Las pruebas del momento de medición de estabilidad a los 9 meses no se realizaron porque no estaban disponibles las muestras.

† Presencia de filamentos blancos.

‡ Presencia de partículas.

NR: No realizado

NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MOREMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APROBADA  
SANOFI PASTEUR S. A.

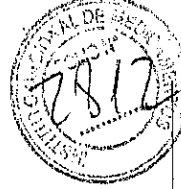




Tabla 3: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) almacenada a +5°C ± 3°C en envases de acero inoxidable, n.º de lote FA513975

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		70	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanuzco y opalescente	Líquido levemente blanuzco y opalescente	Líquido levemente blanuzco y opalescente*	Líquido levemente blanuzco y opalescente	Líquido levemente blanuzco y opalescente+	Líquido levemente blanuzco y opalescente	Líquido levemente blanuzco y opalescente	Líquido levemente blanuzco y opalescente†
pH	6,8-7,6	7,4	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2
Contenido de octoxinol 9 (µg/mL)	≤ 800 µg/mL	624	NP‡	NP	NP	603	NP	497
Contenido de antígeno de HA (µg/mL)	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	213 (202 - 225)	206 (187 - 226)	193 (183 - 203)	198 (179 - 218)	189 (181 - 197)	186 (174 - 197)	190 (183 - 198)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* Presencia de filamentos blancos.  
 † Presencia de un filamento blanco y una partícula.  
 ‡ NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S.A.





Sanofi Pasteur  
481 - Vacuna antigripal tetraivalente (inactivada, de virus fraccionados)

Tabla 4: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) almacenada a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  en envases de acero inoxidable, n.º de lote FA518528

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		T0	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente*	Líquido levemente blanquizco y opalescente*	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente
pH	6,8-7,6	7,3	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2
Contenido de octoxinol 9 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$\leq 800 \mu\text{g}/\text{mL}$	638	NP†	NP	NP	649	NP	609
Contenido de antígeno de HA ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	188 (178 - 198)	196 (186 - 206)	183 (173 - 192)	196 (186 - 206)	194 (184 - 204)	195 (182 - 208)	190 (181 - 199)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* Presencia de filamentos y partículas.

† NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.



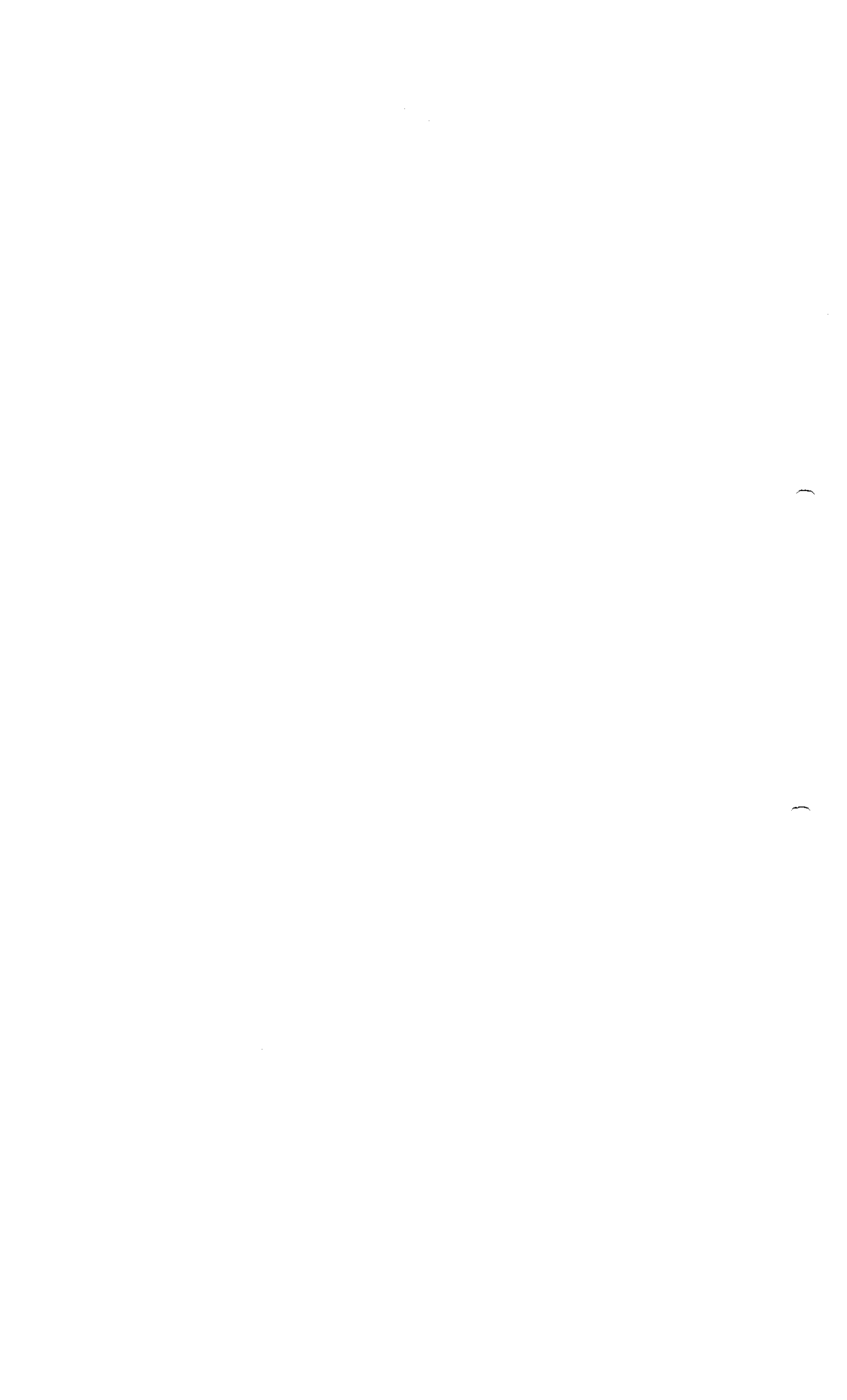


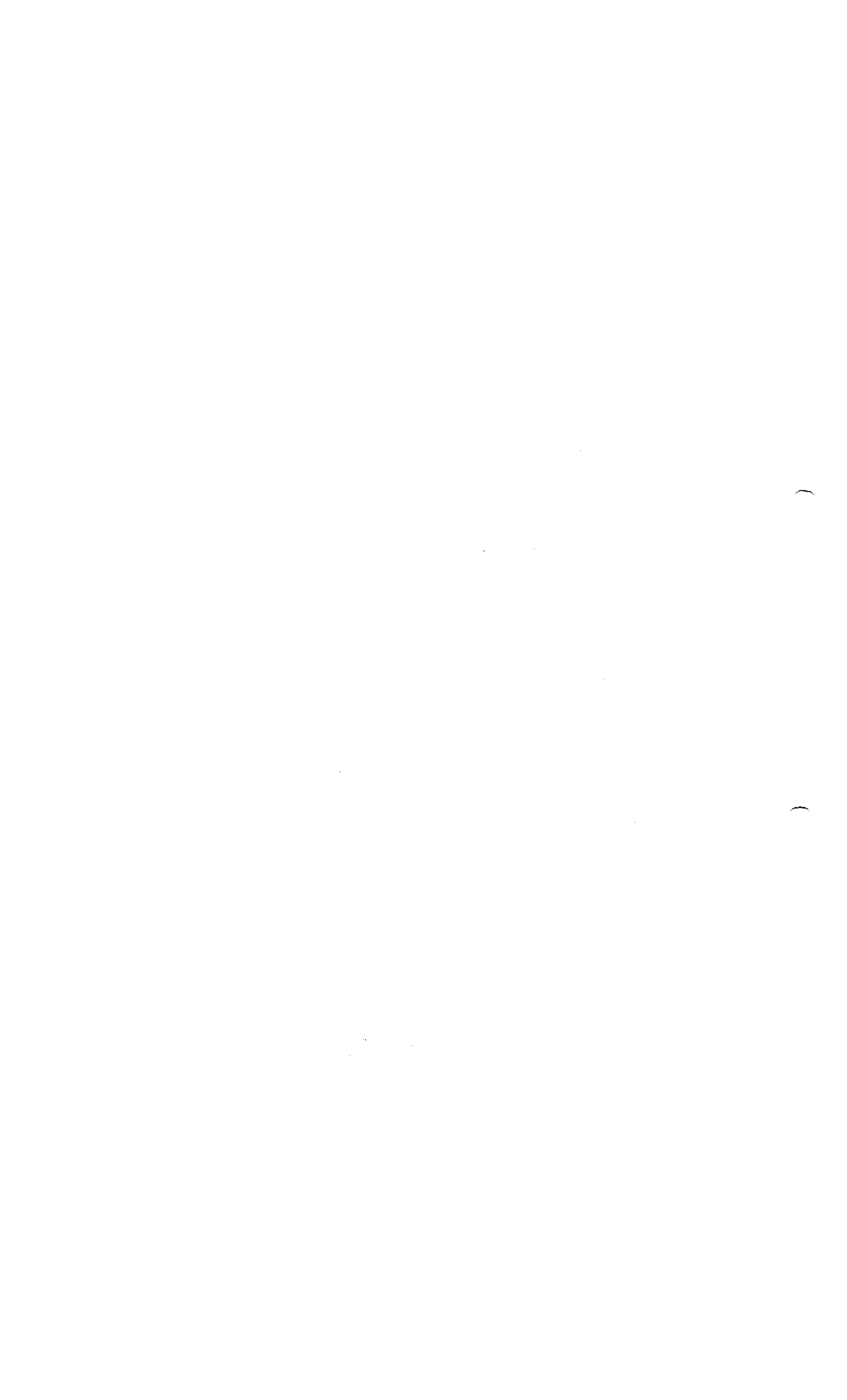
Tabla 5: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) almacenada a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  en envases de acero inoxidable, n.º de lote FAS25567

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		T0	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente	Líquido levemente blanqueado y opalescente
pH	6,8-7,6	7,2	7,2	7,3	7,2	7,2	7,2	7,1
Contenido de octoxinol 9 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$\leq 800 \mu\text{g}/\text{mL}$	615	NP*	NP	NP	620	NP	506
Contenido de antígeno de HA ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	186 (174 – 199)	179 (170 – 189)	189 (181 – 198)	166 (153 – 180)	168 (159-177)	176 (165-189)	170 (160-181)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTIEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





**Tabla 6: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) almacenada a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  en envases de polipropileno, n.º de lote FA516286**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		10	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente	Líquido levemente blanquizco y opalescente
pH	6,8-7,6	7,3	7,4	7,2	7,2	7,2	7,2	7,1
Contenido de octoxinol 9 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$\leq 800 \mu\text{g}/\text{mL}$	566	NP*	NP	NP	588	NP	578
Contenido de antígeno de HA ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	232 (215 – 251)	223 (208 – 239)	224 (208 – 241)	226 (209 – 245)	223 (210 – 237)	226 (219-234)	225 (215-235)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* NP: No programado, según el protocolo

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Sanofi Pasteur  
481 – Vacuna antigripal tetavalente (inactivada, de virus fraccionados)

Tabla 7: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) almacenada a + 5°C ± 3°C en envases de polipropileno, n.º de lote FA513975

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		T0	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blanquecino y opalescente	Líquido levemente blanquecino y opalescente	Líquido levemente blanquecino y opalescente*	Líquido levemente blanquecino y opalescente	Líquido levemente blanquecino y opalescente*	Líquido levemente blanquecino y opalescente	Líquido levemente blanquecino y opalescente*	Líquido levemente blanquecino y opalescente*
pH	6,8-7,6	7,4	7,2	7,2	7,2	7,2	7,1	7,2
Contenido de octoxinol 9 (µg/mL)	≤ 800 µg/mL	624	NP†	NP	NP	668	NP	622
Contenido de antígeno de HA (µg/mL)	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	213 (202 – 225)	209 (199 – 219)	200 (183 – 219)	200 (187 – 213)	184 (172 – 197)	199 (189 – 210)	193 (182 – 204)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* Presencia de filamentos blancos.

† NP: No programado, según el protocolo

BOYANA MONTEMLÓN  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A





**Tabla 8: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) almacenada a + 5°C ± 3°C en envases de polipropileno, n.º de lote FAS18528**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)							
		T0	3	6	9	12	18	24	
Aspecto	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente*	Líquido levemente blancuzco y opalescente*	Líquido levemente blancuzco y opalescente*	Líquido levemente blancuzco y opalescente*	
pH	6,8-7,6	7,3	7,2	7,2	7,2	7,2	7,1	7,1	
Contenido de octoxinol 9 (µg/mL)	≤ 800 µg/mL	638	NP†	NP	NP	621‡	628	628	
Contenido de antígeno de HA (µg/mL)	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	188 (178 - 198)	197 (188 - 206)	186 (175 - 199)	203 (189 - 219)	188 (178 - 199)	207 (193 - 222)	207 (193 - 222)	
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano	

\* Presencia de filamentos y partículas.

† NP: No programado, según el protocolo

‡ Prueba realizada en el momento de medición de estabilidad de los 15 meses debido a un resultado invalidado.

§ Resultado fuera de la tendencia de estabilidad.

ROYANA MONTFEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APROBADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





**Tabla 9: Resultados del estudio de estabilidad de la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) almacenada a + 5°C ± 3°C en envases de polipropileno, n.º de lote FA525567**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)						
		T0	3	6	9	12	18	24
Aspecto	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente*	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente	Líquido levemente blancuzco y opalescente
pH	6,8-7,6	7,3	7,3	7,3	7,2	7,2	7,1	7,1
Contenido de octoxinol 9 (µg/mL)	≤ 800 µg/mL	615	NP†	NP	NP	543	NP	556
Contenido de antígeno de HA (µg/mL)	Disminución del título menor o igual a 30% con respecto al título inicial	186 (174 – 199)	174 (162 – 186)	190 (177 – 204)	171 (161 – 182)	164 (143-187)	173 (164-183)	165 (153-177)
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano

\* Presencia de un filamento y partículas.

† NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S A







### Conclusión de estabilidad

#### Estudio de estabilidad con lotes de principio activo almacenados en envases de acero inoxidable

Tras 24 meses de almacenamiento a  $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , los resultados de estabilidad de los lotes de principio activo FA516286, FA513975, FA518528 y FA525567 muestran lo siguiente:

- Los resultados de aspecto cumplen con el criterio de aceptación y no muestran ninguna degradación del producto en todos los lotes:
  - En el lote de principio activo FA516286 de la cepa A/California/7/2009, se observaron filamentos en el momento de medición de estabilidad a los 3 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Además, se observaron partículas que no se identificaron en el momento de medición de estabilidad de los 6 meses. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.
  - En el lote de principio activo FA513975 de la cepa A/Texas/50/2012, se observaron partículas y filamentos en los momentos de medición de estabilidad a los 3 meses, 9 meses y 24 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.
  - En el lote de principio activo FA518528 de la cepa B/Brisbane/60/2008, se observaron partículas y filamentos en los momentos de medición de estabilidad a los 6 meses y 9 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.

El análisis de estos filamentos y partículas se presenta en el párrafo "2.3.3 Información adicional sobre la prueba de aspecto" de la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad, que ya se ha presentado.

- Los resultados de pH cumplen con los criterios de aceptación y son estables tomando en cuenta la variabilidad del método analítico en todos los lotes.
- Los resultados de contenido de octoxinol 9 cumplen con los criterios de aceptación en todos los lotes.
- Los resultados de contenido de antígeno de HA cumplen con los criterios de aceptación y se encuentran dentro de las tendencias de estabilidad en todos los lotes.
- Los resultados de la prueba de esterilidad cumplen con los criterios de aceptación en todos los lotes. No se observó crecimiento microbiano.

Cabe destacar que la ausencia de resultados correspondientes al momento de medición de estabilidad a los 9 meses con el lote FA516286 de la cepa A/California/7/2009, debido a problemas con la toma de muestras, no pone en riesgo el estudio de estabilidad porque los resultados de estabilidad a los 12 meses, 18 meses y 24 meses están disponibles y cumplen con los criterios de aceptación.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





### Estudio de estabilidad con lotes de principio activo almacenados en envases de polipropileno

Tras 24 meses de almacenamiento a  $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , los resultados de estabilidad de los lotes de principio activo FA516286, FA513975, FA518528 y FA525567 muestran lo siguiente:

- Los resultados de aspecto cumplen con el criterio de aceptación y no muestran ninguna degradación del producto en todos los lotes:
  - En el lote de principio activo FA513975 de la cepa A/Texas/50/2012, se observaron partículas y filamentos en los momentos de medición de estabilidad a los 3 meses, 9 meses, 18 meses y 24 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.
  - En el lote de principio activo FA518528 de la cepa B/Brisbane/60/2008, se observaron partículas y filamentos en los momentos de medición de estabilidad a los 9 meses, 12 meses, 18 meses y 24 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.
  - En el lote de principio activo FA525567 de la cepa B/Massachusetts/2/2012, se observaron partículas blancas y un filamento negro en el momento de medición de estabilidad a los 3 meses. Estos contaminantes son exógenos al producto, no tóxicos y no atípicos. Dada la etapa de la detección, no tienen impacto en el estudio de estabilidad.

El análisis de estos filamentos y partículas se presenta en el párrafo "2.3.3 Información adicional sobre la prueba de aspecto" de la sección 3.2.S.7.1 Resumen y conclusiones de estabilidad, que ya se ha presentado.

- Los resultados de pH cumplen con los criterios de aceptación y son estables tomando en cuenta la variabilidad del método analítico en todos los lotes.
- Los resultados de contenido de octoxinol 9 cumplen con los criterios de aceptación en todos los lotes.
- Los resultados de contenido de antígeno de HA cumplen con los criterios de aceptación y se encuentran dentro de las tendencias de estabilidad en los lotes FA516286, FA513975 y FA525567.

En el lote de principio activo FA518528 de la cepa B/Brisbane/60/2008, en el momento de medición de estabilidad a los 18 meses, se observó una tendencia ascendente, que puede explicarse por la variabilidad de la validación de los reactivos. Dado que se trata de un aumento y no una disminución del título de antígeno de HA, esto no muestra una degradación del producto.

- Los resultados de la prueba de esterilidad cumplen con los criterios de aceptación en todos los lotes. No se observó crecimiento microbiano.

### Conclusión general

Los resultados luego de 24 meses de almacenamiento a  $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  presentados en los párrafos que anteceden y los ya presentados anteriormente cumplen con los criterios de aceptación. En base a los datos de estabilidad, es razonable declarar una vida útil de 24 meses cuando el principio activo se almacena a  $+ 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  en envases de acero inoxidable y de polipropileno.

ROYANA MONTEMAYOR  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





### Pregunta 5

Para el ensayo de Contenido de Antígeno de Hemaglutinina de las cepas B, se utiliza un método de Inmunodifusión Radial Simple Bivalente. Debe presentar metodología completa que incluya el procesamiento de los datos.

#### Respuesta

La cuantificación y la identificación del antígeno de hemaglutinina en las vacunas antigripales tetravalentes se lleva a cabo mediante el método de inmunodifusión radial simple (SRID) conforme a la Farmacopea Europea, monografía n.º 158.

Después del tratamiento con un detergente (Zwittergent), se difunden diluciones diferentes de la muestra de prueba y del antígeno de referencia en un gel de agarosa que contiene un antisuero específico. El antisuero es un antisuero policlonal específicamente dirigido contra el antígeno de HA gripal deseado. Después de la difusión completa, se visualizan los anillos de precipitación de cada dilución de la muestra y la referencia mediante tinción (azul de Coomassie) y luego se miden.

Con las cepas de la gripe B, debido a la posible reactividad cruzada que se observa entre ambas cepas, la prueba se realiza utilizando una referencia B bivalente preparada mediante la mezcla de los dos antígenos B de referencia.

#### Equipos

El equipo habitual de un laboratorio de inmunología.

Equipos
Soporte: placas
Bandeja horizontal con soporte ajustable para colocar placas
Nivel de burbuja
Sala húmeda
Molde perforado
Trincheta
Micropipetas
Viales
Agitadores
Balanzas
Barras de agitación
Góndola de pesaje

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S A





Equipos
Espátula
Tubos
Recipiente
Grampas
Pesa estandarizada
Matraces
Cabina química
Papel secante
Papel de relleno
Guantes
Anteojos protectores
Lectora de placas

### Reactivos

- Antisuero

Están disponibles antisueros policlonales para cada cepa; origen: el Instituto Nacional de Normas y Controles Biológicos (NIBSC), Londres o la Administración de Productos Terapéuticos (TGA), Australia o el Centro de Evaluación e Investigación Biológica (CBER).

- Antígeno de referencia

Referencias internacionales representativas de cada cepa gripal, proporcionadas por el Centro de Referencia de la Gripe (NIBSC o TGA o CBER) con sus títulos y condiciones de uso.

Los antígenos de referencia de las cepas A (H1N1, H3N2) son soluciones de referencia específicas de cepa, mientras que los antígenos de referencia de las cepas B (Victoria, Yamagata) son una referencia bivalente compuesta por los antígenos de referencia de B/Victoria y de B/Yamagata. El método SRID que utiliza la solución de referencia específica se denomina SRID clásico, mientras que el método SRID que utiliza las soluciones de referencia bivalentes se denomina SRID bivalente.

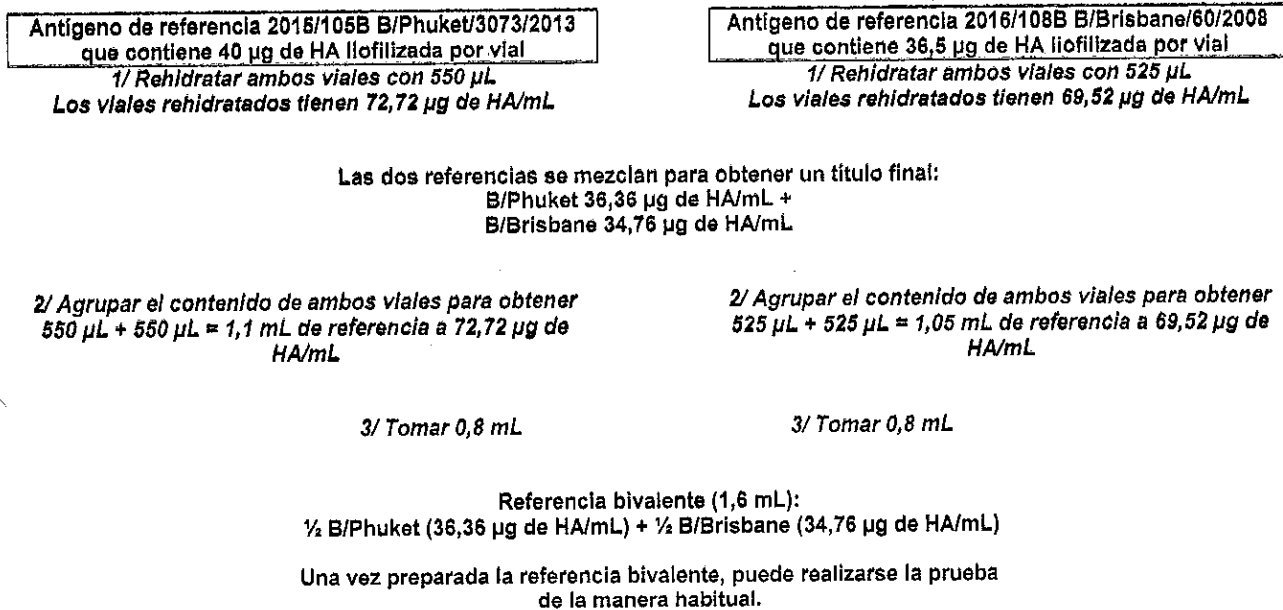
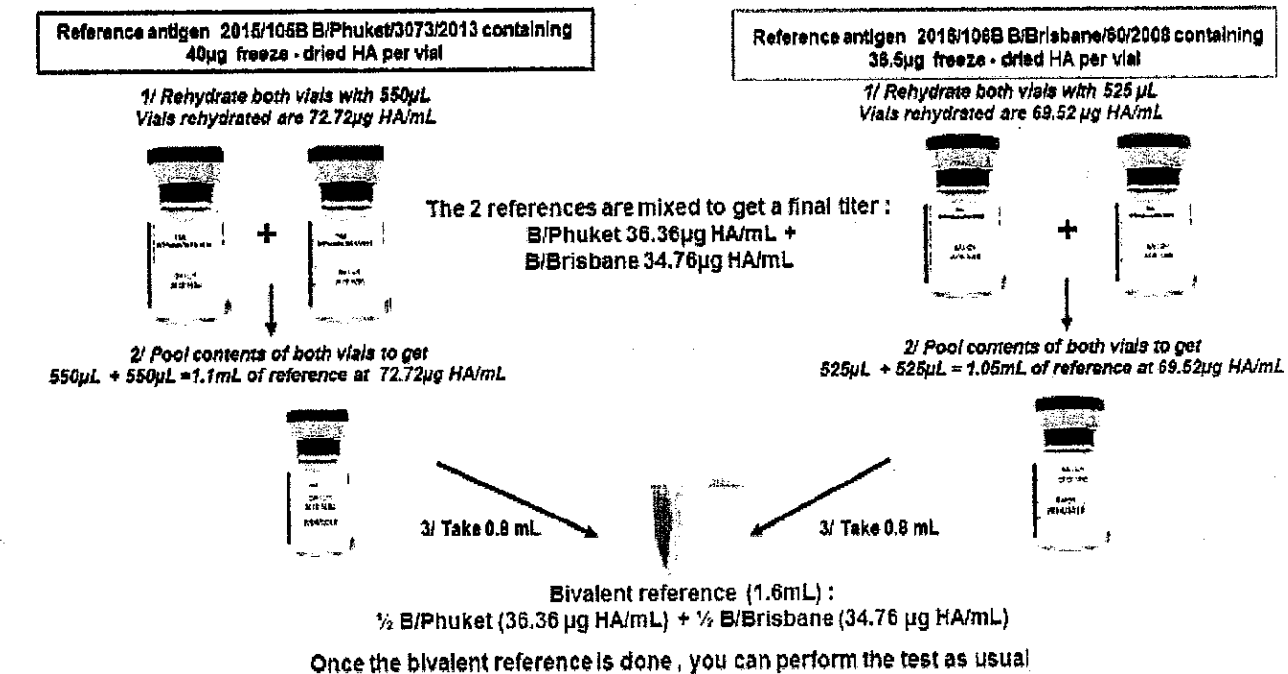
En la Figura 2 se presenta un ejemplo de un esquema para preparar una referencia B bivalente.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





Figura 2: Ejemplo de un esquema para preparar una referencia B bivalente



- Agarosa;
- Detergente: solución de Zwittergent (3-14) en agua purificada;
- Reactivo de tinción: Azul de Coomassie;
- Reactivo de decoloración;
- Solución salina tamponada con fosfato: 1 x C.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





**Procedimiento operativo**

Para cada ensayo independiente:

Se prepara un gel mezclando polvo de agarosa y solución salina tamponada con fosfato (PBS). Una cantidad dada (en base a las recomendaciones de los proveedores de antisuero y los ensayos de calibración) del antisuero policlonal específico se agrega al gel. Luego de la solidificación del gel, se perfora una serie de pocillos circulares.

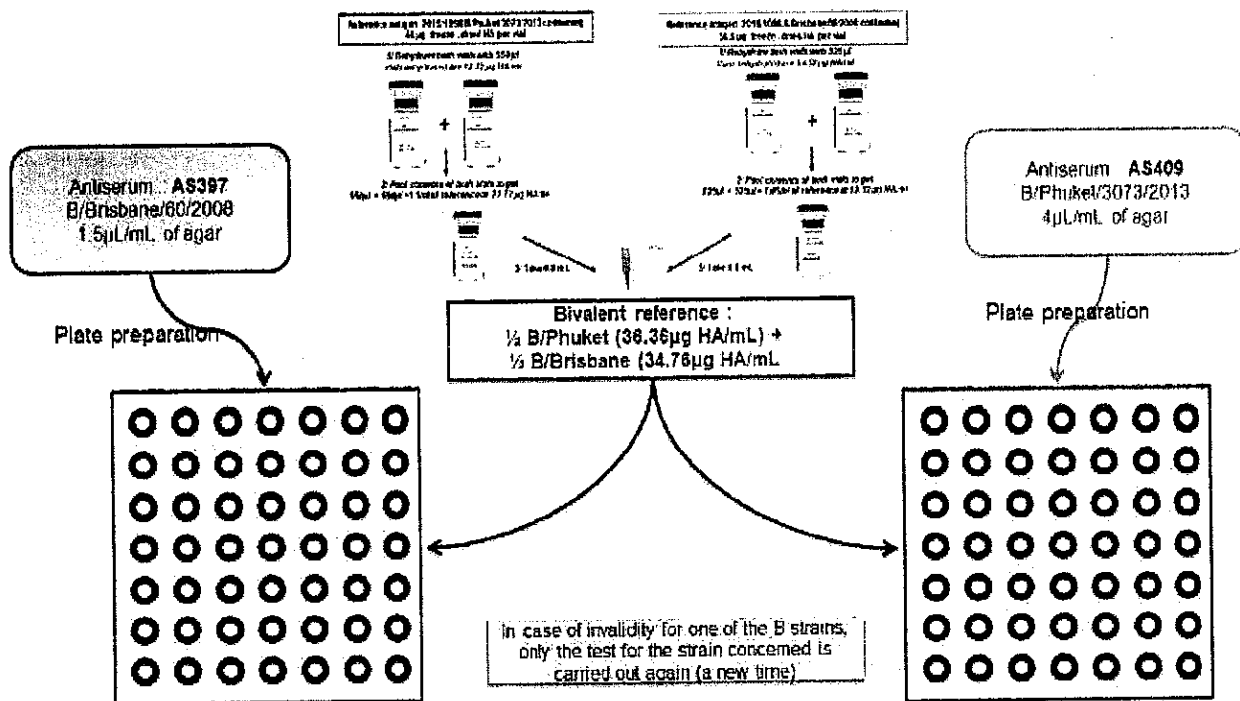
Cada antígeno de referencia se rehidrata con agua purificada. La referencia y muestras de prueba se tratan con Zwittergent por aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. Se realizan diluciones en serie adicionales de muestras tratadas y referencia tratada en solución PBS. En cada serie, la referencia se analiza pura, a 3/4, 1/2 y 1/4, mientras que las muestras se analizan puras, a 3/4, 1/2, y 1/3.

Se añade un volumen de cada dilución a los pocillos. El ensayo se realiza por triplicado, utilizando tres series independientes de por lo menos 3 diluciones.

Luego de una difusión durante 18 a 22 horas a temperatura ambiente en un recipiente húmedo, las placas se enjuagan, se secan y se tifen con azul Coomassie.

En la Figura 3 se presenta un ejemplo del esquema de preparación de las placas de antígeno de referencia de las cepas B.

**Figura 3: Ejemplo de esquema de preparación de las placas de antígeno de referencia de las cepas B**



ROYANA MONTENILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Antígeno de referencia  
2015/105B  
B/Phuket/3073/2013 que  
contiene 40 µg de HA  
liofilizada por vial

1/ Rehidratar ambos  
viales con 550 µL.  
Los viales rehidratados  
tienen 72,72 µg de  
HA/mL

2/ Agrupar el contenido  
de ambos viales para  
obtener 550 µL + 550 µL  
= 1,1 mL de referencia a  
72,72 µg de HA/mL

3/ Tomar 0,8 mL

Antígeno de referencia  
2016/108B  
B/Brisbane/60/2008  
que contiene 36,5 µg  
de HA liofilizada por  
vial

1/ Rehidratar ambos  
viales con 525 µL.  
Los viales  
rehidratados tienen  
69,52 µg de HA/mL

2/ Agrupar el  
contenido de ambos  
viales para obtener  
525 µL + 525 µL = 1,05  
mL de referencia a  
69,52 µg de HA/mL

3/ Tomar 0,8 mL

Antisuero: AS397  
B/Brisbane/60/2008  
1,5 µL/mL de agar

Preparación de la placa

Referencia bivalente:  
½ B/Phuket (36,36 µg de HA/mL) +  
½ B/Brisbane (34,76 µg de HA/mL)

Antisuero: AS409  
B/Phuket/3073/2013  
4 µL/mL de agar

Preparación de la placa

En caso de que una de las cepas B sea inválida,  
se realiza de nuevo (una nueva vez) solamente la  
prueba de la cepa en cuestión

### Lecturas; cálculos; resultados

Para las cepas A y las cepas B, el tratamiento de los resultados (lectura y cálculo) es idéntico y se presenta a continuación.

Luego de la decoloración, se miden dos diámetros perpendiculares de cada anillo de precipitación. Para cada dilución de muestra, luego se calcula la media de todos los diámetros medidos.

Luego de evaluar la validez del ensayo, se determina el contenido de antígeno de HA de la muestra de prueba mediante la curva de calibración.

Se calcula la curva dosis-efecto del preparado de referencia con la siguiente ecuación correspondiente a una regresión múltiple:

$$d = a_0 + a_1D + a_2 \log D$$

Donde d: diámetro medio

D: dosis en µg/mL

Para cada ensayo, se verifica que la ecuación de regresión múltiple se aplica utilizando un análisis de varianza que se presenta a continuación. Si se verifica la regresión y la ausencia de desviación de la linealidad, la referencia puede considerarse válida.

### Verificación de la regresión

Se estudia la curva dosis-efecto. Esta curva dosis-efecto debe demostrar la existencia de una regresión significativa.

Se realiza el siguiente cálculo:

$F_{regresión} = \text{regresión cuadrada promedio} / \text{residuo cuadrado promedio}$

Hipótesis nula H <sub>0</sub>	Hipótesis alternativa H <sub>1</sub>	H <sub>0</sub> es rechazada (H <sub>1</sub> es aceptada) si
La regresión de H <sub>0</sub> es no significativa.	La regresión de H <sub>1</sub> es significativa.	$F_r > F_{(0,95; 1; 20 \text{ ddl})} = 4,35$

ROYANA MENTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





Debe demostrarse una regresión significativa. Así, si se mantiene la hipótesis  $H_0$ , la referencia es inválida.

#### **Verificación de ausencia de desviación de la linealidad**

Se mide la desviación entre los valores experimentales y la curva calculada. El análisis permite verificar la ausencia de dispersión (falta de ajuste).

Se realiza el siguiente cálculo:  $F_{\text{dispersión}} = \text{dispersión cuadrada promedio} / \text{residuo cuadrado promedio}$

Hipótesis nula $H_0$	Hipótesis alternativa $H_1$	$H_0$ es rechazada ( $H_1$ es aceptada) si
La dispersión de $H_0$ es no significativa.	La dispersión de $H_1$ es significativa.	$F_d > F_{(0,95; 2; 20 \text{ ddl})} = 3,49$

Si se rechaza  $H_0$ , se realiza una prueba de Bliss a fin de llegar a una conclusión sobre la importancia de la dispersión con respecto a la regresión (criterio de Bliss: cálculo de ensayos microbianos – Revisión bacteriológica – 1956)

- Si  $100 * \text{Suma de la dispersión cuadrada} < \text{suma de la regresión cuadrada}$ : la dispersión es despreciable. Por lo tanto, la referencia se considera válida.
- Si  $100 * \text{Suma de la dispersión cuadrada} > \text{suma de la regresión cuadrada}$ : la dispersión no es despreciable en comparación con la regresión. Por lo tanto, la referencia es inválida.

Para la liberación, el número de ensayos se basa en el parámetro del criterio de precisión evaluado durante la validación de SRID (es decir, el intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia debe ser menor o igual que  $x \pm 1,2$ ). El número de ensayos se selecciona según la cantidad de ensayos que se requiera para lograr el criterio de aceptación de la precisión. Esto será aplicable cada vez que se revalide el método, lo cual significa que el número de ensayos independientes podrá diferir según la cepa y los reactivos de SRID.

Cada ensayo es independiente, lo que significa que los ensayos se llevan a cabo utilizando distintas muestras y distintos geles de agarosa, y el promedio ponderado se calcula de la siguiente manera:

La homogeneidad del ensayo válido independiente se verifica mediante una prueba estadística de Chi cuadrado, como se describe en la Ph. Eur. 5.3, edición actual, "Análisis estadístico de los resultados de los ensayos y pruebas biológicos", capítulo 6.2.2 "Homogeneidad de las estimaciones de potencia".

- Si los resultados son homogéneos, el promedio ponderado se calcula de acuerdo con la Ph. Eur. 5.3, edición actual, capítulo 6.2.3 "Cálculo del promedio ponderado y los límites de confianza".
- Si resultados son heterogéneos, los ensayos independientes quedan invalidados y se realizan nuevos ensayos independientes.

#### **Criterios de validez de cada ensayo independiente**

Para las cepas A y B, cada prueba independiente es válida si:

- Los parámetros estadísticos de cada prueba se cumplen para la muestra de referencia (factor de regresión y dispersión);

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
ARROBERADO  
SANOFI PASTEUR S. A.





- Los límites de la muestra de prueba se encuentran dentro de los límites de extrapolación de la curva;
- No hay ningún efecto de dilución;
- Los límites de confianza ( $P = 0,95$ ) no son inferiores al 80% ni superiores al 125% del contenido estimado de antígeno de HA;
- El monitoreo del diámetro medio de la dilución de la referencia de antígeno no diluido se encuentra dentro de los límites del gráfico de control;
- Se observa un anillo para el antígeno de referencia.

Los resultados de contenido de HA del producto farmacéutico se evalúan en dos rangos de diluciones (pura,  $\frac{3}{4}$  y  $\frac{1}{2}$ ) y ( $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{3}$ ). Esta explotación da 2 resultados para una muestra. Si los dos resultados son válidos: el resultado que se conserva es aquel cuyo intervalo de confianza es el menor dentro de los límites establecidos (20-25%). El segundo resultado no se conserva.

## Pregunta 6

**Lotes elaborados en la planta de Val de Reuil con tapones-émbolo alternativos de bromobutilo suministrados por dos proveedores. Los resultados presentados de uno de los lotes están incompletos. Debe presentar informe actualizado a la fecha.**

### *Respuesta*

La actualización de los datos de estabilidad en condiciones de almacenamiento de tiempo real/ temperatura real (12 meses /  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), relacionados con los tapones-émbolos alternativos de bromobutilo (suministrados por el proveedor II) se presenta a continuación. De hecho, los datos completos de estabilidad ya están descriptos en el dossier de registro presentado inicialmente para los tapones-émbolo alternativos de bromobutilo (suministrados por el proveedor I).

En la Tabla 10 se resumen los estudios de estabilidad actualizados relativos a los lotes de producto llenado elaborados con tapones-émbolo alternativos de bromobutilo (proporcionados por el proveedor II).

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Cabe destacar que todos los estudios de estabilidad referidos a los tapones-émbolo alternativos de bromobutilo proporcionados por los proveedores I y II incluidos en la presentación inicial del CTD están actualmente finalizados. Están disponibles los datos de estabilidad de tres lotes de producto llenado hasta los 12 meses a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

**Tabla 10: Panorama de los estudios de estabilidad actualizados realizados con lotes de producto llenado con los tapones-émbolo alternativos de bromobutilo (suministrados por el proveedor II)**

Lotes analizados	Tipo de tapón émbolo	Fecha de elaboración	Tamaño de lote	Planta de elaboración	Utilización del lote	Estado del estudio	Objetivo del estudio
FDNC2231	Bromobutilo (suministrado por el proveedor II)	20 feb 2015	5.718 unidades	Sanofi Pasteur, planta de VDR	Estudio de compatibilidad del cierre con el tapón émbolo alternativo de bromobutilo (proveedor II)	Condiciones de almacenamiento a tiempo real/ temperatura real $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ (T0, 3, 6, 9 y 12 meses)	Estudio de estabilidad para evaluar la compatibilidad del cierre entre el tapón émbolo alternativo de bromobutilo (proveedor II), que contiene menos zinc que el tapón émbolo de clorobutilo y la QIV*
FDNC2232		20 feb 2015	5.524 unidades				
FDNC2233		20 feb 2015	5.312 unidades				

\*QIV: vacuna antigripal tetravalente

### Resultados y conclusión de estabilidad

Los resultados de los estudios de estabilidad en condiciones de almacenamiento de tiempo real/ temperatura real (12 meses /  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) y la conclusión de los estudios de estabilidad realizados con los lotes de producto llenado mencionados se presentan a continuación.

### Resultados de estabilidad

Los resultados de los estudios de estabilidad en condiciones de almacenamiento de tiempo real/ temperatura real (12 meses /  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) con los lotes de producto llenado FDNC2231, FDNC2232 y FDNC2233 se presentan de la Tabla 11 a la Tabla 13.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.



**Tabla 11: Resultados del estudio de estabilidad del producto llenado de QIV, lote FDNC2231, elaborado con el tapón émbolo alternativo de bromobutilo (suministrado por el proveedor II) ( $\pm 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ )**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)					
		T0	3	6	9	12	
Aspecto	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	
pH	6,8 - 7,6	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	
Volumen extraíble	$\geq$ volumen nominal	Cumple	NP*	NP	NP	Cumple	
CCIT	Cumple si se demuestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	Cumple	NP	NP	NP	Cumple	
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano	
Contenido de antígeno de HA ( $\mu\text{g}/\text{dosis}$ )	Objetivo: 15 $\mu\text{g}/\text{dosis}$ por cada cepa.						
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	El límite inferior de confianza ( $p = 0,95$ ) del contenido de antígeno de HA estimado es no inferior a 12 $\mu\text{g}/\text{dosis}$ por cada cepa.	18 (17-19)	19 (18-20)	19 (18-20)	18 (17-19)	19 (19-20)	
A/South Australia/55/2014 (IVR-175) (H3N2)		17 (16-18)	17 (16-18)	17 (17-18)	16 (15-17)	17 (16-18)	
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)		19 (18-20)	19 (18-20)	19 (18-20)	18 (17-19)	18 (17-20)	
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)		18 (17-19)	18 (17-19)	18 (17-18)	17 (17-18)	18 (17-19)	
Contenido de endotoxinas bacterianas	$< 100$ UI/dosis	$< 0,25$	NP	NP	NP	$< 0,25$	

\* NP: No programado, según el protocolo

RA 1808846

Información confidencial/proprietaria  
Página 26 de 29



BOYANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
ADJUNTA  
SANOFI PASTEUR S.A.



**Tabla 12: Resultados del estudio de estabilidad del producto llenado de QIV, lote FDNC2232, elaborado con el tapón émbolo alternativo de bromobutilo (suministrado por el proveedor II) ( $\pm 5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ )**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)				
		T0	3	6	9	12
Aspecto	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente
pH	6,8 - 7,6	7,3	7,3	7,2	7,2	7,2
Volumen extraíble	$\geq$ volumen nominal	Cumple	NP*	NP	NP	Cumple
CCIT	Cumple si se demuestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	Cumple	NP	NP	NP	Cumple
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano
Contenido de antígeno de HA ( $\mu\text{g}/\text{dosis}$ )	Objetivo: 15 $\mu\text{g}/\text{dosis}$ por cada cepa.					
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	El límite inferior de confianza ( $p = 0,95$ ) del contenido de antígeno de HA estimado es no inferior a 12 $\mu\text{g}/\text{dosis}$ por cada cepa.	20 (19-20)	18 (17-20)	18 (17-19)	18 (17-19)	19 (18-20)
A/South Australia/55/2014 (IVR-175) (H3N2)		17 (17-18)	17 (17-18)	17 (16-17)	16 (15-17)	16 (16-17)
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)		19 (18-20)	19 (18-20)	19 (18-20)	18 (17-20)	18 (17-20)
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)		17 (16-18)	19 (18-21)	18 (17-18)	17 (16-18)	18 (17-19)
Contenido de endotoxinas bacterianas	$< 100 \text{ UI}/\text{dosis}$	$< 0,25$	NP	NP	NP	$< 0,25$

\* NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.

RA\_1808846

Información confidencial/proprietaria

Página 27 de 29

Versión 2.0





**Tabla 13: Resultados del estudio de estabilidad del producto llenado de QIV, lote FDNC2233, elaborado con el tapón émbolo alternativo de bromobutilo (suministrado por el proveedor II) (+5°C ± 3°C)**

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)				
		T0	3	6	9	12
Aspecto	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente
pH	6,8 - 7,6	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3
Volumen extraíble	≥ volumen nominal	NP*	NP	NP	NP	Cumple
CCIT	Cumple si se demuestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	Cumple	NP	NP	NP	Cumple
Esterilidad bacteriana y fúngica	No se observa crecimiento microbiano	No se observa crecimiento microbiano	NP	NP	NP	No se observa crecimiento microbiano
Contenido de antígeno de HA (µg/dosis)	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa. El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido de antígeno de HA estimado es no inferior a 12 µg/dosis por cada cepa.	19 (18-19)	18 (17-19)	18 (17-19)	18 (17-19)	18 (18-19)
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)		17 (16-18)	17 (16-18)	17 (16-18)	16 (15-17)	17 (16-18)
A/South Australia/55/2014 (IVR-175) (H3N2)		19 (17-21)	19 (18-20)	19 (18-21)	19 (17-20)	18 (17-20)
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)		18 (17-19)	18 (17-20)	18 (17-19)	17 (16-18)	18 (17-19)
B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata)		< 0,25	NP	NP	NP	< 0,25
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 100 UI/dosis	< 0,25	NP	NP	NP	< 0,25

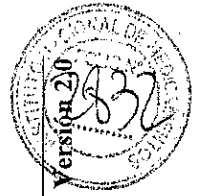
\* NP: No programado, según el protocolo

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.

RA\_1808846

Información confidencial/proprietaria

Página 28 de 29







### **Conclusión de estabilidad**

En los lotes FDNC2231, FDNC2232 y FDNC2233, los resultados del estudio de estabilidad tras 12 meses de almacenamiento a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  muestran lo siguiente:

- Los resultados de la prueba de aspecto cumplen con el criterio de aceptación y no muestran ninguna degradación del producto. Además, no se han observado partículas.
- Los resultados de pH cumplen con los criterios de aceptación y son estables tomando en cuenta la variabilidad del método analítico.
- Los resultados de la prueba de volumen extraíble y de CCIT cumplen con los criterios de aceptación.
- Los resultados de la prueba de esterilidad y de contenido de endotoxinas cumplen con los criterios de aceptación.
- Los resultados de contenido de antígeno de HA cumplen con el criterio de aceptación en el caso de las cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), A/South Australia/55/2014 (IVR-175) (H3N2), B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) y B/Phuket/3073/2013 (linaje Yamagata) y se encuentran dentro de las tendencias de estabilidad para las cuatro cepas.

### **Conclusión**

En conclusión, el estudio de compatibilidad del cierre entre el tapón émbolo alternativo de bromobutilo suministrado por el proveedor II y la vacuna antigripal tetravalente (QIV) en condiciones de almacenamiento de tiempo real/ temperatura real hasta los 12 meses de almacenamiento muestra que los resultados cumplen con los criterios de aceptación. Los resultados de 12 meses de almacenamiento a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , además de los datos de calidad presentados en la sección 3.2.P.2.4 Sistema de cierre del envase, permiten llegar a la conclusión de que existe compatibilidad del cierre del envase con la vacuna antigripal tetravalente (QIV) al final de la vida útil.

ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





**SANOFI PASTEUR** 

ANEXO PREGUNTA 1

  
ROYANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TECNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.

