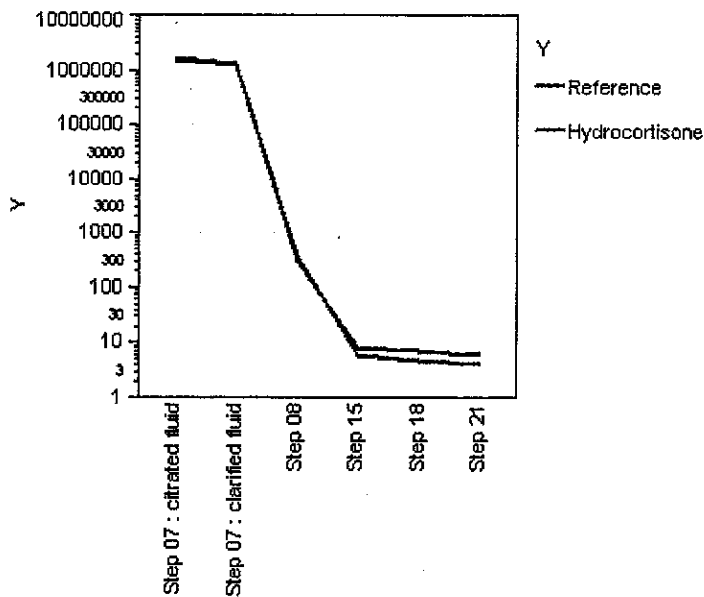




Figura 9: Cambio en la masa (g) de nitrógeno durante el proceso



Este gráfico demuestra que las curvas se pueden superponer perfectamente hasta las etapas 15, 18 y 21, cuando el contenido de nitrógeno proteico se torna más alto en los lotes con hidrocortisona que en los lotes de referencia.

Por consiguiente, la concentración aumenta de 64,5 $\mu\text{g/mL}$ para los lotes de referencia, a 69,2 $\mu\text{g/mL}$ para los lotes con hidrocortisona, es decir, un aumento del 6 % de nitrógeno proteico (y mediante extrapolación, de la masa de proteína) en presencia de hidrocortisona. Este parámetro se debe analizar con respecto al contenido de antígeno HA, cuyos resultados se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14: Etapa de DS: Volumen y contenido de antígeno HA

	Número de lote	Volumen de monovalente (mL)	Contenido de antígeno HA en el monovalente ($\mu\text{g/mL}$)	Masa de antígeno HA (g)
Hidrocortisona	FA357981	90900	159	14,5
	FA357982	78100	165	12,9
	FA357983	81700	159	13,0
	FA357984	110200	150	16,5
Referencia	FA357977	82800	151	12,5
	FA357978	63600	155	9,9
	FA357979	55200	153	8,4
	FA357980	56500	145	8,2



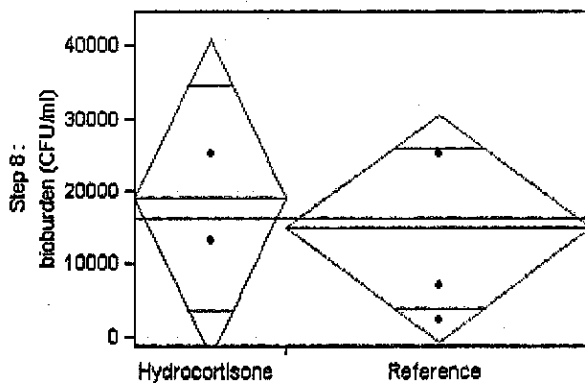
Los resultados muestran que el contenido de antígeno HA es más alto en los lotes con hidrocortisona que en los lotes de referencia, y que esta diferencia es de aproximadamente 5 %. Este aumento del contenido de antígeno HA se debe a la presencia de hidrocortisona, que afecta productividad viral.

El aumento del 6 % en el contenido proteico total observado en la sección anterior refleja directamente este aumento del contenido de antígeno HA de aproximadamente 5 % (el antígeno HA es una glucoproteína). La diferencia del 1 % en el valor absoluto, que se observa entre estos dos resultados, probablemente se relacione con las incertidumbres de los métodos de análisis y el redondeo durante el cálculo.

2.3.2.2.5 Carga microbiana y contenido de endotoxinas

Los resultados del análisis de carga microbiana se presentan en la Figura 10 para la etapa 8 y en la Figura 11 para la etapa 17.

Figura 10: Carga microbiana en la etapa 8 del proceso del DS

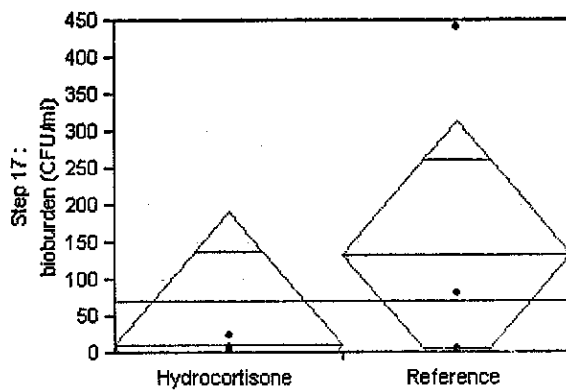


La figura muestra claramente que la presencia de hidrocortisona no modifica la carga microbiana en la etapa 8, dado que los resultados promedio son 19×10^3 (es decir, $4,3 \log_{10}$) microorganismos/mL para los lotes con hidrocortisona frente a 15×10^3 (es decir, $4,2 \log_{10}$) microorganismos/mL para los lotes de referencia. Teniendo en cuenta la variabilidad de la carga microbiana observada habitualmente en esta etapa, estos resultados no se pueden considerar diferentes.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Figura 11: Carga microbiana en la etapa 17 del proceso del DS

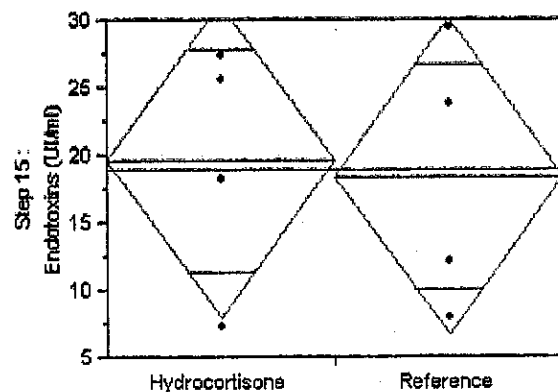


Esta figura muestra que la presencia de hidrocortisona en el inóculo viral no produce un aumento de la carga microbiana en esta etapa.

Por último, los datos del recuento microbiano en la etapa 19 del proceso fueron de 0 UFC/100 mL para los 8 lotes del estudio, que cumplieron en su totalidad con la prueba de esterilidad bacteriana y fúngica (etapa 21).

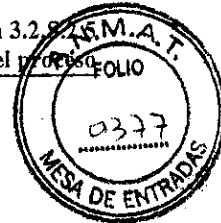
La Figura 12 muestra los resultados del contenido de endotoxinas en la etapa 15 del proceso.

Figura 12: Endotoxinas en la etapa 15 del proceso del DS



Esta figura muestra que la presencia de hidrocortisona en el inóculo viral no afecta el contenido de endotoxinas en esta etapa.

Estos resultados se confirman mediante el análisis de endotoxinas en las etapas 18 y 21, que fueron <0,5 UI/mL para los 8 lotes del estudio.



2.3.2.3 Lotes de uniformidad

Los resultados de las pruebas de liberación de cada lote de uniformidad elaborados con adición de hidrocortisona y sin adición de hidrocortisona se presentan, respectivamente, en la Tabla 15 y en la Tabla 16.

Todos los lotes de uniformidad comparados con las referencias se ajustan a las especificaciones^a.

^a La especificación para el octoxinol 9 para el DS es la misma que la de la TIV. Para el DS de la QIV, la especificación se define como $\leq 800 \mu\text{g/mL}$.

Tabla 15: Cepa B/Brisbane/60/2008, resultados de liberación de lotes del DS (con adición de hidrocortisona)

Parámetro de prueba	Criterio de aceptación	Lote		
		FA357981	FA357982	FA357983
Contenido de antígeno HA (µg/mL)	Para información	159 (153-166)	165 (158-172)	159 (155-163)
Identificación del antígeno HA	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno neuraminidasa (NA)*	Positiva	N/A	N/A	N/A
Contenido de octoxinol 9	≤560 µg/mL†	418 µg/mL	420 µg/mL	418 µg/mL
Esterilidad bacteriana y fúngica	Sin multiplicación microbiana	Cumple	Cumple	Cumple
Virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
				FA357984
				150 (139-162)
				Positiva
				N/A
				438 µg/mL
				Cumple
				Cumple

* NA: No es aplicable, solo para los 3 primeros lotes de DS en cada cambio de WSL.

† La especificación para el octoxinol 9 para el DS es la misma que la de la TIV. Para el DS de la QIV, la especificación se define como ≤800 µg/mL.

ROXANA MONTEMLONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S.A.

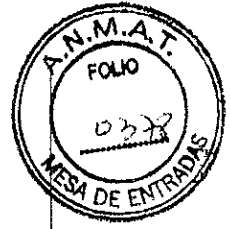


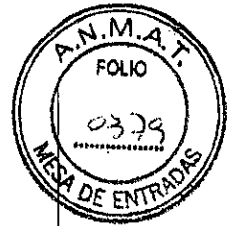
Tabla 16: Cepa B/Brisbane/60/2008, resultados de liberación de lotes del DS (sin adición de hidrocortisona)

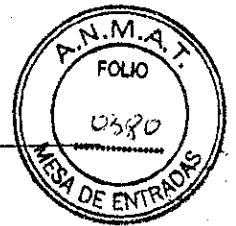
Parámetro de prueba	Criterio de aceptación	Lote			
		FA357977	FA357978	FA357979	FA357980
Contenido de antígeno HA (µg/mL)	Para información	151 (140-163)	155 (148-163)	153 (140-166)	145 (129-163)
Identificación del antígeno HA	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno NA*	Positiva	N/A	N/A	N/A	N/A
Contenido de octoxinol 9	≤560 µg/mL†	427 µg/mL	433 µg/mL	424 µg/mL	446 µg/mL
Esterilidad bacteriana y fúngica	Sin multiplicación microbiana	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

* NA: No es aplicable, solo para los 3 primeros lotes de DS en cada cambio de WSL

† La especificación para el octoxinol 9 para el DS es la misma que la de la TIV. Para el DS de la QIV, la especificación se define como ≤800 □ µg/mL

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.





2.3.2.4 Conclusión sobre la validación de la ausencia de efecto de la hidrocortisona sobre los atributos críticos de calidad

La validación demostró la ausencia de efecto de la hidrocortisona sobre:

- la eliminación de ovoalbúmina y nitrógeno proteico durante el proceso de purificación;
- la eliminación de octoxinol 9;
- la media del contenido de formaldehído presente en el DS;
- la carga microbiana y el contenido de endotoxinas.

2.3.3 Conclusión general

De acuerdo con los resultados que se presentan a continuación, se puede llegar a la conclusión de que el uso de hidrocortisona a una concentración de 40 µg/mL en el inóculo viral no afecta los atributos de calidad del DS.

Se validó la eliminación de la hidrocortisona durante el proceso de elaboración del antígeno gripal, y se demostró que las cantidades de hidrocortisona que podrían estar presentes en una dosis de QIV se reducen hasta cantidades vestigiales.

2.4 Conclusión general sobre el proceso de purificación

Quedó demostrada la capacidad del proceso de purificación para eliminar la neomicina, la ovoalbúmina y la hidrocortisona. Se validó el proceso de purificación.

3 Estudios de validación del proceso de fraccionamiento

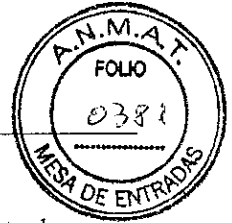
Se validó el proceso de fraccionamiento para las cuatro cepas gripales de la QIV con tres lotes consecutivos de DS.

Este proceso se valida para cada cepa gripal con tres lotes consecutivos del DS para cada WSL nuevo utilizado.

3.1 Protocolo del estudio

La finalidad de este estudio era comparar el tamaño de las partículas virales de la gripe antes y después de fraccionarlas con octoxinol 9, a fin de validar la eficiencia de este paso. El diagrama de flujo de los pasos de elaboración que incluyen fraccionamiento se presenta en la sección 3.2.S.2.2 Elaboración del principio activo.

La eficacia del tratamiento del virus con octoxinol 9 se evaluó para cada cepa viral estudiando el tamaño de las partículas de virus gripal antes del fraccionamiento (dilución hasta llegar a $\Delta DO \approx 7,5$; etapa 15) y después del fraccionamiento (DS: etapa 21). El perfil del tamaño de las partículas es diferente entre los viriones fraccionados y sin fraccionar. El tamaño de las partículas



virales se evaluó por ultracentrifugación isopícnica de la suspensión viral en un gradiente de sacarosa: las partículas virales migran en el gradiente hasta una ubicación donde la densidad de la sacarosa (medida por refractometría) es equivalente a la suya. La concentración de las partículas virales en el gradiente de sacarosa se determinó para cada fracción recolectada de sacarosa por los siguientes métodos:

- Medición de la absorbancia a 280 nm (para estimar el contenido proteico).
- Análisis del contenido de antígeno HA mediante SRID.

La validación se consideró exitosa cuando se observaron valores máximos de contenido de antígeno HA y de contenido proteico:

- En las fracciones “pesadas” (alta concentración de sacarosa, es decir, alrededor del 40 % de sacarosa) para el virus no fraccionado antes del tratamiento con octoxinol 9 (etapa 15).
- En las fracciones “livianas” (baja concentración de sacarosa, es decir, menos de aproximadamente 30 % de sacarosa) para el virus fraccionado después del tratamiento con octoxinol 9 (etapa 21).

Además, siempre debe ser posible detectar el antígeno de HA mediante SRID luego del fraccionamiento, lo cual demuestra que se conserva la antigenicidad de la proteína.

El estudio de validación presentado a continuación se llevó a cabo con los siguientes lotes de producción:

- para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1): FA475281, FA475282 y FA475283;
- para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2): FA493930, A493931 y FA493932;
- Para la cepa B/Massachusetts/02/2012 (B/linaje Yamagata): FA492911, FA492912 y FA492913;
- para la cepa B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria): FA371849, FA371850 y FA371851.

3.2 Resultados: Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes y después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 17 y en la Tabla 18, respectivamente.

3.2.1 Antes del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 17. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 13 (medición de la DO) y en la Figura 14 (contenido de antígeno HA).

Tabla 17: Resultados previos al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 15)

Fracción	FA475281			FA475282			FA475283		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	55	0,1300	0	56,5	0,1743	0	57	0,1813	0
B	53,5	0,1670	0	54,5	0,1681	0	55,5	0,1672	0
C	50	0,1580	0	51	0,1547	0	52	0,1619	0
D	46,5	0,2430	22,2	46,5	0,3411	34,2	48	0,2245	18,1
E	42,5	2,2100	206,0	43	2,4460	234,0	44	1,5090	128,0
F	38	2,4300	220,0	38	3,3060	315,0	40,5	2,3220	211,0
G	33,5	0,8090	104,0	33,5	0,7614	96,2	33,5	1,6200	126,0
H	30	0,2380	27,2	29	0,2460	28,5	31	1,0280	80,0
I	25	0,1080	10,6	25,5	0,1402	12,2	27	0,1846	17,7
J	21	0,0760	<LOD*	22	0,1007	<LOD	23	0,1351	914
K	18	0,0730	<LOD	19	0,0924	<LOD	19,5	0,1154	9,12
L	16	0,1110	<LOD	17	0,1255	10,4	17	0,1663	13,0

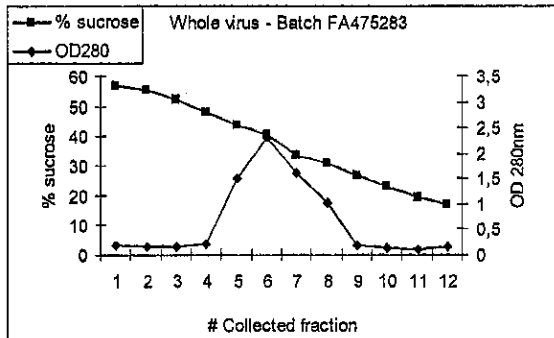
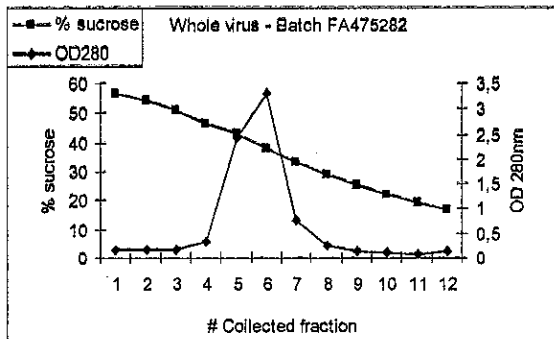
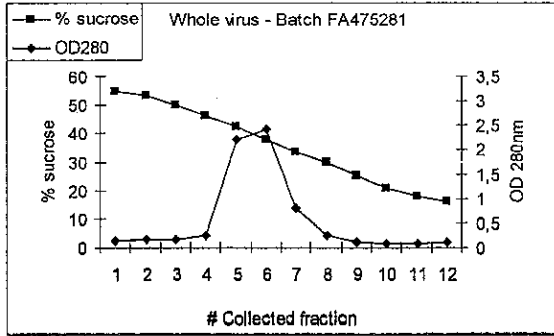
* LOD: Límite de detección

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.





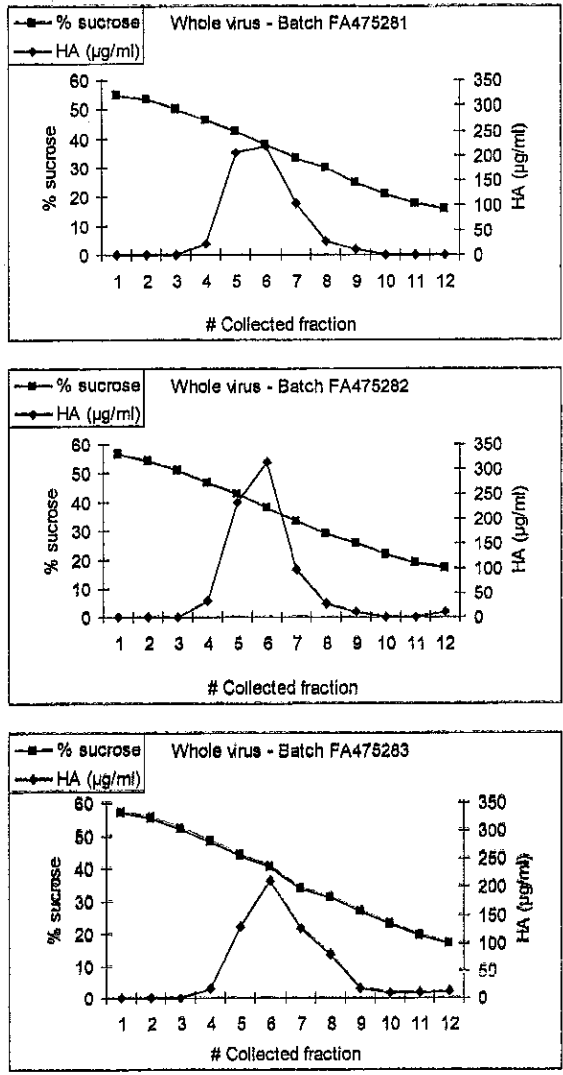
Figura 13: Medición de la DO antes del fraccionamiento (etapa 15)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



Figura 14: Contenido de antígeno HA antes del fraccionamiento (etapa 15)



Los gráficos muestran un pico registrado en las fracciones cercanas al 40 % de sacarosa para las muestras obtenidas antes del fraccionamiento.

3.2.2 Después del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 18. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 15 (medición de la DO) y en la Figura 16 (contenido de antígeno HA).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S.A.

Tabla 18: Resultados posteriores al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 21)

Fracción	FA475281			FA475282			FA475283		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	55,5	0,1650	0	56,5	0,1801	0	55,5	0,1776	0
B	53,5	0,1550	0	54	0,1645	0	53	0,1648	0
C	50,5	0,1570	0	50,5	0,1546	0	49,5	0,1488	0
D	46	0,1450	0	47	0,1365	0	47	0,1463	0
E	42	0,1260	0	43,5	0,1332	0	43	0,1365	0
F	37,5	0,1200	0	38	0,1304	0	38,5	0,1256	0
G	33	0,1130	9,54	33,5	0,1319	11,7	34	0,1243	10,7
H	28,5	0,1100	8,71	29,5	0,1323	10,6	29	0,1147	9,96
I	25	0,1040	10,4	25,5	0,1295	13,2	25	0,1005	<LOD*
J	21,5	0,1300	16,3	21	0,1477	22,8	22	0,1097	10,4
K	18	0,2370	34,4	18	0,2482	37,2	18	0,1722	28,0
L	17,5	0,3460	41,6	15	0,3420	51,5	15,5	0,2777	34,6

* LOD: Límite de detección

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.

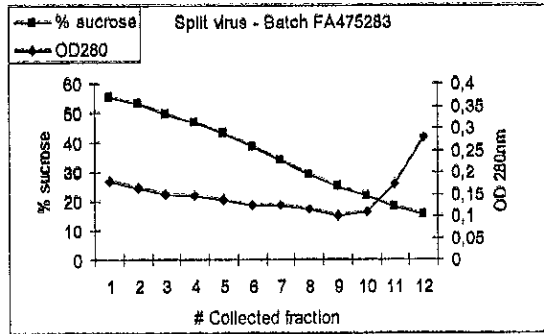
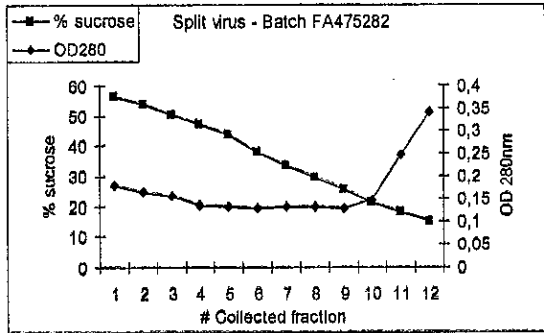
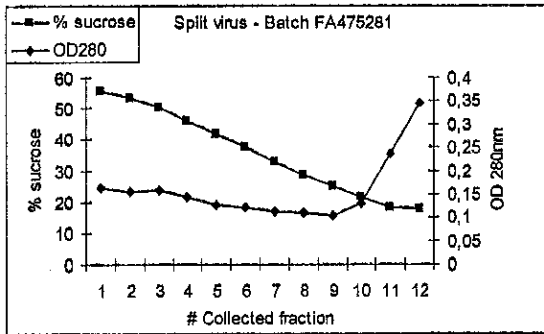
RA_0920053

Confidential/Proprietary Information
Página 44 of 95





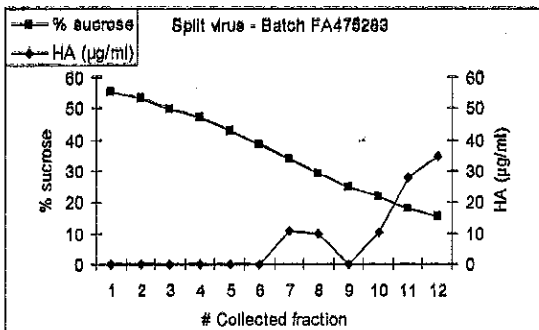
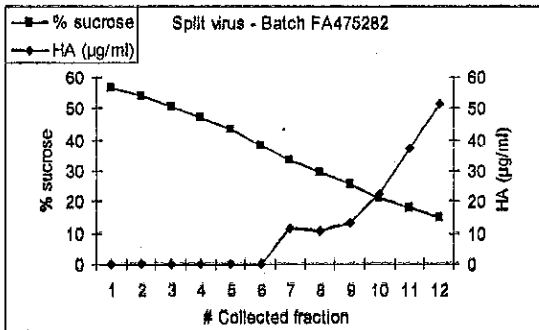
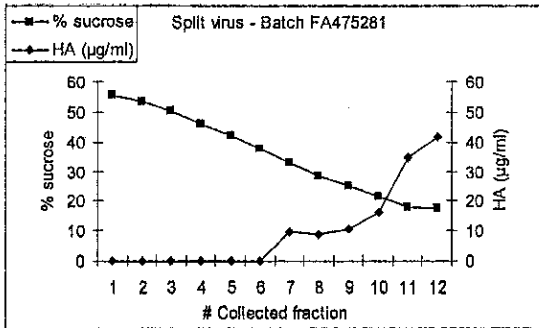
Figura 15: Medición de la DO después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APQDERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



Figura 16: Contenido de antígeno HA después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APQUERADA
 SANOFI PASTEUR S.A.



3.2.3 Análisis de los resultados

1) Antes del fraccionamiento (vea la Figura 13 y la Figura 14)

Para los tres lotes, la DO y los picos de la cantidad de antígeno HA se encuentran en las fracciones de sacarosa cercanas al 40 %, correspondientes al virus entero.

2) Después del fraccionamiento (vea la Figura 15 y la Figura 16)

Los tres lotes muestran un desplazamiento completo de los perfiles de cantidad de antígeno HA del pico del virus entero desde las fracciones de sacarosa de mayor densidad a las fracciones de sacarosa de menor densidad, que corresponden al virus fraccionado.

3) Cumplimiento de los criterios de aceptación

- Se muestra el desplazamiento del pico del virus entero (muestra tomada antes del procesamiento) a las fracciones de menor densidad del gradiente de sacarosa correspondientes al virus fraccionado (muestra tomada después del procesamiento).
- La actividad del antígeno HA se detecta por medio de una prueba de SRID después del procesamiento, lo que demuestra la antigenicidad del producto fraccionado.

Se ha demostrado la eficacia del proceso de fraccionamiento para el DS producido con la cepa A/California/7/2009 NYMC X-179A obtenido del lote de WSL FA356399. Se validó el proceso de fraccionamiento.

3.3 Resultados: Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes y después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 19 y en la Tabla 20, respectivamente.

Cabe destacar que las determinaciones de contenido de antígeno HA se realizaron mediante el método de SRID, utilizando el antígeno heterogéneo A/Victoria/361/2011. En la fecha del estudio, el antígeno homogéneo todavía no estaba disponible.

3.3.1 Antes del fraccionamiento

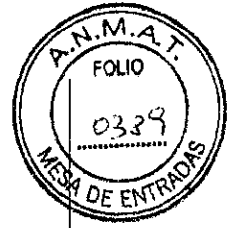
Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 19. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 17 (medición de la DO) y en la Figura 18 (contenido de antígeno HA).

Tabla 19: Resultados previos al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 15)

Fracción	FA493930			FA493931			FA493932		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	55	0,1724	0	57	0,1681	0	57	0,1733	0
B	55	0,1672	0	55,5	0,1643	0	56	0,166	0
C	52	0,1614	0	52	0,162	0	52,5	0,1569	0
D	48	0,2575	24,6	48	0,2065	17,9	48,5	0,1751	14,5
E	43	2,268	258	43,5	2,095	201	44	2,222	188
F	38	3,302	369	39	3,233	277	39	3,906	335
G	33	0,4738	54	33	0,6467	73,6	33,5	0,5993	66,7
H	27,5	0,1829	16,7	27	0,1893	17,6	27	0,1871	17,7
I	23	0,0996	<LOD*	21,5	0,0946	<LOD	22	0,0946	<LOD
J	19	0,0738	<LOD	17,5	0,0646	<LOD	18	0,0723	<LOD
K	16	0,0699	<LOD	14,5	0,0661	<LOD	14,5	0,066	<LOD
L	13	0,0989	<LOD	13	0,0984	<LOD	12	0,116	<LOD

* LOD: Límite de detección

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



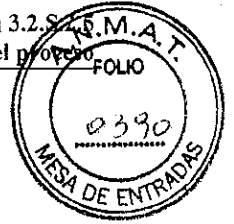
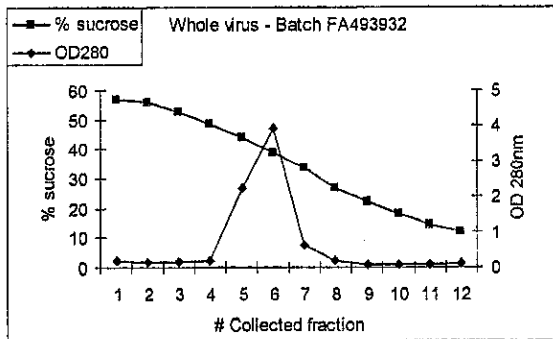
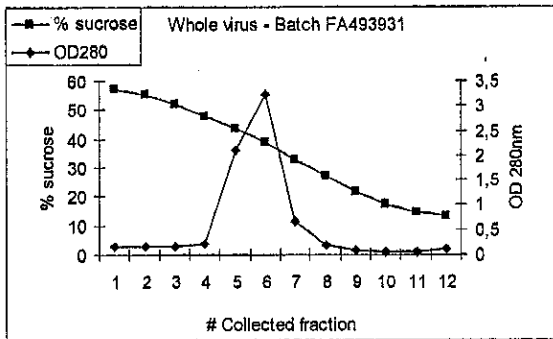
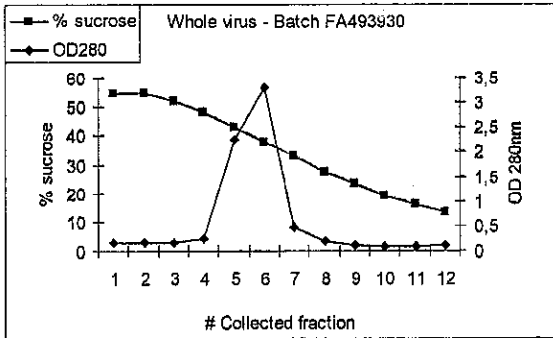


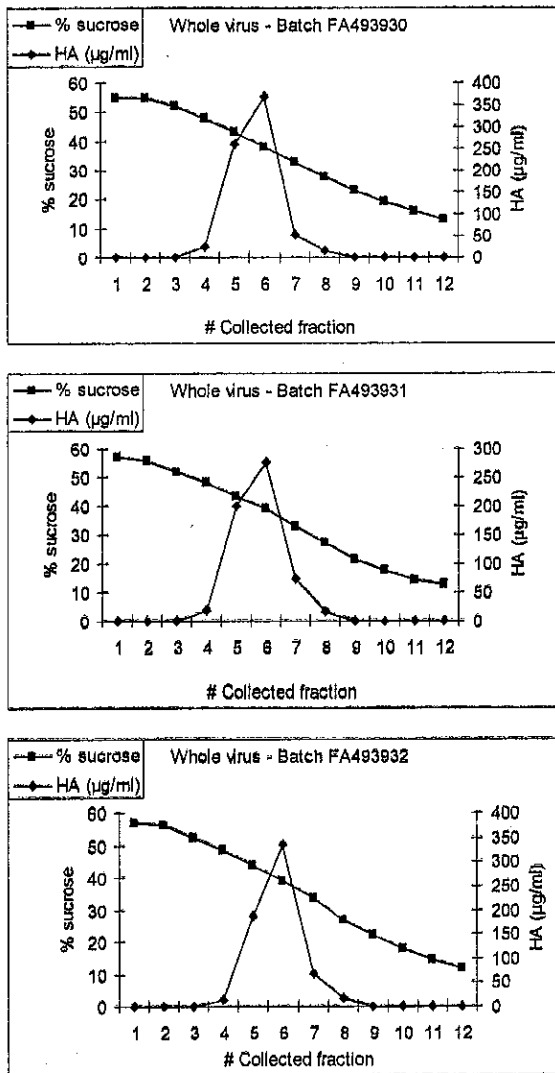
Figura 17: Medición de la DO antes del fraccionamiento (etapa 15)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR, S. A.



Figura 18: Contenido de antígeno HA antes del fraccionamiento (etapa 15)



Los gráficos muestran un pico registrado en las fracciones cercanas al 40 % de sacarosa para las muestras obtenidas antes del fraccionamiento.

3.3.2 Después del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 20. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 19 (medición de la DO) y en la Figura 20 (contenido de antígeno HA).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

Tabla 20: Resultados posteriores al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 21)

Fracción	FA493930			FA493931			FA493932		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	56,5	0,1772	0	55,5	0,1698	0	56,5	0,1678	0
B	55,5	0,168	0	55	0,1629	0	55,5	0,1641	0
C	52,5	0,1549	0	52,5	0,1495	0	52	0,1528	0
D	48,5	0,1438	0	49,5	0,1414	0	47	0,1381	0
E	44	0,1332	0	44,5	0,1292	0	42,5	0,1315	0
F	39	0,1201	0	40	0,1125	0	37	0,1094	0
G	33,5	0,1001	0	35	0,0948	0	32	0,0911	0
H	28,5	0,0799	0	29,5	0,0804	0	27	0,0773	0
I	24,5	0,0712	0	24	0,0754	<LOD	23	0,0817	<LOD
J	21	0,0756	<LOD*	20	0,0826	11,5	19,5	0,1059	11,9
K	18,5	0,1076	16,1	17	0,1226	23,9	16	0,177	33,9
L	16	0,1978	25,2	14,5	0,1891	21	12,5	0,3629	43,2

* LOD: Límite de detección

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.

RA_0920053

Confidential/Proprietary Information
Página 51 of 95

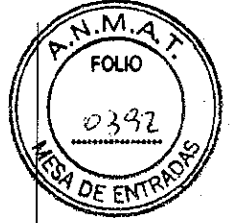
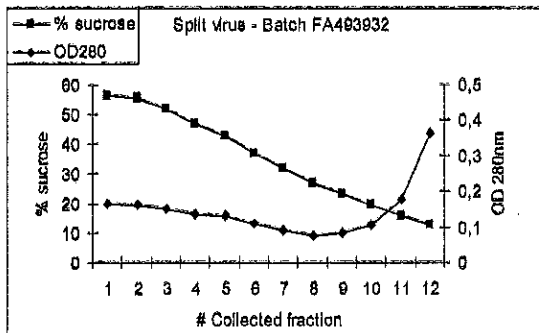
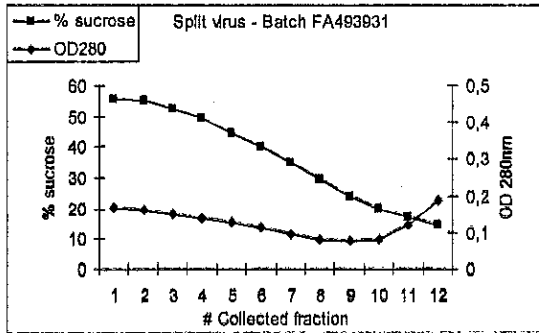
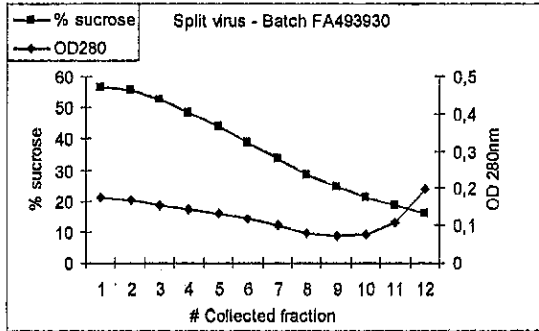




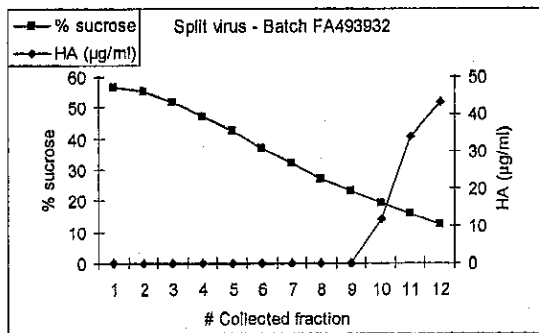
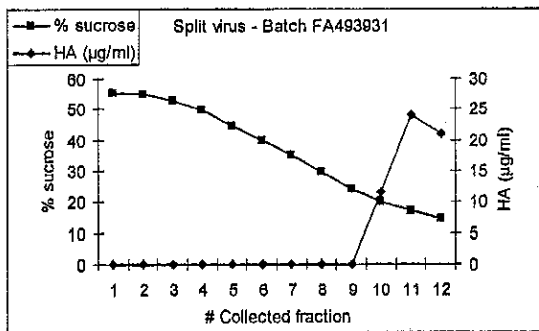
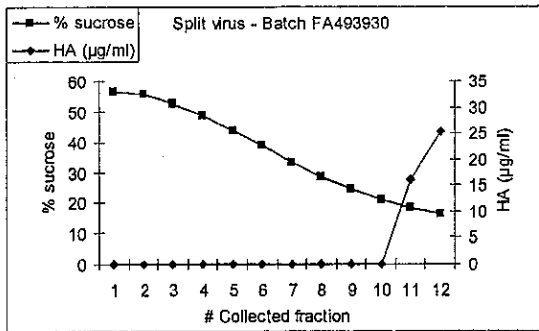
Figura 19: Medición de la DO después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TECNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Figura 20: Contenido de antígeno HA después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMLONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



3.3.3 Análisis de los resultados

1) Antes del fraccionamiento (vea la Figura 17 y la Figura 18)

Para los tres lotes, la DO y los picos de la cantidad de antígeno HA se encuentran en las fracciones de sacarosa cercanas al 40 %, correspondientes al virus entero.

2) Después del fraccionamiento (vea la Figura 19 y la Figura 20)

Los tres lotes muestran un desplazamiento completo de los perfiles de cantidad de antígeno HA del pico del virus entero desde las fracciones de sacarosa de mayor densidad a las fracciones de sacarosa de menor densidad, que corresponden al virus fraccionado.

3) Cumplimiento de los criterios de aceptación

- Se muestra el desplazamiento del pico del virus entero (muestra tomada antes del procesamiento) a las fracciones de menor densidad del gradiente de sacarosa correspondientes al virus fraccionado (muestra tomada después del procesamiento).
- La actividad del antígeno HA se detecta por medio de una prueba de SRID después del procesamiento, lo que demuestra la antigenicidad del producto fraccionado.

Se ha demostrado la eficacia del proceso de fraccionamiento para el monovalente producido con la cepa A/Texas/50/2012 NYMC X-223A obtenido del lote de WSL FA492096. Se validó el proceso de fraccionamiento.

3.4 Resultados: Cepa B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria)

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes y después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 21 y en la Tabla 22, respectivamente.

3.4.1 Antes del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 21. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 21 (medición de la DO) y en la Figura 22 (contenido de antígeno HA).

Tabla 21: Resultados previos al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 15)

Fracción	FA371849			FA371850			FA371851		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	56,5	0,1184	<LOD*	57	0,1054	<LOD	57,5	0,1243	<LOD
B	55	0,1063	<LOD	56	0,1005	<LOD	56	0,1195	<LOD
C	52	0,1093	<LOD	52,5	0,1001	<LOD	52	0,1053	<LOD
D	48,5	0,1447	14,2	47,5	0,3932	47,5	46,5	0,8307	105
E	44,5	1,1747	148	42,5	4,146	306	41,5	4,253	308
F	39,5	3,418	242	37	1,2197	141	36	0,838	86,6
G	34,5	0,8159	89,4	32,5	0,2546	24	30,5	0,2159	20
H	29	0,2018	20,1	27,5	0,1215	12,3	25,5	0,1151	9
I	24	0,1145	9,9	24	0,0684	<LOD	22,5	0,0822	10,9
J	20	0,0868	8,6	20,5	0,0466	<LOD	20	0,0709	7,6
K	17	0,1063	<LOD	17	0,042	<LOD	17	0,0819	8,3
L	15	0,1504	12,8	13,5	0,1305	8,9	15	0,2045	13,5

* LOD: Límite de detección

HOXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.

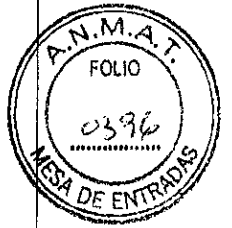
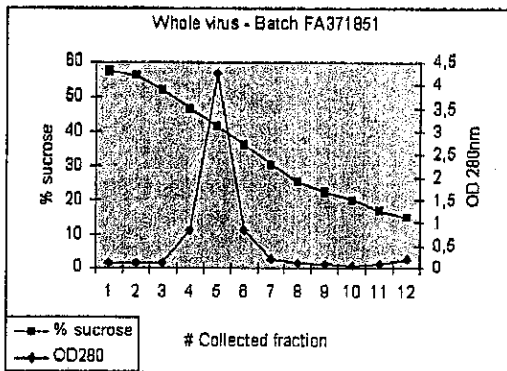
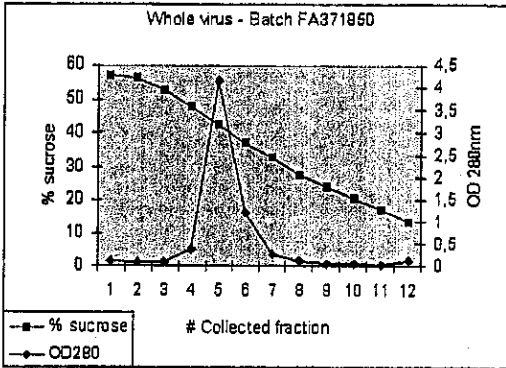
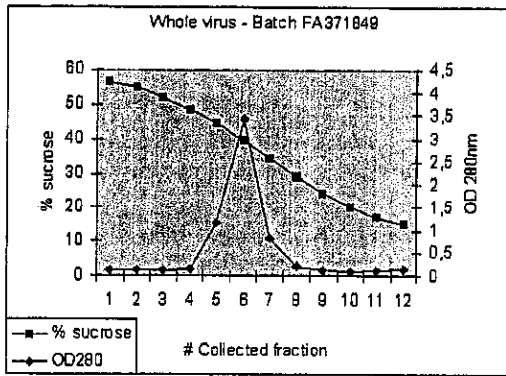




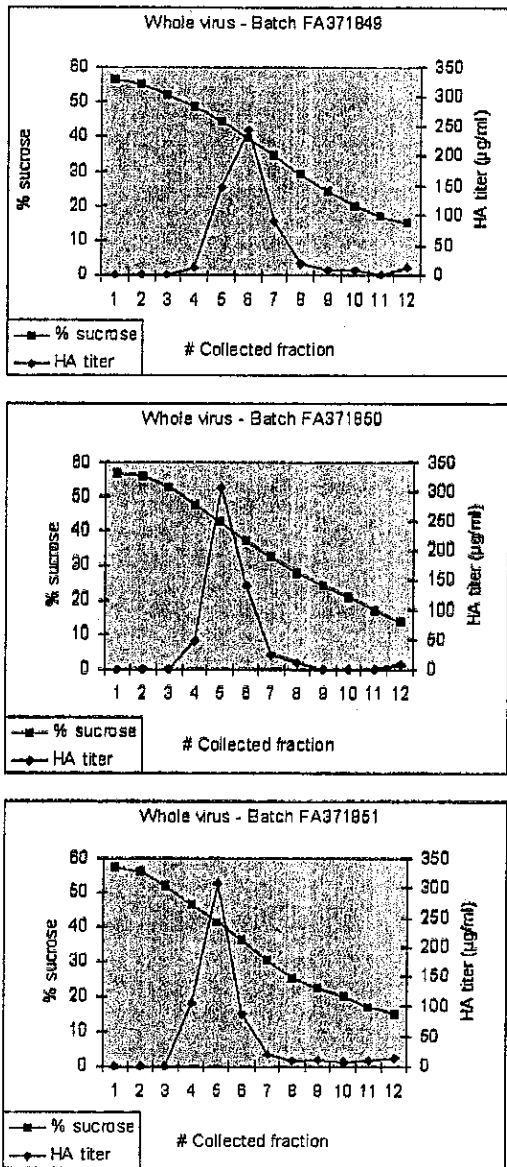
Figura 21: Medición de la DO antes del fraccionamiento (etapa 15)



ROXIANA MONTMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
ARODERADA
SANOFI PASTEUR S.A



Figura 22: Contenido de antígeno HA antes del fraccionamiento (etapa 15)



3.4.2 Después del fraccionamiento

Los resultados de cada fracción recolectada después de agregar octoxinol 9 se muestran en gráficos y se pueden encontrar en la Figura 23 (medición de la DO) y en la Figura 24 (contenido de antígeno HA).

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

Tabla 22: Resultados después del fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 21)

Fracción	FA371849			FA371850			FA371851		
	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	58	0,1388	<LOD*	56	0,1009	<LOD	57,5	0,1232	<LOD
B	55,5	0,1291	<LOD	55	0,0938	<LOD	55,5	0,1148	<LOD
C	52,5	0,1349	<LOD	52,5	0,0884	<LOD	51	0,1058	<LOD
D	48	0,1173	<LOD	48	0,0843	<LOD	46	0,094	<LOD
E	43,5	0,1005	<LOD	43	0,0687	<LOD	41,5	0,086	<LOD
F	39	0,1013	<LOD	37,5	0,0587	<LOD	36	0,0828	<LOD
G	33,5	0,087	<LOD	32	0,0515	<LOD	31	0,0703	<LOD
H	28	0,0646	<LOD	27,5	0,0495	<LOD	26	0,0694	<LOD
I	24	0,0795	<LOD	23,5	0,064	<LOD	22,5	0,0866	<LOD
J	20,5	0,1174	10,7	19,5	0,114	12,2	19	0,1671	21
K	16,5	0,2261	34,1	15,5	0,268	41,6	17	0,2384	23,6
L	13,5	0,3114	39,9	13	0,4018	39	13,5	0,3871	21,9

* LOD: Límite de detección

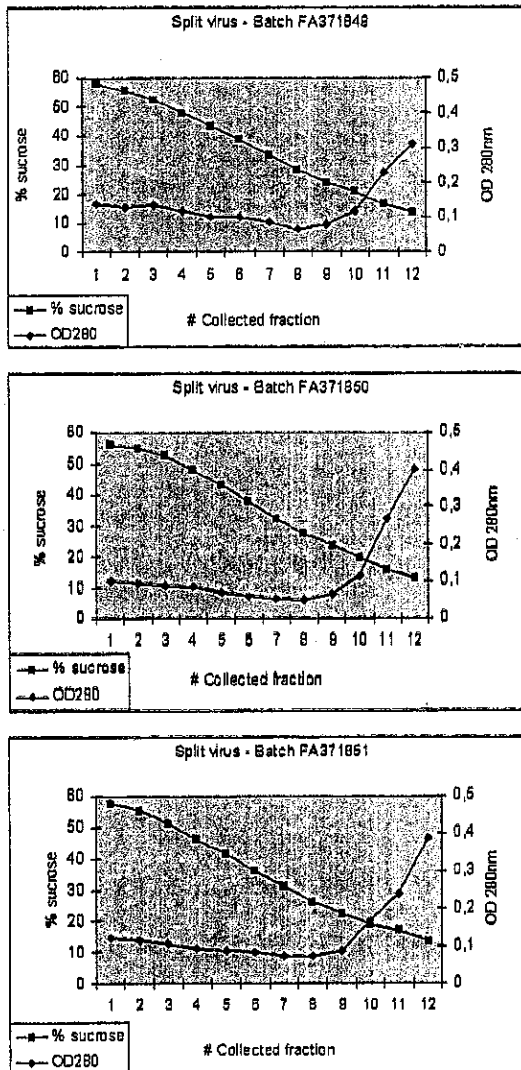
ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APOCERADA
SANOFI PASTEUR S. A.







Figura 23: DO después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TECNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.

