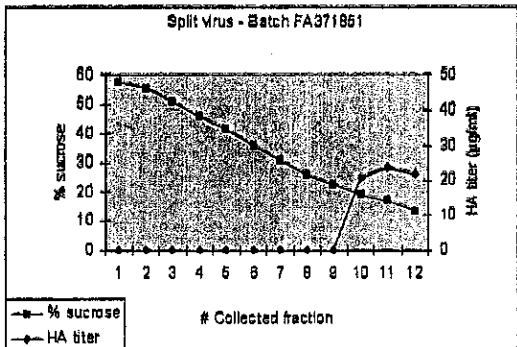
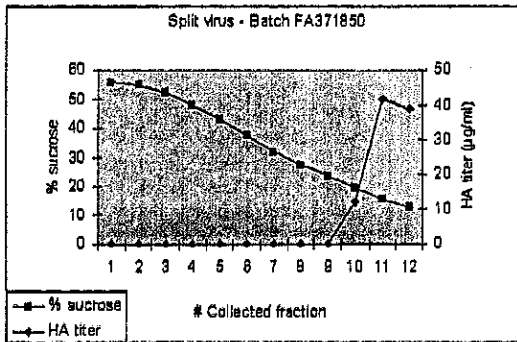
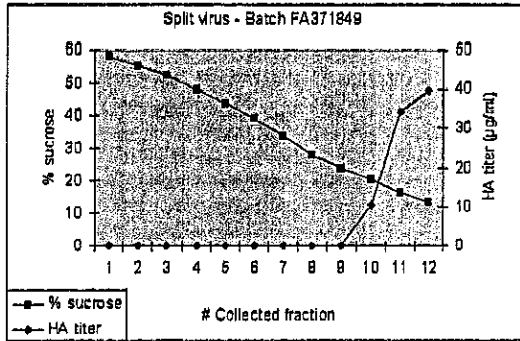




Figura 24: Contenido de antígeno HA después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



3.4.3 Análisis de los resultados

1) Antes del fraccionamiento (vea la Figura 21 y la Figura 22)

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 23 y la Figura 24)

- Los tres lotes demuestran un desplazamiento completo de los perfiles de cantidad de antígeno HA del pico del virus entero desde las fracciones de sacarosa de mayor densidad (cercanas al 40 % de sacarosa) a las fracciones de sacarosa de menor densidad (cercanas al 20 % de sacarosa) 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 B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria) obtenido del lote de WSL FA347108. Se validó el proceso de fraccionamiento.

Para la cepa B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria), la validación del fraccionamiento se llevó a cabo con DS del WSL FA347108. Dado que no había más viales del lote FA347108, se utilizó un nuevo lote de WSL FA413887 para elaborar el DS de TIV y QIV. El MSL utilizado para la producción de los dos WSL fue el mismo (lote FA338855) y el número de pasajes entre el MSL y los dos WSL fue el mismo.

Para demostrar que los productos obtenidos con ambos WSL son similares se llevó a cabo un estudio de biocomparabilidad:

- con los dos lotes de WSL, FA347108 y FA413887;
- con lotes de DS de la vacuna antigripal trivalente obtenida de estos WSL.

En la Tabla 17 se presentan las pruebas realizadas con el WSL y el DS y se resumen los resultados obtenidos durante este estudio.



Tabla 23: Resumen del estudio de biocomparabilidad del lote FA347108 y del lote FA413887 de WSL

Etapa	Prueba	Resultado de biocomparabilidad	Conclusión
WSL	Identidad del antígeno HA	Comparable	Misma estructura y epitopos del antígeno HA
	Secuenciación de genes del antígeno HA	Comparable	Misma composición de aminoácidos del antígeno HA
	Secuenciación de genes de NA	Comparable	Composición de aminoácidos de NA comparable (1 diferencia conservadora informada).
	Título infeccioso	Comparable	Mismas condiciones de cultivo viral (ligera diferencia informada en la etapa de WSL, compensada por el factor de dilución del vial de siembra durante la etapa 3 del proceso del granel monovalente).
Principio activo	Identidad del antígeno HA	Comparable	Misma estructura y epitopos del antígeno HA
	SDS PAGE	Comparable	Mismo patrón antigénico del producto. Mismo perfil de pureza del producto.
	DSC	Comparable	Igual perfil termodinámico del producto.
	RP HPLC	Comparable	Mismas propiedades hidrófobas de la HA1.

El estudio permite llegar a la conclusión de que los dos WSL (lote FA347108 y lote FA413887) y el de DS son biocomparables. Por lo tanto, la validación del fraccionamiento realizada con el DS del lote FA347108 se aplica a los del lote FA413887.

Este método de biocomparabilidad se utilizó en el contexto de la vacuna antigripal trivalente. Para la vacuna antigripal tetravalente, el proceso de fraccionamiento se validará para cada cepa gripal con tres lotes consecutivos de DS para cada WSL nuevo utilizado.

3.5 Resultados: Cepa B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes y después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 24 y en la Tabla 25, respectivamente.

Cabe destacar que las determinaciones de contenido de antígeno HA se realizaron mediante el método de SRID, utilizando el antígeno heterogéneo B/Hubei Wujiangang/158/2009. En la fecha del estudio, el antígeno homogéneo todavía no estaba disponible.

3.5.1 Antes del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada antes de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 24. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 25 (medición de la DO) y en la Figura 26 (contenido de antígeno HA).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APROBADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

Tabla 24: Resultados previos al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 15)

Fracción	FA492911			FA492912			FA492913		
	% 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	57	0,1686	0	58	0,1708	0	57	0,1699	0
B	56	0,1687	0	56,5	0,1652	0	56	0,1579	0
C	52	0,1722	0	52,5	0,1713	0	52,5	0,1708	0
D	48	0,4468	78,4	48	0,3676	43,4	48	0,3704	46,7
E	44	2,298	290	43	3,821	485	43,5	3,92	477
F	39,5	2,645	334	38	1,913	219	38,5	2,919	328
G	35	0,5914	95	33	0,3353	38,2	33	0,3536	45,6
H	30	0,1965	21,9	28,5	0,1533	15,1	28,5	0,1627	16,7
I	26	0,1152	10,5	24,5	0,1054	11,9	24,5	0,1086	10,2
J	23	0,0905	<LOD*	20,5	0,0829	<LOD	21	0,0827	<LOD
K	19	0,0811	<LOD	17	0,071	<LOD	18,5	0,0665	<LOD
L	16	0,1237	10,3	14	0,109	10,6	15	0,1164	12

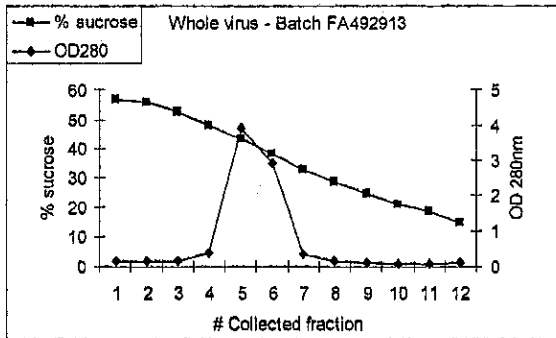
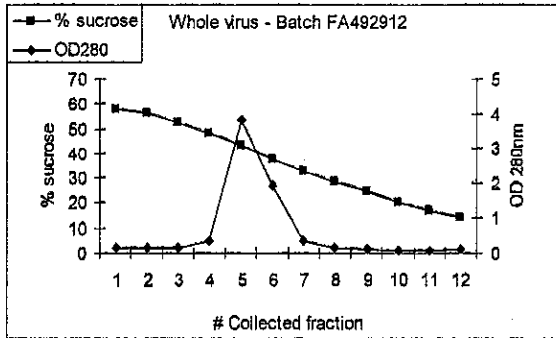
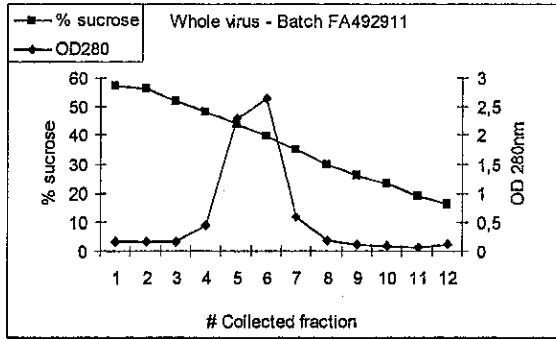
* LOD: Limite de detección

ROXANA MONTEMILOTT
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A





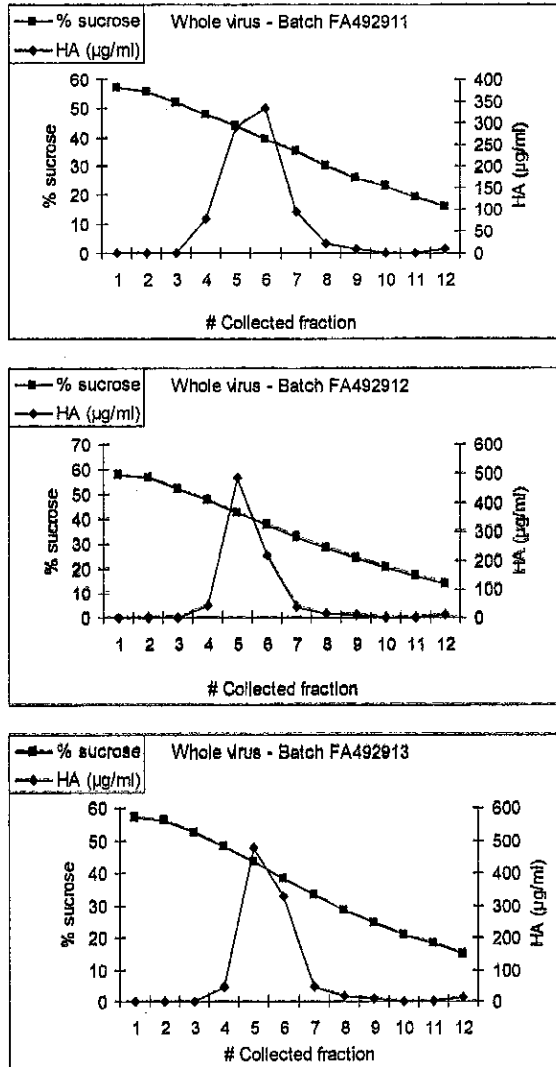
Figura 25: Medición de la DO antes del fraccionamiento (etapa 15)



ROXANA MONTEMILO
DIRECTORA TÉCNICA
ARDEBERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Figura 26: 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.

3.5.2 Después del fraccionamiento

Los resultados correspondientes a cada fracción recolectada después de añadir el octoxinol 9 se presentan en la Tabla 25. La representación gráfica de estos resultados se encuentra en la Figura 27 (medición de la DO) y en la Figura 28 (contenido de antígeno HA).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

Tabla 25: Resultados posteriores al fraccionamiento con octoxinol 9 (etapa 21)

Fracción	FA492911				FA492912				FA492913			
	% 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)	% de sacarosa	DO a 280 nm	Contenido de antígeno HA (µg/mL)
A	57	0,1666	0	58	0,1747	0	57,5	0,1719	0	0,1719	0	
B	55	0,1768	0	56,5	0,1649	0	55	0,1541	0	0,1541	0	
C	52	0,182	0	52	0,1516	0	51,5	0,1582	0	0,1582	0	
D	47,5	0,1535	0	47	0,1469	0	47	0,1333	0	0,1333	0	
E	42,5	0,1398	0	42,5	0,12	0	42,5	0,1293	0	0,1293	0	
F	38	0,118	0	38	0,1053	0	37,5	0,1016	0	0,1016	0	
G	33	0,0923	0	33	0,0887	0	32	0,0889	0	0,0889	0	
H	30	0,0962	0	28,5	0,0727	0	28	0,0777	0	0,0777	0	
I	26	0,1169	13,7	24,5	0,0641	0	24,5	0,1092	13,2	0,1092	13,2	
J	22	0,2066	35,8	21	0,0686	<LOD*	22	0,1269	16,4	0,1269	16,4	
K	25	0,1633	25,6	19	0,1006	10,7	20,5	0,1553	21,5	0,1553	21,5	
L	25,5	0,2147	31,9	16,5	0,1623	22,8	15,5	0,3157	58,9	0,3157	58,9	

* LOD: Límite de detección

ROXANA MONTEMILOTT
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.

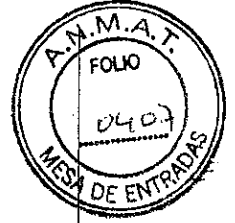




Figura 27: Medición de la DO después del fraccionamiento (etapa 21)

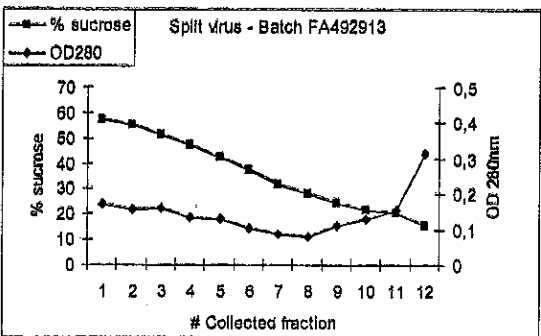
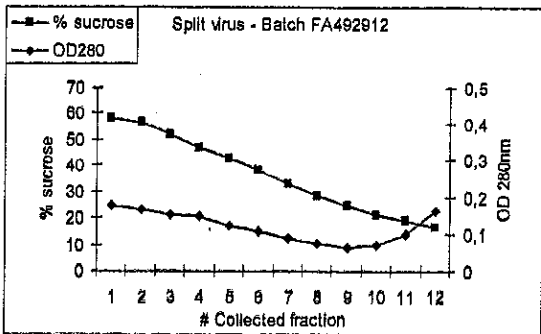
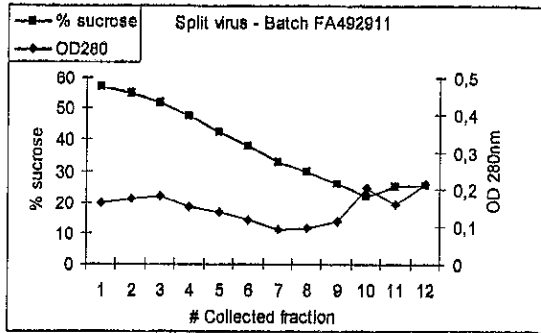
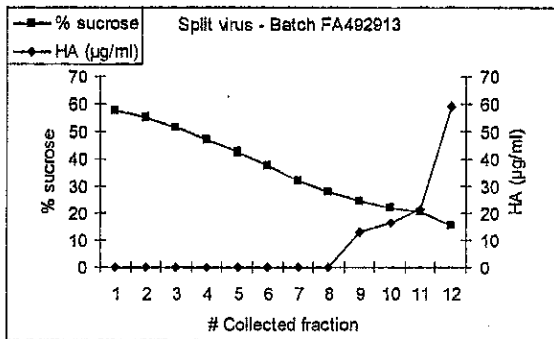
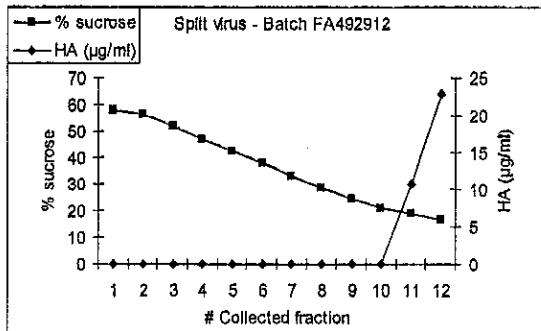
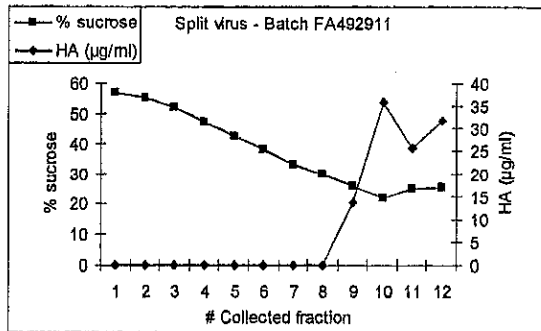




Figura 28: Contenido de antígeno HA después del fraccionamiento (etapa 21)



ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



4 Estudios de validación del proceso de inactivación

El proceso de inactivación se validó 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.

4.1 Protocolo del estudio

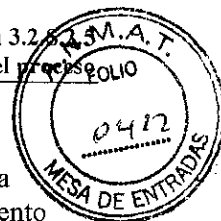
Este estudio pretende evaluar la cinética de la inactivación viral durante el tratamiento con formaldehído. La inactivación del virus de la gripe es resultado de los efectos combinados y sucesivos del fraccionamiento con octoxinol 9 y el tratamiento con formaldehído. Para obtener información sobre el paso de inactivación, vea la sección 3.2.S.2.2 Elaboración del principio activo.

El proceso de inactivación se evaluó en tres lotes industriales de DS de cada cepa viral, por medio de las siguientes mediciones:

- 1) Cinética de inactivación durante el tratamiento con formaldehído: se tomaron muestras para determinar el título infeccioso en los siguientes momentos de medición:
 - Antes del tratamiento con octoxinol 9 (final de la etapa 15 correspondiente a la dilución para obtener una $\Delta DO \approx 7,5$).
 - Momento 0 antes de la adición de la solución de formaldehído (T_0 al final de la etapa 18 correspondiente a la dilución para obtener una $\Delta DO \approx 2,5$).
 - momento 0 inmediatamente después de la transferencia de la suspensión al área de inactivación ($T_{0+\epsilon}$):
 - momento 0 + 5 horas a $+20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ (T_{5H});
 - momento 0 + 10 horas a $+20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ (T_{10H});
 - momento 0 + 15 horas a $+20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ (T_{15H});
 - momento 0 + 25 horas a $+20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ (T_{25H});
 - momento 0 + 25 + 24 horas (correspondiente a T_{25H} seguido por 24 horas a $+5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, T_{25+24H}).

Se evaluó el título infeccioso en huevos. Las muestras se trataron primero con bisulfito de sodio para neutralizar el formaldehído.

- 2) Control de la inactivación (todos los momentos de medición desde T_0 hasta T_{25+24H} inclusive): esta prueba consistió en dos pasajes adicionales en huevos luego de la prueba de título infeccioso; cada pasaje iba seguido de una prueba de hemaglutinación.



El diseño de la combinación de pruebas, es decir, la determinación del título infeccioso y la prueba de control de la inactivación, se resume en la Tabla 26 (presentación del procedimiento operativo por dilución de la muestra).

Tabla 26: Resumen de la combinación del título infeccioso, control de inactivación por dilución

Título infeccioso*			⇒	Subcultivo 1*			⇒	Subcultivo 2*			⇒	Prueba de HA y cálculo del título infeccioso
Huevo 1	Incubación	Prueba de HA†		Huevo 1 bis	Incubación	Prueba de HA		Huevo 1 ter	Incubación	Prueba de HA		+/-
Huevo 2	Incubación	+/-	⇒	Huevo 2 bis	Incubación	+/-	⇒	Huevo 2 ter	Incubación	⇒	+/-	
Huevo 3	Incubación	+/-	⇒	Huevo 3 bis	Incubación	+/-	⇒	Huevo 3 ter	Incubación	⇒	+/-	
Huevo 4	Incubación	+/-	⇒	Huevo 4 bis	Incubación	+/-	⇒	Huevo 4 ter	Incubación	⇒	+/-	
Huevo 5	Incubación	+/-	⇒	Huevo 5 bis	Incubación	+/-	⇒	Huevo 5 ter	Incubación	⇒	+/-	

* Todas las pruebas se realizan utilizando 5 huevos en todos los casos; se acepta generalmente una mortalidad de huevos del 20 % (vea la Ph. Eur. 0158), lo que en ocasiones produce resultados en menos de 5 huevos.

† Prueba de HA: prueba de hemaglutinación

3) Análisis de formaldehído en T_{0+E}, T_{25H} y T_{25+24H}.

- Titulación de formaldehído en la etapa T_{0+E} antes de la adición de bisulfito de sodio para confirmar la cantidad de formaldehído añadido.
- Titulación de formaldehído en la etapa T_{25H} y T_{25+24H} antes de la adición de bisulfito de sodio para confirmar la cantidad de formaldehído añadido y después de la adición de bisulfito de sodio para confirmar la neutralización del formaldehído.

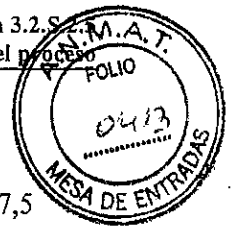
4) Análisis de proteínas inmediatamente antes de añadir la solución de formaldehído (después de la dilución hasta llegar a ΔDO ≈ 2,5, etapa 18).

La prueba se considera válida si:

- La mortalidad de huevos para cada etapa es menor que 20 %.
- La hemaglutinación es positiva para el control positivo.
- La hemaglutinación es negativa para el control negativo.
- No hay ninguna desviación en el proceso que pudiera afectar el paso de inactivación.

Los criterios de aceptación del análisis son los siguientes:

- La inactivación completa debe producirse en la etapa T₀ + 25 h a más tardar.



- La cinética se evaluará según los títulos infecciosos encontrados en distintas etapas: esperamos una disminución del título infeccioso hallado desde las etapas con ΔDO de 7,5 hasta $T0 + 25 h + 24 h$.

Cabe destacar que los criterios de validez y aceptación presentados anteriormente se establecieron para las cepas A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) y B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)

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, FA493931 y FA493932;
- Para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata): FA492911, FA492912 y FA492913;
- para la cepa B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria): FA371849, FA371850 y FA371851.

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

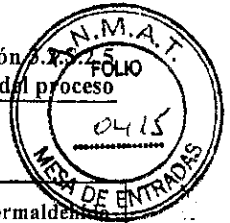
La evaluación de la inactivación de la vacuna antigripal se realizó en los lotes de producción FA475281, FA475282 y FA475283. Los resultados referidos al título infeccioso, a la prueba de control de la inactivación y al contenido de formaldehído residual se detallan en la Tabla 27, en la Tabla 28 y en la Tabla 29.

Los resultados del contenido proteico expresado en nitrógeno total se presentan en la Tabla 30.



Tabla 27: Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), validación de la inactivación, lote FA475281

Momento de medición	Título infeccioso (EID ₅₀ /mL)	Virus infecciosos residuales				Contenido de formaldehído residual (µg/mL)	
		Subcultivo 1		Subcultivo 2		Antes de la adición de bisulfito de sodio	Después de la adición de bisulfito de sodio
		Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos	Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos		
Antes del octoxinol 9	11,8	/	/	/	/	/	/
T0	3,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	5/5 5/5 4/5 0/5 0/4 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	5/5 5/5 5/5 0/5 0/4 0/5	/	/
T0 + e	<1,0	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	4/5 0/4 0/5 0/5 0/5 0/4	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴	4/5 0/4 0/5 0/5 0/4	84,5	/
T0 + 5h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴	0/5 0/5 0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/4 0/5 0/5 0/4	/	/
T0 + 10h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/4 0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/4 0/5 0/5 0/5	/	/
T0 + 15h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/5 0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/5 0/5 0/5	/	/
T0 + 25h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/5 0/5 0/4	84,7	3,3
T0 + 25h + 24h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/4	84,9	3,2



Momento de medición	Título infeccioso (EID ₅₀ /mL)	Virus infecciosos residuales				Contenido de formaldehído residual (µg/mL)	
		Subcultivo 1		Subcultivo 2		Antes de la adición de bisulfito de sodio	Después de la adición de bisulfito de sodio
		Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos	Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos		
		10 ⁻¹	0/5	10 ⁻¹	0/5		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S.A.

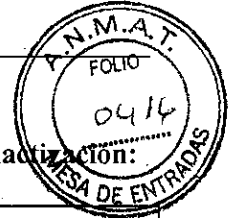


Tabla 28: Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), validación de la inactivación:
 lote FA475282

Momento de medición	Título infeccioso (EID ₅₀ /mL)	Virus infecciosos residuales				Contenido de formaldehído residual (µg/mL)	
		Subcultivo 1		Subcultivo 2		Antes de la adición de bisulfito de sodio	Después de la adición de bisulfito de sodio
		Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos	Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos		
Antes del octoxinol 9	11,2	/	/	/	/	/	/
T0	2,2	Sin diluir	5/5	Sin diluir	5/5	/	/
		10 ⁻¹	5/5	10 ⁻¹	5/5		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		
		10 ⁻³	0/5	10 ⁻³	0/5		
		10 ⁻⁴	0/5	10 ⁻⁴	0/5		
		10 ⁻⁵	0/5	10 ⁻⁵	0/5		
T0 + 8	3,2*	Sin diluir	5/5	Sin diluir	4/4	83,7	/
		10 ⁻¹	5/5	10 ⁻¹	5/5		
		10 ⁻²	2/4	10 ⁻²	4/4		
		10 ⁻³	0/4	10 ⁻³	0/5		
		10 ⁻⁴	0/5	10 ⁻⁴	0/5		
		10 ⁻⁵	0/5				
T0 + 5h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/5	/	/
		10 ⁻¹	0/5	10 ⁻¹	0/5		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		
		10 ⁻³	0/4	10 ⁻³	0/4		
		10 ⁻⁴	0/5				
T0 + 10h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/5	/	/
		10 ⁻¹	0/5	10 ⁻¹	0/5		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		
		10 ⁻³	0/5				
T0 + 15h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/5	/	/
		10 ⁻¹	0/4	10 ⁻¹	0/4		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		
T0 + 25h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/5	84,1	3,6
		10 ⁻¹	0/5	10 ⁻¹	0/5		
		10 ⁻²	0/4	10 ⁻²	0/4		
T0 + 25h + 24h	<0,2	Sin diluir	0/5	Sin diluir	0/5	84,1	3,6
		10 ⁻¹	0/5	10 ⁻¹	0/5		
		10 ⁻²	0/5	10 ⁻²	0/5		



* Los títulos infecciosos en T0 y T0 + ε se consideran idénticos. La variación que se observa en la dilución de la milésima no es significativa.

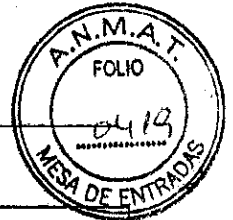
ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Tabla 29: Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), validación de la inactivación, lote FA475283

Momento de medición	Título infeccioso (EID ₅₀ /mL)	Virus infecciosos residuales				Contenido de formaldehído residual (µg/mL)	
		Subcultivo 1		Subcultivo 2		Antes de la adición de bisulfito de sodio	Después de la adición de bisulfito de sodio
		Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos	Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos		
Antes del octoxinol 9	11,0	/	/	/	/	/	/
T0	4,0	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	4/4 5/5 5/5 3/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	4/4 5/5 5/5 4/5 0/5 0/5	/	/
T0 + e	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	0/4 0/5 0/5 0/4 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴	0/4 0/5 0/4 0/4 0/5	88,4	/
T0 + 5h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³ 10 ⁻⁴	0/5 0/5 0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/5 0/5 0/5 0/5	/	/
T0 + 10h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/5 0/5 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	0/5 0/5 0/5 0/5	/	/
T0 + 15h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/4 0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/4 0/5 0/5	/	/
T0 + 25h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/4 0/4 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹ 10 ⁻²	0/4 0/4 0/5	88,3	5,1
T0 + 25h + 24h	<0,2	Sin diluir 10 ⁻¹	0/5 0/5	Sin diluir 10 ⁻¹	0/5 0/5	88,3	4,4

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



Momento de medición	Título infeccioso (EID ₅₀ /mL)	Virus infecciosos residuales				Contenido de formaldehído residual (µg/mL)	
		Subcultivo 1		Subcultivo 2		Antes de la adición de bisulfito de sodio	Después de la adición de bisulfito de sodio
		Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos	Dilución	N.º de huevos HA+/N.º total de huevos		
		10 ⁻²	0/4	10 ⁻²	0/4		

