



Tabla 9: Métodos y criterio de aceptación

Prueba	Etapa analizada		Referencia al método	Criterio de aceptación
	PFAG	FP		
Aspecto	x	x	Ph. Eur. 2.9.20, edición actual	Líquido incoloro y opalescente
pH	x	x	Ph. Eur. 2.2.3, edición actual	6,8-7,6
Contenido de octoxinol 9	x	NR*	Método interno Descrito en la sección 3.2.S.4.5 Justificación de las especificaciones	≤445 µg/mL
Contenido de antígeno hemaglutinina (HA)	x	x	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual Descrito en la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos†	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido estimado de antígeno HA no es inferior a 12 µg/dosis por cada cepa
Esterilidad bacteriana y fúngica§	x	x	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana
Volumen extraíble §	NR	x	Ph. Eur. 2.9.17, edición actual	≥ volumen nominal
Prueba de integridad del cierre del envase (CCIT) §	NR	x	Método interno Descrito en la sección 3.2.P.8.3 Datos de estabilidad	Cumple si se demuestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.
Contenido de endotoxinas bacterianas §	NR	x	Ph. Eur. 2.6.14, edición actual	< 100 UI/dosis

\* NR: No realizada

† La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de SRID para las cepas A y por el método de SRID bivalente para las cepas B.  
Se realizaron tres análisis independientes en todos los momentos de medición, excepto en T0, y se calculó la media ponderada según la Ph. Eur. 5.3, edición actual.

§ Pruebas realizadas solo en condiciones de almacenamiento de tiempo real/temperatura real, es decir, a +5 °C ± 3 °C

### 2.2.2.3 Resultados de estabilidad del lote de PFAG FDV02238 utilizado para los estudios clínicos GQM02 y GQM09

*Estudio de estabilidad del PFAG en condiciones de almacenamiento a largo plazo, resultados:*

Los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad en condiciones de tiempo real/temperatura real, es decir, a +5°C ± 3°C con el lote de PFAG FDV02238 se resumen en la Table 10.





Tabla 10: Resultados del estudio de estabilidad del PFAG; lote FDV02238 utilizado para los estudios clínicos GQM02 y GQM09, almacenado a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)		
		T0	1	2
Aspecto	Líquido incoloro y opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente
pH	6,8-7,6	7,3	7,3	7,3
Contenido de octoxinol 9 ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\leq 445\text{ }\mu\text{g/mL}$	388	400	380
Contenido de antígeno HA ( $\mu\text{g/dosis}$ )	Objetivo: 15 $\mu\text{g/dosis}$ por cada cepa			
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	El límite inferior de confianza ( $p = 0,95$ ) del contenido estimado de antígeno HA no es menor que 12 $\mu\text{g/dosis}$ por cada cepa.	20 (19-22)	20 (19-22)	21 (20-22)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)		19 (18-21)	19 (19-20)	19 (18-20)
B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria)		20 (18-22)	20 (19-20)	20 (19-20)
B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)		18 (17-19)	18 (18-19)	18 (17-19)
Esterilidad bacteriana y fúngica		Ausencia de crecimiento microbiano	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.

**Estudio de estabilidad del PFAG en condiciones de almacenamiento a largo plazo, conclusión:**

Tras 2 meses de almacenamiento del lote de PFAG FDV02238 en condiciones de almacenamiento de tiempo real/temperatura real, es decir, a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , los resultados de estabilidad muestran que:

- Los resultados de la prueba de aspecto cumplen el criterio de aceptación y no muestran ninguna degradación del producto.
- Los resultados de pH cumplen el criterio de aceptación y son estables después de 2 meses de almacenamiento.
- Los resultados de octoxinol 9 son estables, teniendo en cuenta la variabilidad del método analítico;
- Los resultados del contenido de antígeno HA cumplen el criterio de aceptación después de 2 meses de almacenamiento a  $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , y son estables.
- Los resultados de la prueba de esterilidad cumplen el criterio de aceptación.

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S. A.





**2.2.2.4 Resultados de estabilidad del lote de FP S4443 utilizado para los estudios clínicos GQM02 y GQM09**

*Estudio de estabilidad del FP en condiciones de almacenamiento a largo plazo, resultados:*

Los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad en condiciones de tiempo real/temperatura real, es decir, a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  con el lote de FP S4443 se resumen en la Table 11.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

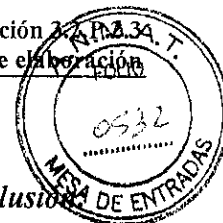
Tabla 11: Resultados del estudio de estabilidad del FP; lote de FP S4443 utilizado para los estudios clínicos GQM02 y GQM09, almacenado a +5 °C ± 3 °C

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado (meses)					
		T0	1	3	6	9	12
Aspecto	Líquido incoloro y opalescente	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	7,3
Volumen extraíble	≥ volumen nominal	Cumple	NP*	NP	NP	NP	Cumple
CCIT	Cumple si se demuestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	Cumple	NP	NP	NP	NP	Cumple
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento microbiano	Sin multiplicación microbiana.	NP	NP	NP	NP	Sin multiplicación microbiana
Contenido de antígeno HA (µg/dosis)	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa						
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido estimado de antígeno HA no es menor que 12 µg/dosis por cada cepa.	20 (17-23)	21 (19-22)	20 (19-21)	20 (19-21)	20 (19-21)	20 (19-21)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)		19 (17-20)	19 (18-20)	18 (18-19)	19 (19-20)	19 (18-20)	18 (17-19)
B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria)		20 (17-24)	20 (19-22)	19 (19-20)	19 (18-20)	19 (18-20)	19 (18-20)
B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)		17 (16-18)	17 (17-18)	18 (17-19)	18 (17-19)	19 (18-19)	19 (18-20)
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 100 UI/dosis	<0,25	NP	NP	NP	NP	<0,25

\* NP: No programado, según el protocolo.

ROXANA MONTEMLONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





**Estudio de estabilidad del FP en condiciones de almacenamiento a largo plazo, conclusiones**

Tras 12 meses de almacenamiento del lote de FP S4443 en condiciones de almacenamiento de tiempo real/temperatura real, es decir, a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , los resultados de estabilidad muestran que:

- Los resultados del pH cumplen los criterios de aceptación y son estables.
- Todos los resultados del contenido de antígeno HA cumplen el criterio de aceptación. Para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), se observa una ligera disminución de 1  $\mu\text{g}/\text{dosis}$  (5,3 %) después de 12 meses de almacenamiento a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  más allá de la variabilidad del método analítico, que es del 3 %. Los resultados son estables para las otras tres cepas, teniendo en cuenta la variabilidad del método analítico.
- Los resultados de la prueba de aspecto cumplen el criterio de aceptación y no muestran ninguna degradación del producto.

**Estudio de estabilidad del FP en condiciones aceleradas de almacenamiento, resultados:**

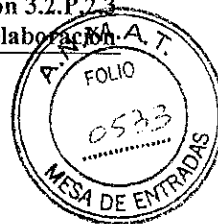
Los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad en condiciones aceleradas, es decir, a  $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  con el lote S4443 de FP se resumen en la Table 12.

**Tabla 12: Resultados del estudio de estabilidad del FP; lote de FP S4443 utilizado para los estudios clínicos GQM02 y GQM09, almacenado a  $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$**

Prueba	Límite de acción	Resultado (días)			
		T <sub>0</sub> *	7	14	30
Aspecto	Líquido incoloro y 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
Contenido de antígeno 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 estimado de antígeno HA no es menor que 12 $\mu\text{g}/\text{dosis}$ por cada cepa.	20 (17-23)	20 (19-21)	19 (18-20)	18 (17-19)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)		19 (17-20)	19 (18-20)	19 (18-20)	18 (18-19)
B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria)		20 (17-24)	19 (17-20)	18 (17-19)	18 (17-19)
B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)		17 (16-18)	19 (18-20)	19 (18-20)	18 (17-19)

\* Los resultados corresponden a los del momento de medición T<sub>0</sub> del estudio a  $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ .





**Estudio de estabilidad en condiciones de almacenamiento acelerado, conclusión:**

Tras 30 días de almacenamiento del lote S4443 de FP en condiciones aceleradas de almacenamiento, es decir, a  $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , los resultados de estabilidad muestran que:

- Los resultados del pH cumplen el límite de acción (correspondiente al criterio de aceptación establecido para las condiciones reales) y son estables;
- Todos los resultados del contenido de antígeno HA cumplen el límite de acción (correspondiente al criterio de aceptación establecido para las condiciones reales);
- Los resultados de aspecto cumplen el límite de acción (correspondiente al criterio de aceptación establecido para las condiciones reales) y, por lo tanto, no muestran ninguna degradación del producto.

### 3 Atributos críticos de calidad y estrategia de control del producto farmacéutico

#### 3.1 Identificación de los atributos críticos de calidad y los parámetros críticos del proceso

##### 3.1.1 Definiciones

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

##### 3.1.2 Metodología

Los CQA para la QIV se definen con el fin de asegurar la eficacia y la seguridad del producto farmacéutico (DP). Los CQA se identificaron con base en la experiencia de elaboración y los datos históricos de la TIV.

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

##### 3.1.3 CQA identificado de la QIV

La lista de los CQA identificados se proporciona en la Table 13. Como se indica en la sección 3.1.2, los CQA se definieron con base en la experiencia en la elaboración y en las especificaciones internas del producto. Para una mejor descripción, la lista de CQA toma en cuenta los CQA identificados para los lotes de siembra, para el DS y para el DP.



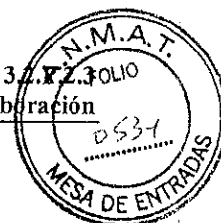


Tabla 13: Lista de CQA para la QIV

CQA	Efecto	Fundamentación
<b>Estructura, función y actividad del producto</b>		
Identificación viral (hemaglutinina [HA] y neuraminidasa [NA])	Seguridad Eficacia	Seguridad: Efecto sobre la identidad del producto; el producto inyectado no se ajusta a lo esperado Eficacia: un antígeno inadecuado puede inducir una inmunización insuficiente del paciente contra la cepa estacional
Contenido de antígeno HA	Eficacia	Eficacia: un contenido menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente
Naturaleza del antígeno	Seguridad Eficacia	Seguridad: efecto sobre la identidad del producto; el producto inyectado no se ajusta a lo esperado Eficacia: un antígeno no adecuado puede inducir una inmunización insuficiente del paciente contra la cepa estacional
Volumen extraíble	Eficacia	Eficacia: un volumen menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente
Integridad del producto	Seguridad	Seguridad: riesgo de inyección de contaminantes al paciente
<b>Propiedades fisicoquímicas y composición</b>		
Osmolalidad	Eficacia	Seguridad: Un valor inferior puede provocar un malestar en el paciente vacunado
pH	Eficacia	Eficacia: un valor inferior o superior del pH puede inducir una pérdida de eficacia debido a la modificación de las propiedades fisicoquímicas del producto
Aspecto	Seguridad	Seguridad: posible efecto sobre la identidad del producto en caso de incumplimiento del aspecto
<b>Impurezas debidas al producto</b>		
Contenido proteico	Eficacia	Eficacia: posible interacción con la proteína de interés en caso de contenido elevado.
Proporción contenido proteico total/contenido de antígeno HA		
Contenido de ovoalbúmina	Seguridad	Seguridad: riesgo de intolerancia del paciente en caso de contenido elevado
<b>Impurezas debidas al proceso</b>		
Compuestos lixiviables y extraíbles	Seguridad	Seguridad: Riesgo de inyección de contaminantes al paciente
Partículas visibles	Seguridad	Seguridad: riesgo de inyección de contaminantes al paciente
Contenido de octoxinol 9	Seguridad	Seguridad: una cantidad mayor puede provocar toxicidad para el paciente.
Contenido de formaldehído	Seguridad	Seguridad: una cantidad mayor puede provocar toxicidad para el paciente.
<b>Seguridad biológica</b>		
Ausencia de micoplasmas	Seguridad	Seguridad: riesgo de inyección de contaminantes al paciente
Sin los microorganismos patógenos especificados	Seguridad	Seguridad: riesgo de contaminación con agentes patógenos
Esterilidad bacteriana y fúngica	Seguridad	Seguridad: riesgo de inyección de contaminantes al paciente
Contenido de endotoxinas bacterianas	Seguridad	Seguridad: una cantidad alta puede inducir una reacción inflamatoria en el paciente.
Inactivación viral	Seguridad	Seguridad: un producto que no esté totalmente inactivado puede inducir un riesgo de infección para el paciente.





### 3.1.4 CPP identificados del proceso de elaboración del DP

Después del PCA, se identificaron CPP. La Table 14 muestra el fundamento para la selección de los CPP del proceso de elaboración del DP con base en los CQA.

Los CPP enumerados en la Table 14 se presentan en diagramas de flujo y/o en las partes descriptivas de la sección 3.2.P.3.3. Descripción del proceso de elaboración y controles del proceso que describe el proceso de elaboración y controles del proceso para el producto farmacéutico.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Tabla 14: Lista de los CPP y de los CQA asociados, DP

Paso del proceso de elaboración	CPP	Rango de operación/criterio de aceptación	CQA asociado	Fundamentación
<b>Elaboración del PFAG</b>				
Pesaje de los lotes de DS	Cantidad de lotes de DS	Determinación con base en el contenido de antígeno HA (valor objetivo) y los títulos de los lotes de DS utilizados	Contenido de antígeno HA	Efecto sobre la cantidad final de contenido de antígeno HA en la vacuna
	Condiciones de almacenamiento	+5°C ± 3°C	Contenido de antígeno HA	Efecto en el contenido de antígeno HA (estabilidad)
Introducción de PBS	Composición de la PBS utilizada	Composición determinada durante la formulación	Osmolalidad	Efecto sobre la osmolalidad
Introducción de los lotes de DS	Cantidad de lotes de DS introducidos	Con base en el contenido de antígeno HA (valor objetivo) y los títulos de los lotes de DS utilizados	Contenido de antígeno HA	Efecto sobre el contenido de antígeno HA
Homogeneización antes de la filtración	Número de Reynolds	≥ 10 000	Contenido de antígeno HA	La heterogeneidad del producto puede afectar la filtración en el paso del PFAG.
	Duración	≥ 15 min.	Contenido de antígeno HA	
Filtración	Carga microbiana antes de la filtración	≤ 10 UFC/100 mL	Esterilidad bacteriana y fúngica	Información del nivel de contaminación del producto. El paso de filtración es eficaz si la carga microbiana está por debajo de la carga máxima.
	Filtro/porosidad	PVDF/0,22 µm	Contenido de antígeno HA Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles Partículas visibles	Efecto directo sobre la eficacia del paso de filtración Efecto moderado sobre el contenido de antígeno HA y sobre los compuestos lixiviables y extraíbles o partículas visibles
	Presión de filtración	≤ 1,0 bar	Contenido de antígeno HA Esterilidad bacteriana y fúngica	Posible efecto en la adsorción del producto en el filtro y en la esterilidad.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración	CPP	Rango de operación/criterio de aceptación	CQA asociado	Fundamentación
	Duración de contacto de filtración (tiempo máximo de contacto entre el producto y el filtro).	≤ 12h10	Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles	Posible efecto sobre la esterilidad.
	Volumen de filtración por superficie	≤ 33,91 mL/cm <sup>2</sup>	Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles	Posible efecto sobre la esterilidad.
	Integridad del filtro	Cumple	Esterilidad bacteriana y fúngica	Efecto sobre la esterilidad
C.S.P. PBS	Cantidad restante de PBS	Determinación con base en el tamaño de lote y en los títulos de antígeno HA del DS	Contenido de antígeno HA	Efecto sobre la cantidad final de contenido de HA en la vacuna
Homogeneización después de la filtración	Número de Reynolds	≥ 10 000	Contenido de antígeno HA	Homogeneidad necesaria para obtener un contenido final correcto de antígeno HA en la vacuna
	Duración	≥ 15 min.	Contenido de antígeno HA	
Almacenamiento	Condiciones de almacenamiento (temperatura)	+5°C ± 3°C	Contenido de antígeno HA Esterilidad bacteriana y fúngica	Efecto sobre la esterilidad y el contenido de antígeno HA si la temperatura es superior al límite.
	Condiciones de almacenamiento (integridad de los tanques de llenado estériles)	Integridad	Esterilidad bacteriana y fúngica	Efecto sobre la esterilidad
<b>Elaboración del FP</b>				
Homogeneización antes de la filtración	Número de Reynolds	≥ 10 000	Contenido de antígeno HA	Primera homogeneización después del almacenamiento. Efecto moderado sobre la homogeneidad del contenido de antígeno HA (baja sedimentación)
	Duración	≥ 15 min.	Contenido de antígeno HA	
	Temperatura del PFAG	+5°C ± 3°C	Contenido de antígeno HA	
Condiciones de saturación del filtro	Duración de la saturación	≥ 10 min.	Contenido de antígeno HA	Efecto sobre la adsorción de antígeno HA en el filtro
	Volumen de saturación	≥ 10 L (en función del tamaño del filtro)	Contenido de antígeno HA	
Filtración	Carga microbiana antes de la filtración	≤ 10 UFC/100 mL	Esterilidad bacteriana y fúngica	El paso de filtración es eficaz si la carga microbiana está por debajo de la carga máxima.

RA\_0920526

Información confidencial/proprietaria  
Página 32 de 89

Version 3.0

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





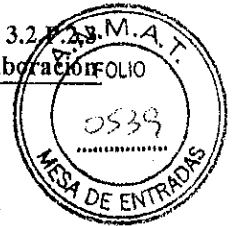
Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración	CPP	Rango de operación/criterio de aceptación	CQA asociado	Fundamentación
	Filtro/porosidad	PVDF/0,22 µm	Contenido de antígeno HA Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles Partículas visibles	Efecto directo sobre la eficacia del paso de filtración Efecto moderado sobre el contenido de antígeno HA ligado a la adsorción. Efecto moderado sobre los compuestos lixiviables y extraíbles y sobre las partículas visibles
	Velocidad de flujo de la filtración	≤1,5 L/min	Esterilidad bacteriana y fúngica	Posible efecto en la esterilidad si la velocidad de filtración es demasiado alta
	Duración de contacto de filtración (duración máxima de contacto entre el producto y el filtro).	≤72 h	Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles	Efecto directo sobre la eficacia del paso de filtración (efecto sobre la esterilidad).
	Volumen de filtración por superficie	≤ 33,5 mL/cm <sup>2</sup>	Esterilidad bacteriana y fúngica Compuestos lixiviables y extraíbles	Efecto directo sobre la eficacia del paso de filtración (efecto sobre la esterilidad).
	Integridad del filtro	Cumple	Esterilidad bacteriana y fúngica	Efecto directo sobre la eficacia del paso de filtración (efecto sobre la esterilidad).
Llenado e inspección	Volumen llenado	El volumen llenado objetivo permite la extracción de una dosis de 0,5 mL.	Volumen extraíble	Efecto sobre la eficacia del producto
	Duración del llenado	Duración de la apertura del aislante validada	Esterilidad bacteriana y fúngica	La duración de llenado está directamente relacionada con el control de las condiciones asépticas
	Integridad del producto llenado en las jeringas, prueba de integridad del cierre del envase (CCIT)	La CCIT cumple si se muestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	Esterilidad bacteriana y fúngica Integridad del producto	Introducción de contaminantes
Almacenamiento	Condiciones de almacenamiento (temperatura)	+5°C ± 3°C	Contenido de antígeno HA	Efecto sobre el contenido de antígeno HA (estabilidad) (posible efecto sobre el contenido de antígeno HA si la temperatura es superior al límite)

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECCIÓN TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





### 3.2 Resumen de la estrategia de control para el DP

La estrategia para el control y la verificación del proceso del DP se basa en los siguientes elementos:

- Control de los materiales de ingreso ( 3.2.S.2.3 Control de materiales, Control de los materiales fuente y de inicio de origen biológico y 3.2.P.4.1 Especificaciones) y dominio de los agentes extraños (virales y no virales) (3.2.A.2 Evaluación de seguridad de agentes extraños);
- Control del proceso, incluido el control de las instalaciones y los equipos a través del sistema de calidad y la identificación de los parámetros críticos del proceso, el efecto de las etapas críticas sobre la calidad del producto farmacéutico (3.2.P.3.4 Control de los pasos críticos e intermedios) y los contaminantes e impurezas relacionados con el proceso (3.2.P.5.5 Control de las impurezas).
- Controles incluidas las pruebas de control durante el proceso (IPC) (3.2.P.3.3. Descripción del proceso de elaboración y controles del proceso), pruebas de liberación ( 3.2.P.5.1 Especificación(es) y caracterización del producto ( 3.2.S.3.1. Elucidación de la estructura y otras características y 3.2.P.5.5 Caracterización de las impurezas).

Para garantizar que el producto cumple con los criterios de aceptación asignados de los CQA y

- con base en los elementos confirmados durante el desarrollo del proceso de elaboración;
- con base en los conocimientos obtenidos con la experiencia de la elaboración;
- además del control de los CPP definidos;

Los siguientes IPC y pruebas de liberación realizados en el DP se definen y se presentan en la Table 15. Los IPC y las pruebas de liberación realizadas con el DS se presentan en la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Tabla 15: CQA y controles asociados en las etapas de elaboración del DP

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba		Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
				IPC	Liberación		
<b>Elaboración del PFAG</b>							
Antes de la filtración de la mezcla	Esterilidad bacteriana y fúngica	Carga microbiana antes de la filtración esterilizante (0,22 µm)	≤10 UFC/100 mL	X		Información del nivel de contaminación del producto. El paso de filtración es eficaz si la carga microbiana está por debajo de la carga máxima. Riesgo de inyección de contaminantes al paciente	El criterio de aceptación para la carga microbiana se basa en los resultados del estudio de desafío microbiano realizado para validar la eliminación completa de contaminación microbiana.
Después de la filtración de la mezcla	Osmolalidad	Osmolalidad	≥200 mOsmol/kg	X		Un valor inferior puede provocar malestar en el paciente vacunado	El límite inferior es el definido para todas las vacunas inyectables de Sanofi Pasteur, una osmolalidad inferior a 200 mOsmol/kg podría causar molestias al paciente al momento de recibir la inyección.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S.A.





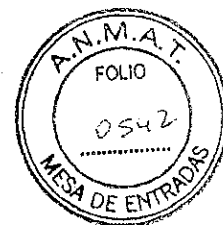
Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba		Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
				IPC	Liberación		
	Contenido de antígeno HA	Contenido de antígeno HA	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido estimado de antígeno HA no es inferior a 12 µg/dosis por cada cepa.	X		un contenido menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente	La monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, requiere esta prueba, que cuantifica el principio activo en el FP. El análisis de HA en la etapa de PFAG permite verificar la formulación antes del llenado, lo que garantiza el cumplimiento del lote final con los requisitos de la farmacopea. Los criterios de aceptación se basan en la monografía mencionada, es decir, un límite inferior del intervalo de confianza del 95 % no inferior al 80 % de la cantidad declarada en el envase.
Después de la filtración de la mezcla	Contenido de octoxinol-9	Octoxinol 9	≤445 µg/mL	X		Una cantidad alta puede inducir un riesgo de toxicidad para el paciente	El criterio de aceptación se basa en un estudio de tolerancia local y toxicidad de dosis repetidas en conejos. Durante este estudio, se administraron cuatro dosis intramusculares (0,5 mL) de octoxinol 9 a conejos a la dosis nominal de 222,5 µg/animal/administración.
	Esterilidad bacteriana y fúngica	Esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento microbiano		X	Riesgo de inyección de contaminantes al paciente	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS. El criterio de aceptación es un requisito de seguridad regulatorio

ROXANA MONTEILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba		Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
				IPC	Liberación		
	Contenido de formaldehído	Contenido de formaldehído libre	≤60 µg/mL		X	Una cantidad alta puede inducir un riesgo de toxicidad para el paciente	Los criterios de aceptación se basan en el utilizado para el control y la liberación de la TIV. El cambio en la composición de la vacuna provoca una ligera elevación de la concentración de formaldehído en el PFAG; no obstante, esta elevación no afecta el límite de 60 µg/mL. Muy por debajo del criterio de aceptación de la Ph. Eur. 0158, edición actual (≤0,2 g/L).
	Contenido proteico	Contenido proteico total	≤600 µg/mL		X	Posible interacción con la proteína de interés en caso de contenido elevado.	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual.
	contenido de ovoalbúmina	Contenido de ovoalbúmina	≤100 ng/mL		X	Riesgo de intolerancia del paciente en caso de contenido elevado	El criterio de aceptación es de ≤100 ng/mL, correspondientes a ≤50 ng/dosis, y es el mismo criterio de aceptación utilizado para el control y la liberación de la TIV. Este criterio de aceptación es más estricto que el límite recomendado por la monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, que requiere no más de 1 µg por dosis humana en el FP (considerando una dosis de 0,50 mL).
	Proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno HA]	Proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno HA]	≤6		X	Posible interacción con la proteína de interés en caso de contenido elevado.	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual.

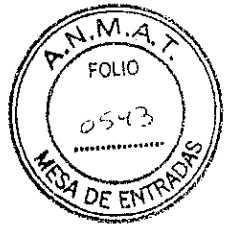
RA\_0920526

Información confidencial/proprietaria  
Página 37 de 89

Version 3.0

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.






Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

RA\_0920526

Información confidencial/propietaria  
Página 38 de 89

Version 3.0

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba	Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
<b>Elaboración del FP</b>						
Filtración esterilizante terminal en línea durante el llenado	Esterilidad bacteriana y fúngica	Carga microbiana antes de la filtración (0,22 µm)	≤10 UFC/100 mL	X	Información del nivel de contaminación del producto. El paso de filtración es eficaz si la carga microbiana está por debajo de la carga máxima. Riesgo de inyección de contaminantes al paciente	El criterio de aceptación para la carga microbiana se basa en los resultados del estudio de desafío microbiano realizado para validar la eliminación completa de contaminación microbiana.
Llenado	Volumen extraíble	Control del volumen llenado	El volumen llenado deseado es el que permite la extracción de una dosis de 0,5 mL. Volumen llenado deseado ±3 % hasta ±5 %	X	un volumen menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente	El criterio de aceptación para el volumen llenado objetivo permite la extracción de una dosis de 0,5 mL.
Inspección del 100 %	Integridad del producto	CCIT	La CCIT cumple si se muestra la integridad de todas las muestras representativas de un lote.	X	Riesgo de inyección de contaminantes al paciente	El acondicionamiento primario tiene que garantizar la integridad total del producto llenado.
	Esterilidad bacteriana y fúngica	Esterilidad bacteriana y fúngica	Ausencia de crecimiento microbiano	X	Riesgo de inyección de contaminantes al paciente	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual, y la TRS n° 927 de la OMS. El criterio de aceptación es un requisito de seguridad regulatorio
	Aspecto	Aspecto	Líquido incoloro y opalescente	X	Posible efecto sobre la identidad del producto en caso de que el aspecto no cumpla.	La definición del criterio de aceptación se basa en la Ph. Eur. 0158, edición actual, que indica que "La vacuna es un líquido ligeramente opalescente".

RA\_0920526

Información confidencial/proprietaria  
Página 39 de 89

Version 3.0

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba		Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
	pH	pH	6,3 - 7,6		X	Un valor inferior o superior del pH puede inducir una pérdida de eficacia debido a la modificación de las propiedades fisicoquímicas del producto	Conforme a la Ph. Eur. 0153, edición actual. El criterio de aceptación es el mismo que el utilizado para el control y la liberación de la TIV. El rango se basa en el pH de la solución PBS.
	Volumen extraíble	Volumen extraíble	≥ valor nominal		X	un volumen menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente	Conforme a la Ph. Eur. 0153, edición actual. El criterio de aceptación para el volumen extraíble permite la extracción de una dosis de 0,5 mL.
	Contenido de antígeno HA	Contenido de antígeno HA	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido de antígeno HA estimado no es menor que 12 µg/dosis por cada cepa.		X	un contenido menor puede inducir una inmunización insuficiente del paciente	El valor objetivo seleccionado es de 15 µg de HA/dosis. El límite inferior de confianza respectivo se establece de conformidad con los requisitos de la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., indicados para prueba de inmunodifusión radial simple (SRID) (es decir, "no menos del 80 % de la cantidad declarada en la etiqueta").
	Naturaleza del antígeno	Identificación del antígeno HA	Positiva		X	Efecto sobre la identidad del producto; el producto inyectado no cumple con lo esperado un antígeno no adecuado puede inducir una inmunización insuficiente del paciente contra la cepa estacional	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual.

ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.

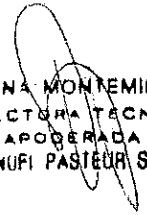




Sanofi Pasteur  
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.2.P.2.3  
Desarrollo del proceso de elaboración

Paso del proceso de elaboración en el que se realiza la prueba de control	CQA	Prueba	Criterio de aceptación	Estado de la prueba		Fundamentación del efecto sobre los CQA	Justificación del criterio de aceptación
	Contenido de endotoxinas bacterianas	Contenido de endotoxinas bacterianas	< 100 UI/dosis		X	Una cantidad alta puede inducir una reacción inflamatoria en el paciente.	Conforme a la Ph. Eur. 0158, edición actual.

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
APODERADA  
SANOFI PASTEUR S. A.





## 4 Desarrollo del método para justificar el desarrollo del proceso de elaboración

### 4.1 Contexto del contenido de antígeno HA e identificación por SRID

El contenido de antígeno HA en el DP se determina mediante inmunodifusión radial simple (SRID) con base en antisueros específicos para las cepas y los antígenos de referencia. Debido a la reactividad cruzada de las cepas B, el método de SRID utilizado para controlar las cepas B en lotes de DP se realiza, desde 2013, con un antígeno estándar de referencia bivalente, mientras que las cepas A se controlan mediante el método clásico de SRID.

A lo largo del desarrollo de la QIV, las pruebas de SRID en el DP se realizaron en varios laboratorios con la validación asociada del método, mientras que las prueba de SRID en el DS siempre se realizaron en un solo laboratorio. En 2013, se transfirió el método bivalente del laboratorio de MLE al laboratorio de VDR, y se utilizó para verificar el lote utilizado en los estudios clínicos GQM02 y GQM09. En 2014, los nuevos lotes producidos, utilizados en el estudio clínico GQM11 y en el estudio de validación de 400 L, se analizaron en el laboratorio de MLE. Los siguientes lotes de validación (1000 L) se analizaron en el laboratorio de VDR, al igual que los lotes de validación posteriores y los lotes comerciales futuros. Se garantizó el acuerdo entre ambos laboratorios para las pruebas de potencia mediante SRID:

- En primer lugar por la transferencia formal realizada en 2013 del método bivalente en el DP del laboratorio de MLE al laboratorio de VDR y luego, la validación posterior antes de las pruebas de los lotes para GQM02 y GQM09.
- Posteriormente, en 2014, por la estrategia de la compañía de validar individualmente el método de SRID en cada planta utilizando los mismos criterios de validación y la misma forma de evaluar la exactitud (solo hubo una ligera diferencia en el criterio de aceptación para la especificidad).

El procedimiento de la prueba de SRID y su validación, realizados en el laboratorio de MLE y utilizados para el control de los lotes clínicos y de validación de GQM11, se describen a continuación, mientras que el procedimiento de la prueba de SRID y su validación, realizados en el laboratorio de VDR y utilizados para el control de los lotes de validación de 1000 L, se describen en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos y 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

### 4.2 Descripción del procedimiento analítico para la identificación y determinación del contenido de antígeno HA utilizado para los lotes clínicos y de validación de GQM11

El procedimiento de la prueba de SRID, realizado en el laboratorio de MLE y utilizado para el control de los lotes clínicos y de validación de GQM11 (S4456, S4457 y S4458, y el PFAG asociado) se describe a continuación. Este método se utilizó tanto para las pruebas de liberación como para las pruebas realizadas durante los estudios de estabilidad de estos lotes.





#### 4.2.1 Referencias

Monografía n.º 0158 "Vacuna antigripal (virión fraccionado, inactivada)" de la Ph. Eur.

#### 4.2.2 Principio

La cuantificación del antígeno HA realiza mediante el método de SRID de conformidad con el método 2.7.1. "Métodos inmunoquímicos" de la Ph. Eur., edición actual. Dado que la monografía sólo constituye una guía general, a continuación se proporciona una descripción del método analítico con más detalle.

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. Se trata de un antisuero policlonal específicamente dirigido contra el antígeno HA gripal objetivo. Luego de la difusión completa se visualiza el anillo de precipitación de cada dilución de muestra y referencia mediante tinción (azul de Coomassie) y después se miden.

Se determina el contenido de antígeno HA para cada cepa mediante la ecuación de la curva de calibración establecida a partir de la referencia.

Debido a la reactividad cruzada entre cepas B de la vacuna QIV, el método de SRID se basa en un antígeno estándar de referencia bivalente.

#### 4.2.3 Equipo

Equipo habitual de laboratorio de inmunología.

#### 4.2.4 Reactivos

- Antisuero

Existen antisueros policlonales disponibles para cada cepa (origen: Instituto Nacional de Control y Normas Biológicas (NIBSC), Londres o Administración de Artículos Terapéuticos (TGA), Australia o Centro para la Evaluación e Investigación de Productos Biológicos (CBER)).

- Antígeno de referencia

Referencias internacionales representativas de cada cepa gripal, suministradas por un centro de referencia de la gripe (NIBSC o TGA o CBER) con sus títulos y condiciones de uso.

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

- Agarosa;

- Detergente: solución de Zwittergent (3-14) en agua purificada.

- Reactivo de tinción: azul de Coomassie.





- reactivo para destefir.
- Solución salina tamponada con fosfato: 1 x C.

#### 4.2.5 Procedimiento operativo

Para cada análisis independiente:

Se prepara un gel de agarosa mezclando polvos de agarosa y solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se agrega al gel una cantidad determinada del antisuero policlonal específico (según las recomendaciones de los proveedores del antisuero y según los análisis de calibración). Luego de la solidificación del gel, se perfora una serie de pocillos circulares.

Cada antígeno de referencia se rehidrata con agua purificada. Las muestras de referencia y de prueba se tratan con Zwittergent durante unos 30 minutos a temperatura ambiente.

Se realizan diluciones en serie adicionales de muestras tratadas y de referencia tratada en PBS. Se añade un volumen de cada dilución a los pocillos. El análisis se realiza por triplicado, empleando tres series independientes de por lo menos 3 diluciones.

Luego de la difusión durante 19 a 23 horas a temperatura ambiente en un recipiente húmedo, las placas se enjuagan, se secan y se tiñen con azul de Coomassie.

#### 4.2.6 Lectura, cálculo, resultados

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

Luego de la evaluación de la validez del análisis, se determina el contenido de antígeno HA para la muestra de prueba utilizando la curva de calibración.

La curva dosis-efecto para el preparado de referencia se calcula con la siguiente ecuación correspondiente a una regresión múltiple:

$$d = a_0 + a_1 D + a_2 \log D$$

Donde d: diámetro medio

D: dosis en  $\mu\text{g/mL}$

Para la liberación, el número de análisis se basa en el parámetro del criterio de precisión evaluado durante la validación del método 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 análisis se selecciona en función de la cantidad de análisis necesarios para lograr el criterio de aceptación de precisión. Esto será aplicable cada vez que se revalide el método, lo que significa que el número de análisis independientes puede ser diferente en función de la cepa y de los reactivos de SRID.

Los análisis son independientes, lo que significa que se realizan utilizando diferentes muestras y diferentes geles de agarosa, y se calcula la media ponderada del siguiente modo:

- Se comprueba la homogeneidad del análisis válido independiente realizando una prueba estadística de  $\chi^2$ , tal como se describe en el método n.º 5.3 "Análisis estadístico de resultados de ensayos y pruebas biológicas", capítulo 6.2.2 "Homogeneidad de las potencias estimadas" de la Ph. Eur., edición actual.





- Si los resultados son homogéneos, se calcula la media ponderada de conformidad con el método n.º 5.3, capítulo 6.2.3 “Cálculo de la media ponderada y de los límites de confianza de la Ph. Eur., edición actual.
- Si los resultados son heterogéneos: los análisis independientes se invalidan y se realizan nuevos análisis independientes.

#### 4.2.7 Criterios de validez de cada análisis independiente

Cada prueba independiente se considera válida si se cumplen los siguientes requisitos:

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

Para la interpretación de la prueba como prueba de identidad, donde se puede observar un resultado de identidad positivo y negativo según la presencia o ausencia de anillo, el criterio de validez es

- la presencia de un anillo para el antígeno de referencia homólogo..

### 4.3 Descripción de la validación del procedimiento analítico para la identificación y determinación del contenido de antígeno HA utilizado para los lotes clínicos y de validación de GQM11

La validación del método del procedimiento de prueba de SRID utilizada para la cuantificación y la identificación del antígeno HA, realizada en el laboratorio de MLE, se describe a continuación.

#### 4.3.1 Panorama

La validación de la cuantificación y la identificación del antígeno HA por SRID se lleva a cabo en el lote de PFAG FDV02328, para las cepas y las referencias siguientes:

- A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) (antígeno NIBSC 13/164, antisuero NIBSC 12/108);
- A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) (antígeno NIBSC 13/116, antisuero NIBSC 13/178);
- B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) con antígenos bivalentes:
  - antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134, antisuero TGA AS397-1;
  - antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134, antisuero TGA AS397-1;
- B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) con antígenos bivalentes:





- antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134, antisuero NIBSC 13/182;
- antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134, antisuero NIBSC 13/182.

Notas:

- Para las cepas B, la validación se realizó con 2 lotes de referencia diferentes: la referencia actual, TGA 2011/89B (nivel bajo de reserva) y el nuevo lote por utilizar (TGA 2014/101B)
- Como la única diferencia entre las etapas de PFAG y de FP es el paso de llenado, los resultados de esta validación se aplican también al FP.

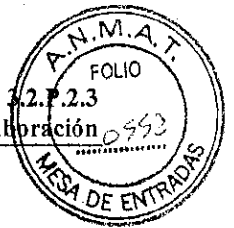
**4.3.2 Resumen de la validación**

Como el procedimiento es un análisis cuantitativo, las características estudiadas son la especificidad, la precisión, la linealidad y la exactitud. Los resultados de la validación, así como los criterios de aceptación, se resumen a continuación en la Table 16.

**Tabla 16: Resumen de los resultados de la validación, método de SRID**

Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Especificidad	Se deben ver anillos con un aspecto significativamente diferente de los de las cepas analizadas en la validación o ausencia de anillos.	Ausencia de anillos con las cepas: <ul style="list-style-type: none"> <li>• A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1);</li> <li>• A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2);</li> <li>• B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria).</li> </ul> Con respecto a las cepas estudiadas, aparece un anillo no medible con la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) en presencia del antisuero de B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria). Los anillos son significativamente diferentes de los anillos del antisuero de referencia. El método es específico para las 4 cepas.





Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser mayor que $\pm x/1,2$	<p><u>Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Media general: <math>\bar{m} = 1,531</math> que equivale en expresión aritmética a 34,0 <math>\mu\text{g/mL}</math></li> <li>Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:  <math>\text{DER}_r = 4,6\%</math> y <math>\text{DER}_R = 6,0\%</math></li> <li>Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                      - (k = 1 corrida y n = 1 medición (liberación):  <math>\pm 0,055</math> que equivale a <math>x/\pm 1,1</math> en notación aritmética.                      - k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad):  <math>\pm 0,032</math> que equivale a <math>x/\pm 1,1</math> en notación aritmética.</li> </ul> <p><u>Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Media general: <math>\bar{m} = 1,539</math> que equivale en expresión aritmética a 34,6 <math>\mu\text{g/mL}</math></li> <li>Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:  <math>\text{DER}_r = 5,1\%</math> y <math>\text{DER}_R = 6,2\%</math></li> <li>Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                      - k = 1 corrida y n = 1 medición (liberación):  <math>\pm 0,064</math> que equivale a <math>x/\pm 1,2</math> en notación aritmética.                      - k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad):  <math>\pm 0,037</math> que equivale a <math>x/\pm 1,1</math> en notación aritmética.</li> </ul>

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





Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser mayor que $\pm x/1,2$	<p><u>Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (bivalente):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Media general: <math>\bar{m} = 1,566</math> que equivale en expresión aritmética a <math>36,8 \mu\text{g/mL}</math></li> <li>• Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:  <math display="block">\text{DER}_r = 9,4\% \text{ y } \text{DER}_R = 10\%</math></li> <li>• Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- k = 2 corridas y n = 1 medición (liberación):  <math>\pm 0,076</math> que equivale a <math>x/\pm 1,2</math> en notación aritmética.</li> <li>- k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad):  <math>\pm 0,062</math> que equivale a <math>x/\pm 1,2</math> en notación aritmética.</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• <u>Antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Media general: <math>\bar{m} = 1,574</math> que equivale en expresión aritmética a <math>37,5 \mu\text{g/mL}</math></li> <li>• Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:  <math display="block">\text{DER}_r = 4,0\% \text{ y } \text{DER}_R = 4,4\%</math></li> <li>• Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- k = 2 corridas y n = 1 medición (liberación):  <math>\pm 0,028</math> que equivale a <math>x/\pm 1,1</math> en notación aritmética.</li> <li>- k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad):  <math>\pm 0,023</math> que equivale a <math>x/\pm 1,1</math> en notación aritmética.</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

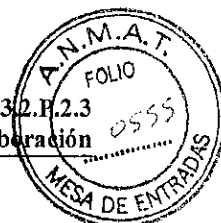




Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser mayor que $\pm x/ 1,2$	<p><u>Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (bivalente):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Media general: <math>\bar{m} = 1,517</math> que equivale en expresión aritmética a 32,9 <math>\mu\text{g/mL}</math></li> <li>• Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:                             <math display="block">\text{DER}_r = 7,2\% \text{ y } \text{DER}_R = 9,5\%</math> </li> <li>• Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- k = 2 corridas y n = 1 medición (liberación): <math>\pm 0,062</math> que equivale a <math>\pm x/ 1,2</math> en notación aritmética.</li> <li>- k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad): <math>\pm 0,050</math> que equivale a <math>\pm x/ 1,1</math> en notación aritmética.</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• <u>Antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Media general: <math>\bar{m} = 1,534</math> que equivale en expresión aritmética a 34,2 <math>\mu\text{g/mL}</math></li> <li>• Las desviaciones estándar relativas de la repetibilidad y de la precisión intermedia son iguales a:                             <math display="block">\text{DER}_r = 5,2\% \text{ y } \text{DER}_R = 15\%</math> </li> <li>• Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- k = 2 corridas y n = 1 medición (liberación): <math>\pm 0,095</math> que equivale a <math>\pm x/ 1,2</math> en notación aritmética.</li> <li>- k = 3 corridas y n = 1 medición (estabilidad): <math>\pm 0,077</math> que equivale a <math>\pm x/ 1,2</math> en notación aritmética.</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 ADQUERADA  
 SANOFI PASTEUR S. A.





Característica	Criterio de aceptación	Resultado
<b>Linealidad</b>	$P_{\text{linealidad}} \leq 0,01$	Donde X = concentración teórica prevista de HA (log[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]) y Y = concentración medida de antígeno HA (log[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]). <u>Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1):</u> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,88$ $Y = -0,024 + 1,005 X$ $R^2 = 0,9895$ Rango de linealidad: [16,5-46,8] $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2):</u> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,85$ $Y = 0,104 + 0,960 X$ $R^2 = 0,9918$ Rango de linealidad: [16,0-45,8] $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (bivalente):</u> • <u>Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134:</u> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,83$ $Y = 0,090 + 0,962 \cdot X$ $R^2 = 0,9814$ Rango de linealidad: [15,4-42,9] $\mu\text{g}/\text{mL}$ • <u>Antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134:</u> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,18$ $Y = 0,093 + 0,963 \cdot X$ $R^2 = 0,9939$ Rango de linealidad: [15,4-43,3] $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (bivalente):</u> • <u>Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134:</u> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,84$ $Y = -0,058 + 1,012 X$ $R^2 = 0,9458$ Rango de linealidad: [15,8-45,1] $\mu\text{g}/\text{mL}$
	$P_{\text{Falta de ajuste}} > 0,05$	





Característica	Criterio de aceptación	Resultado
<b>Exactitud</b>	La recuperación porcentual promedio calculada para los 4 niveles de concentración teórica debe estar entre el 80 % y el 120 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: • <u>Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1):</u> 108 % [105%-110%] • <u>Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2):</u> 112 % [110%-114%] • <u>Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (bivalente):</u> • Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134: 109 % [106 % - 112 %] • Antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134: 110% [108% - 112 %] • <u>Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (bivalente):</u> • Antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134: 91 % [87 %-96 %] • Antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134: 86 % [82 %-91 %]

**4.3.3 Resultados y análisis**

**4.3.3.1 Especificidad**

El diseño experimental se basó en un análisis realizado con cada cepa a una dilución 1/1. La prueba consiste en verificar la presencia o ausencia de anillo. Se analizó cada antisuero de referencia con las diferentes cepas (usando lotes de DS) como se indica a continuación en la Table 17.

La ausencia de anillo para cada cepa se observa con las cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) y B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria).

En el caso de la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) con el antisuero de la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria), hay anillos más difusos y de menor intensidad, pero los anillos son significativamente diferentes de los anillos del antígeno de referencia.

La reactividad cruzada entre el antisuero contra la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) y B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) se explica por el hecho de que las 2 cepas B son genéticamente homólogas (93 %). La reactividad cruzada también se explica por la falta de especificidad de los reactivos (de NIBSC y de TGA). Como los anillos no son similares a los anillos del antígeno de referencia, es posible distinguir anillos de 2 linajes diferentes.

Por lo tanto, el método es específico para las cuatro cepas estudiadas.

ROXANA MONTEMILONE  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 APODERADA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

