



3.5.3 Reactivos

Reactivos

- Acetonitrilo (gradiente de HPLC).
- Agua purificada.

Referencias estándar y controles

- Estándar de referencia: octoxinol 9
- Control interno: Solución de octoxinol 9, 40 µg/mL

3.5.4 Procedimiento operativo

3.5.4.1 Condiciones cromatográficas

- Precolumnas y columnas analíticas: fase inversa (C4)
- Detección: UV/VIS a 225 nm.
- Fase móvil:
 - Disolvente A: Agua purificada
 - Disolvente B: acetonitrilo.
- Elución: la columna se equilibra primero con una mezcla de disolvente A y disolvente B. La separación de los analitos se asegura mediante el uso de una elución por gradiente.

3.5.4.2 Procedimiento analítico

El procedimiento analítico se describe a continuación:

- Preparación del disolvente de disolución con acetonitrilo y agua purificada (utilizado como testigo).
- Preparación de las soluciones de cuantificación Q1 y Q2: solución de referencia de octoxinol 9 y disolventes de disolución.
- Preparación de la solución de control del límite de cuantificación: solución de cuantificación y disolvente de disolución.
- Preparación de la solución de control interno: octoxinol 9 y disolvente de disolución.
- Preparación de las muestras de prueba: muestra y disolvente de disolución.
- El testigo, el control interno, las soluciones de cuantificación, la solución de control del límite de cuantificación y las muestras se inyectan y se separan utilizando un gradiente específico.



3.5.5 Lectura, cálculo, resultados

Cada analito se detecta mediante absorción UV a 225 nm.

La concentración de octoxinol 9 en la muestra de prueba se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de octoxinol 9 } (\mu\text{g/mL}) = \frac{S_E \times C_Q \times F_D}{S_Q}$$

S_E : Área del octoxinol 9 en el cromatograma de la solución analizada.

C_Q : Concentración del octoxinol 9 en la solución de cuantificación ($\mu\text{g/mL}$).

S_Q : Área del octoxinol 9 en el cromatograma de la solución de cuantificación.

F_D : Factor de dilución de la solución analizada.

3.5.6 Criterios de validez

La prueba se considera válida si se cumplen las siguientes condiciones:

- Ausencia de picos en el tiempo de retención de octoxinol 9 en el cromatograma "testigo".

- El tiempo de retención de octoxinol 9 debería ser de aproximadamente 4,5 minutos.

Prueba de idoneidad de HPLC: el coeficiente de variación de la repetibilidad para las 6 inyecciones del control interno debe ser inferior al 1,0 %.

- La proporción entre el nivel de señal obtenido para el pico de octoxinol 9 en el límite de cuantificación y el nivel de ruido de fondo obtenido en el tiempo de retención del octoxinol 9 en el testigo debe ser de al menos 20.

- El área del pico de octoxinol 9 en las muestras no es mayor que el área del pico de octoxinol 9 en las soluciones de cuantificación Q1 y Q2, ni es inferior al área del límite de cuantificación.

Los informes de cuantificación de las 2 soluciones de cuantificación deben encontrarse dentro de los límites determinados estadísticamente.

$$\text{Informe de cuantificación} = \frac{S_{Q1} \times m_{Q2}}{S_{Q2} \times m_{Q1}}$$

m_{Q1} : Masa del octoxinol 9 en la solución de cuantificación Q1 ($\mu\text{g/mL}$)

S_{Q1} : Área del octoxinol 9 obtenida en el cromatograma de la solución de cuantificación Q1.

m_{Q2} : Masa del octoxinol 9 en la solución de cuantificación Q2 ($\mu\text{g/mL}$)

S_{Q2} : Área del octoxinol 9 obtenida en el cromatograma de la solución de cuantificación Q2.

- La concentración obtenida para el control interno al final de la secuencia se encuentra dentro de los límites del gráfico de control.

- Los parámetros de adquisición del método son los mismos que los de las instrucciones.



Sección 3.2.S.4.4 Análisis de lote

Índice

Lista de tablas	2
1 Introducción	3
2 Descripción de los lotes	3
3 Análisis de lotes	5



Lista de tablas

Tabla 1: Descripción de los lotes de principio activo.....4

Tabla 2: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de principio activo de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) elaborados con el lote de WSL FA3563996

Tabla 3: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de principio activo de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) elaborados con el lote de WSL FA492096.....7

Tabla 4: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de DS de la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) elaborados con el lote de WSL FA4138878

Tabla 5: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de DS de la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) elaborados con el lote de WSL FA4905089



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

1 Introducción

En esta sección se presenta la descripción de los lotes de principio activo (DS) de la vacuna antigripal tetravalente (QIV) con los datos correspondientes de análisis de lotes.

Los lotes presentados son los tres primeros lotes consecutivos elaborados a partir del lote de siembra de trabajo (WSL), y:

- los lotes que ingresan en la formulación de los lotes del producto final a granel utilizado para los estudios de validación de 400 L, los estudios no clínicos y el estudio clínico (GQM11);
- los lotes presentados en las secciones de estabilidad del principio activo.

2 Descripción de los lotes

El número del lote, el tamaño del lote, la fecha de elaboración y el uso de los lotes de DS presentados en la sección se presentan en la Tabla 1. Todos los lotes se produjeron en la planta de elaboración de Val de Reuil.



Tabla 1: Descripción de los lotes de principio activo

Nombre de la cepa	Número de lote	Tamaño del lote (L)	Fecha de elaboración	Utilización del lote
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	FA491832	70,1	17 MAR 2013	Estudio de estabilidad
	FA491837	65,39	17 MAR 2013	Estudio de estabilidad
	FA516286	63,4	22 DIC 2013	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP/estudio de estabilidad
	FA521583	60,7	27 FEB 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP
	FA528519	64,3	9 MAY 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)	FA495333	144,1	18 ABR 2013	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP/estudio de estabilidad
	FA493954	131,3	19 ABR 2013	
	FA513975	145,4	23 NOV 2013	Estudio de estabilidad
	FA513976	147,8	23 NOV 2013	Uno de los tres primeros lotes consecutivos elaborados a partir del WSL
	FA523944	133,6	22 MAR 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP
B/Brisbane/60/2008 (B/linaje Victoria)	FA495974	110,0	25 ABR 2013	Estudio de estabilidad
	FA495977	104,5	25 ABR 2013	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP/estudio de estabilidad
	FA518526	110,7	26 ENE 2014	Uno de los tres primeros lotes consecutivos elaborados a partir del WSL
	FA518527	130,0	27 ENE 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP
	FA518528	126,8	27 ENE 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP/estudio de estabilidad
B/Massachusetts/2/2012 (B/linaje Yamagata)	FA492930	139,6	27 MAR 2013	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP/estudio de estabilidad
	FA492931	118,7	27 MAR 2013	Estudio de estabilidad
	FA525566	112,8	31 MAR 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP
	FA525567	121,7	31 MAR 2014	Estudio de estabilidad
	FA525570	107,6	1 ABR 2014	Estudios no clínicos/estudio clínico (GQM11)/validación del proceso del PFAG y del FP



3 Análisis de lotes

La Tabla 2, la Tabla 3, la Tabla 4 y la Tabla 5 presentan los resultados de las pruebas de liberación de los lotes de DS.

Tabla 2: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de principio activo de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) elaborados con el lote de WSL FA356399

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Número de lote				
			FA491832	FA491837	FA516286	FA521583	FA528519
Contenido de antígeno hemaglutinina (HA)	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Para formulación†	279 µg/mL (273-287)	296 µg/mL (287-305)	232 µg/mL (215-251)	231 µg/mL (218-246)	235 µg/mL (213-259)
Identificación de la HA	Ph. Eur. 0158, edición actual	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación de la neuraminidasa (NA)‡	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva	Positiva	NR§	NR	NR
Actividad enzimática de la NA‡	Método interno	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	NR	NR
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Virus infecciosos residuales	Ph. Eur. 0158, edición actual	Ausencia de virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de octoxinol 9	Método interno	≤800 µg/mL	612 µg/mL	573 µg/mL	566 µg/mL	668 µg/mL	616 µg/mL

* La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de inmunodifusión radial simple (SRID) para las cepas A y B.

† Vea la sección 3.2.S.4.5. Justificación de las especificaciones

‡ Realizada con los tres primeros lotes de DS elaborados a partir de un nuevo WSL.

§ NR: No realizada

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Tabla 3: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de principio activo de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) elaborados con el lote de WSL FA492096

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Lote				
			FA493954	FA495333	FA513975	FA513976	FA523944
Contenido de antígeno HA	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Para formulación †	209 µg/mL (204-214)	214 µg/mL (210-218)	213 µg/mL (202-225)	213 µg/mL (206-220)	206 µg/mL (190-225)
Identificación de HA	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación de la NA ‡	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	NRS
Actividad enzimática de la NA ‡	Método interno	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	NP
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Virus infecciosos residuales	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Ausencia de virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de octoxinol 9	Método interno	≤800 µg/mL	624 µg/mL	633 µg/mL	624 µg/mL	621 µg/mL	625 µg/mL

* La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de SRID para las cepas A y B.

† Vea la sección 3.2.S.4.5 Justificación de las especificaciones

‡ Realizada con los tres primeros lotes de DS elaborados a partir de un nuevo WSL.

§ NR: No realizada

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.

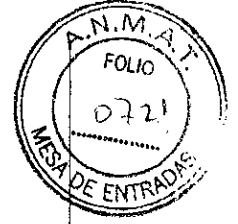


Tabla 4: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de DS de la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) elaborados con el lote de WSL FA413887

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Lote				
			FA495974	FA495977	FA518526	FA518527	FA518528
Contenido de antígeno HA	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Para formulación †	212 µg/mL (207-218)	216 µg/mL (212-221)	234 µg/mL (220-250)	221 µg/mL (209-233)	188 µg/mL (178-198)
Identificación de HA	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación de la NA ‡	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva	Positiva	NR§	NP	NP
Actividad enzimática de la NA ‡	Método interno	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	NP	NP
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Virus infecciosos residuales	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Ausencia de virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de octoxinol 9	Método interno	≤800 µg/mL.	615 µg/mL.	536 µg/mL.	571 µg/mL.	619 µg/mL.	638 µg/mL.

* La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de SRID para las cepas A y B.

† Vea la sección 3.2.S.4.5 Justificación de las especificaciones

‡ Realizada con los tres primeros lotes de DS elaborados a partir de un nuevo WSL.

§ NR: No realizada

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.

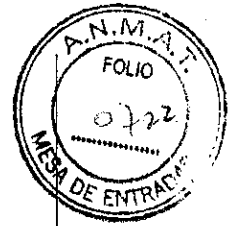


Tabla 5: Resultados de la prueba de liberación de QIV, lotes de DS de la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) elaborados con el lote de WSL FA490508

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Lote				
			FA492930	FA492931	FAS25566	FAS25567	FAS25570
Contenido de antígeno HA	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Para formulación †	167 µg/mL (163-171)	169 µg/mL (163-175)	188 µg/mL (175-202)	186 µg/mL (174-199)	186 µg/mL (166-209)
Identificación de HA	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Identificación de la NA ‡	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	NR§
Actividad enzimática de la NA †	Método interno	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	Presencia de actividad de la neuraminidasa	NP
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Virus infecciosos residuales	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Ausencia de virus infecciosos residuales	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Contenido de octoxinol 9	Método interno	≤800 µg/mL	564 µg/mL	575 µg/mL	619 µg/mL	615 µg/mL	608 µg/mL

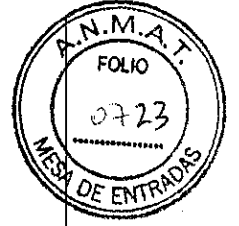
* La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de SRID para las cepas A y B.

† Vea la sección 3.2.S.4.5 Justificación de las especificaciones

‡ Realizada con los tres primeros lotes de DS elaborados a partir de un nuevo WSL.

§ NR: no realizada.

HOXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.





Todas las pruebas de lotes de DS de las cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) y B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata), cumplen las especificaciones.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Sección 3.2.S.4.5 Justificación de las especificaciones

Índice

Lista de tablas	2
1 Introducción.....	3
2 Contenido de antígeno hemaglutinina.....	3
3 Identificación del antígeno hemaglutinina, identificación del antígeno neuraminidasa y actividad enzimática de la neuraminidasa	4
4 Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica.....	4
5 Prueba de inactivación (virus infeccioso residual)	4
6 Contenido de octoxinol 9.....	4
6.1 Procedimiento analítico del contenido inicial de octoxinol 9.....	5
6.1.1 Descripción del procedimiento analítico	5
6.1.1.1 Principio	5
6.1.1.2 Equipo	5
6.1.1.3 Reactivos.....	5
6.1.1.4 Procedimiento operativo	6
6.1.1.5 Lecturas, cálculos, resultados.....	7
6.1.1.6 Criterios de validez	7
6.1.2 Validación del procedimiento analítico.....	7
6.1.2.1 Panorama.....	7
6.1.2.2 Resumen de la validación.....	8
6.1.2.3 Resultados y análisis	9
6.1.2.4 Conclusión.....	13
6.2 Comparabilidad de los procedimientos analíticos inicial y actual utilizados para determinar el contenido de octoxinol 9.....	13
6.2.1 Comparación de los resultados de validación obtenidos con los procedimientos analíticos inicial y actual	13
6.2.2 Comparación de los resultados de un lote de DS de QIV analizado con los procedimientos analíticos inicial y actual.....	14



Lista de tablas

Tabla 1: Resumen de los resultados de validación.....	8
Tabla 2: Precisión, concentraciones de octoxinol 9 ($\mu\text{g}/\text{mL}$).....	9
Tabla 3: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia.....	10
Tabla 4: Linealidad, concentraciones medidas de octoxinol 9 ($\mu\text{g}/\text{mL}$).....	10
Tabla 5: Resultados de linealidad.....	11
Tabla 6: Resultados de exactitud.....	13
Tabla 7: Comparación de los resultados de validación obtenidos con ambos procedimientos analíticos.....	14
Tabla 8: Resultados del contenido de octoxinol 9 para el lote FA545090 analizado con ambos procedimientos analíticos.....	15
Tabla 9: Comparación de los resultados obtenidos.....	15

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



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

1 Introducción

En esta sección se presentan las justificaciones de la especificación de liberación de las etapas de principio activo (DS) de la vacuna antigripal tetravalente (QIV).

La especificación de liberación (es decir, la lista de pruebas, el método utilizado y los criterios de aceptación) se basa en las reglamentaciones vigentes, tales como:

- Monografía n.º 0158 “Vacuna antigripal (virión fraccionado, inactivada)” de la Ph. Eur.;
- Serie de informes técnicos de la OMS (TRS) n.º 927, 2005, anexo 3, “Recommendations for the Production and Control of Influenza Vaccines (Inactivated)” [recomendaciones para la producción y el control de vacunas antigripales (inactivadas)].
- ICH Q6B “Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products” [especificaciones: procedimientos de prueba y criterios de aceptación para productos biotecnológicos/biológicos] septiembre de 1999.

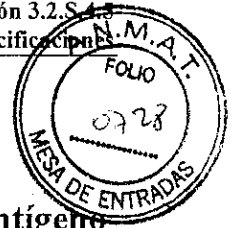
Los métodos utilizados son los requeridos por las reglamentaciones antes mencionadas.

Los criterios de aceptación se fijaron de conformidad ya sea con las monografías de la Ph. Eur. como con las demás reglamentaciones antes mencionadas, o basándose en la experiencia obtenida durante el desarrollo del DS.

2 Contenido de antígeno hemaglutinina

Según la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, la prueba para determinar el contenido de antígeno HA se realiza por inmunodifusión radial simple (SRID).

El contenido de antígeno HA del DS se considera indicador de la productividad (rendimiento). Dado que este parámetro depende de la cepa, no se pudo definir un criterio de aceptación. El contenido de antígeno HA para cada cepa que se determina en esta etapa se utiliza solo para realizar cálculos durante la formulación del producto final a granel (PFAG) (vea la sección 3.2.P.3.3 Descripción del proceso de elaboración y controles del proceso). En la etapa de producto llenado (FP) se establece un límite formal para el contenido de antígeno HA (vea la sección 3.2.P.5.1 Especificaciones) según lo requiere la Ph. Eur. 0158, edición actual.



3 Identificación del antígeno hemaglutinina, identificación del antígeno neuraminidasa y actividad enzimática de la neuraminidasa

Según la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, se evalúa el antígeno neuraminidasa en los tres primeros lotes de DS elaborados a partir de un nuevo lote de siembra de trabajo.

La presencia y el tipo de antígeno NA se confirman mediante un método de amplificación de ácidos nucleicos (transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa, RT-PCR [identificación]) y un método enzimático (actividad). Además, se incluye una prueba específica de identidad para el antígeno HA en el conjunto de especificaciones para el DS. Ambos antígenos tienen una actividad biológica medible¹.

4 Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica

La prueba de esterilidad bacteriana y fúngica es un requisito de la Ph. Eur. n.º 0158, edición actual, para documentar la seguridad del principio activo. El método de filtración por membrana y el criterio de aceptación ("ausencia de crecimiento microbiano") cumplen con la Ph. Eur. 2.6.1.

5 Prueba de inactivación (virus infeccioso residual)

Según la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS, la prueba de virus infecciosos residuales se realiza en la etapa de DS.

El criterio de aceptación es "ausencia de virus infecciosos residuales", de conformidad con la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual.

6 Contenido de octoxinol 9

Según la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS, se realiza la cuantificación de los productos químicos utilizados para la fragmentación, en este caso octoxinol 9. El contenido de octoxinol 9 se determina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase inversa.

El criterio de aceptación del DS para la vacuna antigripal tetravalente (QIV) se basa en los siguientes parámetros:

- Para el DS elaborado para la vacuna antigripal trivalente (TIV) estacional de Sanofi Pasteur, Francia, el factor de dilución en la etapa 20 del proceso de elaboración se establece en 1,7. La especificación para el contenido de octoxinol 9 de la TIV en la etapa de DS es $\leq 560 \mu\text{g/mL}$.

¹ La hemaglutinina produce la aglutinación (coagulación) de los eritrocitos (denominada hemaglutinación). La neuraminidasa tiene una actividad enzimática: separa los residuos terminales de ácido siálico de los carbohidratos y de las proteínas.



- Para el DS elaborado para la QIV, el factor de dilución en la etapa 20 del proceso de elaboración se establece en 1,2 (vea la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración para obtener más información).

El contenido máximo de octoxinol 9 en el DS de la QIV se calcula entonces del siguiente modo:

$$560 \mu\text{g/mL} \times 1,7/1,2 = 793,33 \mu\text{g/mL}, \text{ redondeado a } 800 \mu\text{g/mL}$$

El criterio de aceptación para el contenido de octoxinol 9 se establece, por lo tanto, en $\leq 800 \mu\text{g/mL}$.

El procedimiento analítico utilizado para medir el contenido de octoxinol 9 en el DS se modificó durante el desarrollo de la QIV. En ambos casos, el contenido de octoxinol 9 en el DS se analiza mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase inversa. La modificación se realizó con respecto a la mejora de la tecnología de HPLC para los análisis químicos, con el objetivo de reducir la cantidad de resultados no válidos en el análisis de octoxinol 9. Consistió en un cambio de las condiciones cromatográficas y del modo cuantificación.

El método inicial se utilizó para medir el contenido de octoxinol 9 en los lotes de principio activo hasta mayo de 2015, por lo tanto, el contenido de octoxinol 9 del principio activo utilizado para los lotes clínicos GQM011 se analizó con este método inicial. Este método inicial se presenta a continuación, así como su validación.

El método actual, utilizado para medir el contenido de octoxinol 9 en lotes de DS desde mayo de 2015, se presenta en la sección 3.2.S.4.2. Procedimientos analíticos.

Se realizó un estudio de comparabilidad entre ambos métodos para evaluar el efecto del cambio en el contenido de octoxinol 9. Este estudio se presenta a continuación.

6.1 Procedimiento analítico del contenido inicial de octoxinol 9

6.1.1 Descripción del procedimiento analítico

6.1.1.1 Principio

El contenido de octoxinol -9 en el DS se analiza mediante HPLC.

6.1.1.2 Equipo

Equipo analítico estándar (por ej., equipo de HPLC).

6.1.1.3 Reactivos

Reactivos

- Acetonitrilo (gradiente para HPLC);
- Metanol (gradiente para HPLC);
- Ácido trifluoroacético,
- Solución salina tamponada con fosfato (PBS).



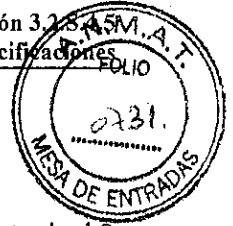
Referencias estándar y controles

- Estándar de referencia: octoxinol 9
- Estándar interno (ISTD): solución de referencia de BSA con una concentración conocida diluida con tampón PBS.
- Control interno: Solución de octoxinol 9 al 10 %.

6.1.1.4 Procedimiento operativo

Condiciones cromatográficas

- Precolumnas y columnas analíticas: fase inversa (C4)
- Detección: UV a 224 nm.
- Fase móvil:
 - Disolvente A: metanol y ácido trifluoroacético en agua purificada.
 - Solvente B: metanol y ácido trifluoroacético en acetonitrilo.
- Elución: la columna se equilibra primero con una mezcla de disolvente A y disolvente B. La separación de los analitos se asegura mediante el uso de una elución por gradiente.



Procedimiento analítico

- Preparación de las muestras de referencia: se preparan distintas concentraciones de octoxinol 9 en solución salina tamponada con fosfato (PBS). El estándar interno (ISTD) de solución de BSA (albúmina de suero bovino) se añade con exactitud.
- Preparación de las muestras de prueba y de la solución de control interno: se añade el estándar interno (solución de BSA) a cada muestra de prueba y a la solución de control interno con el mismo volumen que para la referencia. A continuación, se diluyen las muestras y las soluciones de control interno con solución PBS.
- Se inyectan las muestras de referencia, el control interno y las muestras y se separan utilizando un gradiente específico.

6.1.1.5 Lecturas, cálculos, resultados

Cada analito se detecta mediante absorción UV a 224 nm.

La concentración de octoxinol 9 en la muestra de prueba se determina mediante la comparación de

la proporción $\frac{\text{area}_{\text{octoxinol 9}}}{\text{area}_{\text{ISTD}}}$ con la curva de referencia (*Nota: ISTD = estándar interno de BSA*).

6.1.1.6 Criterios de validez

La prueba se considera válida si se cumplen las siguientes condiciones:

- El coeficiente de correlación de la curva de referencia es igual o mayor que 0,99.
- La concentración obtenida para cada control interno al principio y al final de la secuencia se encuentra dentro de los límites del gráfico de control.

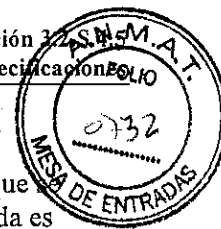
6.1.2 Validación del procedimiento analítico

6.1.2.1 Panorama

Como el método es un análisis cuantitativo, se evaluaron las siguientes características de validación:

- Especificidad;
- Exactitud;
- Precisión:
 - Repetibilidad;
 - Precisión intermedia;
- Linealidad

Todos los análisis se realizan según se describe a continuación.



Se seleccionó la cepa A/H3N2 como matriz modelo para la validación de la prueba ya que se prevé que sea la cepa con mayor concentración de octoxinol 9. La cepa A/H3N2 utilizada es A/Victoria/210/2009 X-187 (lote FA427591).

Esta validación es aplicable para cepas A y B ya que las matrices de ambos tipos de cepas son similares.

6.1.2.2 Resumen de la validación

En la Tabla 1 se resumen los criterios de aceptación y los resultados de validación para cada característica de validación.

Tabla 1: Resumen de los resultados de validación

Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Especificidad	El pico de octoxinol 9 solo contiene octoxinol 9. No se detecta ningún otro producto con el mismo tiempo de retención que el octoxinol 9.	El pico de octoxinol 9 solo contiene octoxinol 9. No se detecta ningún otro producto con el mismo tiempo de retención que el octoxinol 9.
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es menor o igual que $\pm 60 \mu\text{g/mL}$.	- Coeficiente de variación de la precisión intermedia: 2,05 % - Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 corrida: $\pm 25 \mu\text{g/mL}$ - Redondeos recomendados: a la unidad.
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} \geq 0,05$ (o aceptable con los criterios de Bliss)	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,84$ Después de un ajuste lineal de Y (concentración medida [$\mu\text{g/mL}$]) en función de X (concentración teórica [$\mu\text{g/mL}$]), en un sistema log-log, se obtiene la siguiente ecuación: $Y = -28,786 + 1,070 \cdot X$ Rango de linealidad: [99-1285] $\mu\text{g/mL}$.
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los niveles de concentración teórica se halla entre el 90 % y el 110 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza son, respectivamente: 100,9 % [97,5 %-104,4 %]

El método es específico, lineal y exacto en el rango de [99--1285] $\mu\text{g/mL}$ con una recuperación promedio del 100,9 %.

El método es preciso con un coeficiente de variación para la precisión intermedia del 2,05 % y un intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia de $\pm 25 \mu\text{g/mL}$ para 1 corrida de rutina.



6.1.2.3 Resultados y análisis

6.1.2.3.1 Especificidad

La especificidad se evalúa separando el pico del octoxinol 9 por HPLC y después caracterizándolo mediante una técnica de identificación por espectrometría de masas. En este estudio se demostró que:

- El pico de octoxinol 9 solo contiene octoxinol 9.
- No se detecta ningún otro producto con el mismo tiempo de retención que el octoxinol 9.

El método es específico.

6.1.2.3.2 Precisión

El diseño experimental fue el siguiente:

- Precisión intermedia: Se llevaron a cabo 3 grupos de análisis independientes con el mismo método, realizados por 3 operadores diferentes, con equipos diferentes y en días diferentes.
- Repetibilidad: dentro de cada uno de los grupos mencionados se realizaron 6 análisis. Los análisis se realizaron de forma independiente (preparación independiente de la muestra), utilizando el mismo método, en el mismo laboratorio, a cargo del mismo operador, con el mismo equipo, en un período breve.

Los datos analizados son concentraciones de octoxinol 9 expresadas en $\mu\text{g/mL}$.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Precisión, concentraciones de octoxinol 9 ($\mu\text{g/ mL}$)

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
585	584	568
584	580	563
585	577	564
585	578	562
587	573	566
596	574	564

Según el análisis estadístico realizado con los datos de la Tabla 2.

- La prueba de COCHRAN muestra que las varianzas de los 3 grupos son homogéneas.
- Los parámetros de repetibilidad, los parámetros de precisión intermedia y el intervalo de confianza del 95 % para 1 corrida se presentan en la Tabla 3.
- Media general: $\bar{m} = 576,389 \mu\text{g/mL}$.



Tabla 3: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia

	Desviación estándar	Coefficientes de variación	Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para k = 1 y n = 1
Parámetros de repetibilidad	3,713	0,64%	-
Parámetros de precisión intermedia	11,802	2,05 %	±25 µg/mL

La precisión es aceptable.

6.1.2.3.3 Linealidad

El diseño experimental fue el siguiente: 3 operadores realizaron 3 series independientes en 3 días distintos. Cada operador utiliza el mismo preparado como referencia.

Cada corrida incluyó el análisis de un rango de 5 niveles de dilución de la muestra.

Los datos analizados son concentraciones de octoxinol 9 expresadas en µg/mL.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Linealidad, concentraciones medidas de octoxinol 9 (µg/mL)

N.º de nivel de dilución	Cantidades de DS (mL)	Concentraciones teóricas de octoxinol 9 (µg/mL)*	Concentraciones medidas de octoxinol 9 (µg/mL)		
			Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
1	170	195,972	173	194	202
2	330	380,417	376	374	377
3†	500	576,389	596	574	564
4	750	864,583	932	881	863
5	1000	1152,778	1268	1197	1168

* Las concentraciones teóricas de octoxinol 9 se calculan a partir de la media de los análisis de precisión realizados con el mismo lote ($m = 576,389 \mu\text{g/mL}$):

Nivel 1: $170 * 576,389/500 = 195,972 \mu\text{g/mL}$

Nivel 2: $330 * 576,389/500 = 380,417 \mu\text{g/mL}$

Nivel 3: $576,389 \mu\text{g/mL}$

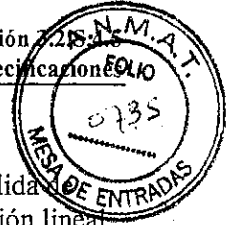
Nivel 4: $750 * 576,389/500 = 864,583 \mu\text{g/mL}$

Nivel 5: $1000 * 576,389/500 = 1152,778 \mu\text{g/mL}$

† El nivel de dilución n.º 3 corresponde a la muestra pura.

Según el análisis estadístico realizado con los datos de la Tabla 4:

- La prueba de COCHRAN demuestra que las varianzas de los 5 niveles de dilución son homogéneas.



- La dependencia entre la concentración teórica de octoxinol 9 y la concentración medida de octoxinol 9, así como la linealidad de esta relación, se verifican mediante una regresión lineal no ponderada utilizando el método de los mínimos cuadrados. Se observa una pendiente significativa al nivel del 1 % y una desviación no significativa de la linealidad al nivel del 5 %.

- Luego se calcula el límite inferior y superior del rango de linealidad de la siguiente manera:

$$\text{Límite inferior} = \hat{Y}_{(\text{mín.})} - 3\sqrt{s^2}$$

$$\text{Límite superior} = \hat{Y}_{(\text{máx.})} + 3\sqrt{s^2}$$

Donde Y(mín.) y Y(máx.) son respectivamente las concentraciones estimadas mediante la recta de regresión en el nivel mínimo y máximo analizado, y s^2 es la varianza residual de la regresión.

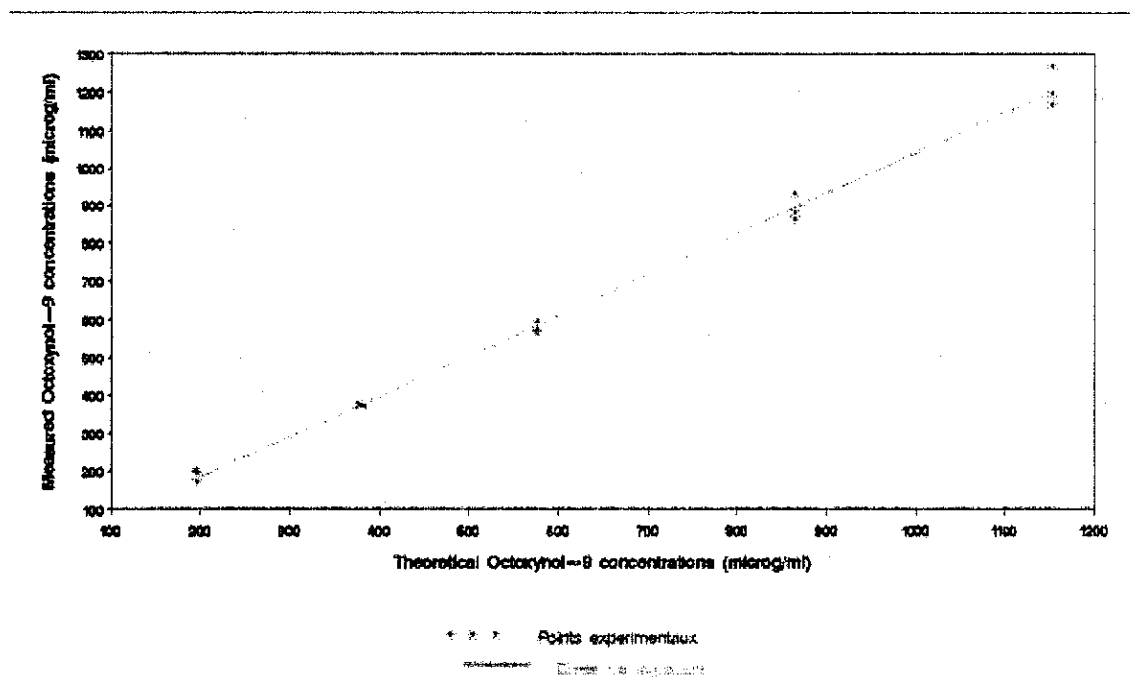
- La ecuación de la recta de regresión se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultados de linealidad

Ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de correlación lineal	Rango lineal en µg/mL
$Y = (-28,786 \pm 31,936) + (1,069 \pm 0,044) \cdot X$	0,9976 con 13 grados de libertad	[99,415-1285,416]
Donde: X = concentración teórica de octoxinol 9 expresada en µg/mL Y = concentración medida de octoxinol 9 expresada en µg/mL		



Figura 1: Gráfico de linealidad.



La linealidad es aceptable.

6.1.2.3.4 Exactitud

La exactitud se evalúa a partir de los resultados obtenidos en el estudio de linealidad presentado en la Tabla 4.

Los porcentajes de recuperación se calculan de la siguiente manera:

$$\text{Recuperación porcentual (\%)} = \frac{\text{Concentración medida de octoxinol 9}}{\text{Concentración teórica de octoxinol 9}} \times 100$$

El análisis estadístico se realiza en 4 niveles de concentración de octoxinol 9, ya que no se incluyen los resultados obtenidos para la muestra pura:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los 4 niveles son homogéneas.
- El análisis de varianzas permite concluir que las medias interniveles son iguales.
- La recuperación promedio y sus límites de confianza se presentan en la Tabla 6.

KOXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Tabla 6: Resultados de exactitud

Recuperación promedio	Límites de confianza del 95 %
100,9%	[97,5-104,4] %

La exactitud es aceptable.

6.1.2.4 Conclusión

El método es específico, lineal, exacto y preciso para las cepas A/H1N1, A/H3N2 y B.

El método es válido para cuantificar el contenido de octoxinol 9 en la QIV para las diferentes cepas A/H1N1, A/H3N2 y B de esta vacuna antigripal.

6.2 Comparabilidad de los procedimientos analíticos inicial y actual utilizados para determinar el contenido de octoxinol 9

Se realizó un estudio de comparabilidad entre el procedimiento analítico inicial y el actual utilizados para medir el contenido de octoxinol 9 a fin de evaluar el efecto del cambio en el contenido de octoxinol 9. Se abordaron dos puntos:

- La comparación de los resultados de validación obtenidos para ambos procedimientos analíticos.
- La comparación de los resultados de un lote de DS de QIV analizado con ambos procedimientos analíticos.

6.2.1 Comparación de los resultados de validación obtenidos con los procedimientos analíticos inicial y actual

La comparación de los resultados de validación obtenidos para ambos procedimientos analíticos se presenta en la Tabla 7:

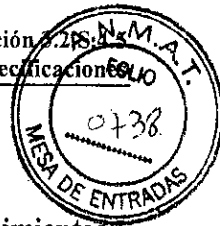


Tabla 7: Comparación de los resultados de validación obtenidos con ambos procedimientos analíticos

Característica	Criterio de aceptación	Procedimiento analítico actual	Procedimiento analítico inicial	Conclusión
Especificidad	En el lote que contiene la solución de agregado, la recuperación porcentual promedio se encuentra entre el 90 % y el 110 %.	98 % [95,7 %-100,3 %]	Especificidad demostrada mediante HPLC-espectrometría de masas durante la validación del procedimiento analítico con granel monovalente de TIV	N/A (criterios diferentes)
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es menor o igual que $\pm 30 \mu\text{g/mL}$.	$\pm 13 \mu\text{g/mL}$	$\pm 25 \mu\text{g/mL}$	El procedimiento analítico nuevo es más preciso
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} \geq 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,71$ Rango de linealidad: [197-978] $\mu\text{g/mL}$	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,84$ Rango de linealidad: [99-1285] $\mu\text{g/mL}$	La linealidad es satisfactoria para ambos procedimientos analíticos
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los niveles de concentración teórica se halla entre el 90 % y el 110 %.	99,3 % [98,8 %-99,9 %]	100,9 % [97,5 %-104,4 %]	El procedimiento analítico nuevo es más preciso

6.2.2 Comparación de los resultados de un lote de DS de QIV analizado con los procedimientos analíticos inicial y actual

El diseño experimental se basó en 20 análisis realizados con el mismo lote (FA545090), el mismo día y por el mismo operador, en paralelo con ambos métodos.

Dado que el tratamiento de la muestra y el procedimiento analítico son los mismos, las matrices de ambos tipos de cepas son similares y las diferencias del proceso de elaboración no tienen efecto sobre la validez del método, el estudio se realizó con la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1). Por otra parte, el lote FA545090 se considera el caso más desfavorable, porque es el que presenta mayor contenido octoxinol 9.

Los resultados de los 20 análisis se presentan en la Tabla 8.

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

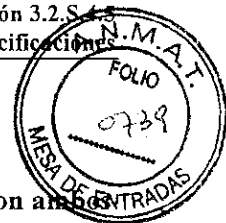


Tabla 8: Resultados del contenido de octoxinol 9 para el lote FA545090 analizado con ambos procedimientos analíticos

Lote FA545090 de DS de QIV	Procedimiento analítico actual (µg/mL)	Procedimiento analítico inicial (µg/mL)
	575	560
	564	558
	565	559
	571	562
	562	560
	569	567
	577	565
	569	566
	579	564
	584	558
	576	567
	577	570
	586	563
	576	563
	575	587
	578	553
	573	556
	573	554
	583	551
	573	555
Media	574	562
Resultado mínimo obtenido	562	551
Resultado máximo obtenido	586	587

La media y la desviación estándar para ambos procedimientos analíticos se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9: Comparación de los resultados obtenidos

Procedimiento analítico	Media	Desviación estándar (SD)	Conclusión
Procedimiento analítico inicial	561,9 µg/mL	7,847	Las desviaciones estándar son equivalentes. La desviación promedio entre el procedimiento analítico actual y el inicial es de +12,35 µg/mL
Procedimiento analítico actual	574,3 µg/mL	6,406	



Sección 3.2.S.5 Estándares o materiales de referencia

Índice

1	Estándares de referencia utilizados para la prueba de identificación de la hemaglutinina	2
2	Estándares de referencia utilizados para la prueba de contenido de antígeno hemaglutinina	2
2.1	Antígeno.....	2
2.2	Evaluación de los estándares de referencia de antígeno HA	2
2.2.1	Protocolo.....	3
2.2.1.1	Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del reactivo debido a un cambio de la cepa	3
2.2.1.2	Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del WSL	3
2.2.1.3	Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del lote de reactivos.....	3
2.2.2	Resultados del análisis.....	3
2.2.2.1	Precisión intermedia en el caso de cambio del reactivo debido a un cambio de cepa	3
2.2.2.2	Precisión intermedia en caso de cambio del WSL.....	4
2.2.2.3	En caso de cambio del lote de reactivos.....	4
3	Estándar de referencia utilizado para el análisis de octoxinol 9.....	4



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

1 Estándares de referencia utilizados para la prueba de identificación de la hemaglutinina

El análisis cualitativo implementado para la identificación del antígeno hemaglutinina (HA) en el principio activo (DS) requiere el uso de antígenos de referencia (vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos). Los antígenos de referencia, que provienen de cepas prototipo de referencia, o el antígeno de referencia utilizado para el método de inmunodifusión radial simple (SRID), son suministrados por los Centros Colaboradores de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los antígenos de referencia se cualifican con respecto al antisuero correspondiente, según los procedimientos internos vigentes.

Los reactivos de antígenos se almacenan a una temperatura de ≤ -60 °C (antígenos de referencia que provienen de cepas prototipo de referencia) o al menos a una temperatura de ≤ -20 °C (antígeno de referencia utilizado para el método de SRID).

2 Estándares de referencia utilizados para la prueba de contenido de antígeno hemaglutinina

Para la determinación del contenido de antígeno HA por inmunodifusión radial simple (SRID) se utilizan antígenos de referencia y antisueros. Los antígenos de referencia son suministrados por los Centros Colaboradores de la OMS, con sus títulos y condiciones de uso. La preparación de los antígenos de referencia se describe en la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos.

Se presenta un ejemplo del certificado de análisis del antígeno de referencia.

Los reactivos de antígenos se almacenan a una temperatura de ≤ -20 °C.

2.1 Antígeno

- **Contenido:** El antígeno se prepara a partir de cada cepa de virus purificada e inactivada. El contenido unitario exacto lo determina el centro colaborador de la OMS que suministra el antígeno.
- **Uso:** El estándar de referencia del antígeno se reconstituye según las instrucciones de uso suministradas por el proveedor.

2.2 Evaluación de los estándares de referencia de antígeno HA

Los reactivos (antígeno de referencia/antisuero) se cualifican en los casos siguientes:

- Cambio de reactivo debido a un cambio de cepa;



- Cambio del lote de siembra de trabajo (WSL), en caso de que las condiciones de uso de los reactivos no se puedan seguir aplicando al principio activo obtenido a partir de este nuevo WSL.
- Cambio de lote de reactivo.

El parámetro que se evalúa para la cualificación de los reactivos es la precisión intermedia.

2.2.1 Protocolo

2.2.1.1 Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del reactivo debido a un cambio de la cepa

La cualificación se realiza con al menos tres lotes de DS de la misma cepa que el reactivo que se someterá a prueba. Para cada lote, se llevan a cabo al menos 3 series en condiciones de precisión intermedia; los análisis los realizan de manera independiente 3 operadores.

Cuando solo están disponibles dos lotes, la precisión intermedia se evalúa con cuatro pruebas independientes por operador y por lote.

Cuando solo hay un lote disponible, la precisión intermedia se evalúa con seis pruebas independientes por operador.

2.2.1.2 Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del WSL

Los reactivos se cualifican si sus condiciones de uso ya no son aplicables al DS obtenido del nuevo WSL. Esta cualificación se realiza con el DS según el diseño experimental aplicado en el caso de cambio del reactivo debido a un cambio de la cepa.

2.2.1.3 Estudio de precisión intermedia en el caso de cambio del lote de reactivos

Se aplica el diseño experimental que se describe en caso de cambio del reactivo debido un cambio de cepa. Estas pruebas se realizan con el DS o el producto farmacéutico (DP) [producto final a granel (PFAG)/producto llenado (PL)].

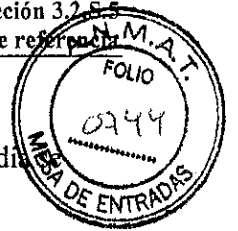
Además, para comparar el nuevo lote de reactivo con el anterior, se realizan análisis adicionales con el lote anterior de reactivo. Estos análisis adicionales se realizan con el DS o el DP en condiciones de precisión intermedia. Tres operadores realizan un análisis independiente para cada lote de DS o DP, de ser posible en tres medios días diferentes.

2.2.2 Resultados del análisis

2.2.2.1 Precisión intermedia en el caso de cambio del reactivo debido a un cambio de cepa

El análisis estadístico de los resultados incluye los siguientes pasos:

- Cálculo de los parámetros de la precisión intermedia para cada lote de DS.
- Verificación de la homogeneidad de las varianzas de la precisión intermedia calculada para cada lote de DS mediante una prueba de Cochran.



- Si se verifica la homogeneidad de las varianzas, los parámetros de precisión intermedia se calculan utilizando el promedio de las varianzas obtenidas con cada lote.
- De no ser así, se tiene en cuenta el caso más desfavorable para estimar la varianza de la precisión intermedia.
- Cálculo de los intervalos de confianza de la precisión intermedia para $k = 2$ análisis con $n = 1$ medición (o cuando se analiza el DP, $k = 1$ y $n = 1$).
- El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser mayor que $\times/1,11$ (o $1,16$ cuando se analiza el DP).

2.2.2.2 Precisión intermedia en caso de cambio del WSL

Se aplica el análisis estadístico que se describe en caso de cambio del reactivo debido un cambio de cepa.

2.2.2.3 En caso de cambio del lote de reactivos

El análisis estadístico de los resultados incluye los mismos pasos que para el cambio de reactivo debido a un cambio de cepa.

El análisis de los resultados de los análisis adicionales que se realiza para comparar el lote nuevo y el lote anterior de reactivos se lleva a cabo del siguiente modo, para cada lote de DS/DP:

- Se calcula el promedio de los tres resultados obtenidos con el reactivo nuevo y su intervalo de confianza del 95 %.
- Se calcula el promedio de los tres resultados obtenidos con el reactivo anterior y su intervalo de confianza del 95 %.
- Los intervalos de confianza del reactivo nuevo y del anterior (mencionado anteriormente) se deben traslapar.

3 Estándar de referencia utilizado para el análisis de octoxinol 9

El estándar de referencia utilizado para el análisis de octoxinol 9 (vea la sección 3.2.S.4.2 Procedimientos analíticos) lo suministra un proveedor externo.

Cuando se utiliza un nuevo lote de estándar de referencia de octoxinol 9, la referencia se cualifica de conformidad con los procedimientos internos vigentes.

Se presenta un ejemplo del certificado de análisis.

El estándar de referencia se almacena a temperatura ambiente.



Sección 3.2.S.4.3 Validación de los procedimientos analíticos

Índice

Lista de tablas	3
Lista de figuras	5
1 Introducción.....	6
2 Método analítico detallado en la Farmacopea Europea	6
3 Pruebas no descritas o no detalladas en la Farmacopea Europea	6
3.1 Contenido de antígeno hemaglutinina	6
3.1.1 Introducción.....	6
3.1.2 Panorama	6
3.1.3 Resumen de la validación	7
3.1.4 Resultados y análisis.....	9
3.1.4.1 Especificidad	9
3.1.4.2 Precisión.....	11
3.1.4.3 Linealidad.....	14
3.1.4.4 Exactitud	21
3.1.5 Conclusión.....	25
3.2 Identificación del antígeno HA	26
3.2.1 Panorama	26
3.2.2 Resumen de la validación	26
3.2.3 Resultados y análisis.....	27
3.2.4 Conclusión	30
3.3 Identificación del antígeno neuraminidasa (método RT-PCR).....	30
3.3.1 Panorama	30
3.3.2 Validación para la cepa A/California/7/2009 (H1N1).....	31
3.3.3 Validación para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2).....	32
3.3.4 Validación para la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria).....	35
3.3.5 Validación para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata).....	36
3.3.6 Conclusión.....	37
3.4 Prueba de actividad enzimática de la neuraminidasa.....	38
3.4.1 Panorama	38



3.4.2	Resumen de la validación.....	
3.4.3	Resultados y análisis.....	38
3.4.3.1	Especificidad.....	38
3.4.3.2	Límite de detección.....	39
3.4.4	Conclusión.....	41
3.5	Contenido de octoxinol 9.....	42
3.5.1	Panorama.....	42
3.5.2	Resumen de la validación.....	42
3.5.3	Resultados y análisis.....	43
3.5.3.1	Especificidad.....	43
3.5.3.2	Precisión.....	43
3.5.3.3	Linealidad.....	44
3.5.3.4	Exactitud.....	46
3.5.3.5	Conclusión.....	47

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Lista de tablas

Tabla 1: Resumen de los resultados de la validación, método de SRID	8
Tabla 2: Presencia o ausencia de anillo en cada referencia.....	10
Tabla 3: Precisión, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa A/H1N1	11
Tabla 4: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia, cepa A/H1N1	11
Tabla 5: Precisión, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa A/H3N2	12
Tabla 6: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia, cepa A/H3N2	12
Tabla 7: Precisión, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa B/linaje Victoria	12
Tabla 8: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia, cepa B/linaje Victoria	13
Tabla 9: Precisión, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa B/linaje Yamagata	13
Tabla 10: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia, cepa B/linaje Yamagata	13
Tabla 11: Linealidad, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa A/H1N1	14
Tabla 12: Linealidad, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa A/H3N2	16
Tabla 13: Linealidad, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa B/linaje Victoria	18
Tabla 14: Linealidad, concentración de antígeno HA ($\mu\text{g}/\text{mL}$), cepa B/linaje Yamagata	20
Tabla 15: Recuperación porcentual, cepa A/H1N1	22
Tabla 16: Recuperación porcentual promedio, cepa A/H1N1.....	22
Tabla 17: Recuperación porcentual, cepa A/H3N2.....	23
Tabla 18: Recuperación porcentual promedio, cepa A/H3N2.....	23
Tabla 19: Porcentajes de recuperación (%), cepa B/linaje Victoria	23
Tabla 20: Recuperación porcentual promedio, cepa B/linaje Victoria.....	24
Tabla 21: Porcentajes de recuperación, cepa B/linaje Yamagata.....	25
Tabla 22: Recuperación porcentual promedio, cepa B/linaje Yamagata	25
Tabla 23: Resumen de los resultados de validación, identidad del antígeno HA.....	27
Tabla 24: Títulos teóricos de los antisueros de referencia obtenidos contra antígenos de referencia (validación de los reactivos).....	28
Tabla 25: Títulos de los antígenos.....	28
Tabla 26: Resultados de la reacción de identidad	29
Tabla 27: Resultados experimentales correspondientes a la cepa A/California/7/2009 (H1N1)	32
Tabla 28: Resultados experimentales para la cepa A/Texas/50/2012 (H3N2).....	34

