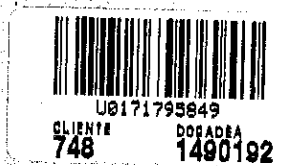


STO

CUERO

Expte -

15645-16-6



Sanofi Pasteur

Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivada) Introducción del resumen general de calidad

Sección


2.3

(OOS)



RA_1021672

Información confidencial/propietaria
Página 8 de 8



ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Sección 2.3.P.4 Control de excipientes

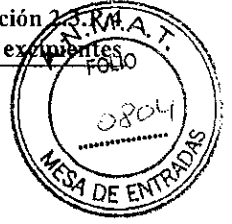
Índice

Lista de tablas	2
1 Especificaciones de los excipientes.....	3
2 Excipientes de origen humano o animal.....	3
3 Excipientes nuevos.....	3



Lista de tablas

Tabla 1: Lista de excipientes3



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

1 Especificaciones de los excipientes

Los siguientes excipientes utilizados en la elaboración del producto terminado final se mencionan en la Ph. Eur. Todos los excipientes enumerados se utilizan para preparar la solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Todos los componentes se analizan de conformidad con las monografías de la Ph. Eur. La referencia a la monografía aplicable a cada componente se enumera en la Tabla 1.

Tabla 1: Lista de excipientes

Excipiente	Referencia a la farmacopea
Solución PBS:	
Cloruro de sodio	Ph. Eur. 0193, edición actual.
Cloruro de potasio	Ph. Eur. 0185, edición actual.
Fosfato disódico dihidrato	Ph. Eur. 0602, edición actual.
Fosfato de potasio dihidrogenado	Ph. Eur. 0920, edición actual.
Agua para inyectables (WFI)	Ph. Eur. 0169, edición actual.

Los procedimientos analíticos utilizados para controlar los componentes de la solución PBS, contenida en la vacuna antigripal tetravalente (QIV), son los que se describen en las monografías de la farmacopea y por lo tanto no figuran en este documento. No se presenta información de validación para las pruebas realizadas de conformidad con los métodos de la farmacopea.

No se presenta justificación para los componentes de la solución PBS cuyas especificaciones cumplen con la Ph. Eur.

2 Excipientes de origen humano o animal

No se utiliza ningún excipiente de origen humano o animal en la elaboración de la QIV.

3 Excipientes nuevos

Todos los excipientes utilizados en la elaboración de la QIV son bien conocidos y no se consideran nuevos.



Sección 2.3.P.5 Control del producto medicinal

Índice

Lista de tablas	2
1 Especificaciones y justificación de las especificaciones.....	3
2 Procedimientos analíticos y validación de los procedimientos analíticos.....	7
2.1 Pruebas de liberación del producto final a granel de la vacuna antigripal tetravalente.....	7
2.1.1 Contenido de formaldehído libre.....	7
2.1.1.1 Resumen de procedimientos analíticos	7
2.1.1.2 Resumen de validación de los procedimientos analíticos	7
2.1.1.3 Resumen del procedimiento analítico para la determinación del contenido de proteínas totales.....	9
2.1.1.4 Resumen de validación de los procedimientos analíticos	9
2.1.1.5 Resumen del procedimiento analítico del contenido de ovoalbúmina.....	11
2.1.1.6 Resumen de validación de los procedimientos analíticos	11
2.1.2 Proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno hemaglutinina]	12
2.2 Pruebas de liberación para el producto llenado de la vacuna antigripal tetravalente	12
2.2.1 Contenido e identificación del antígeno HA	13
2.2.1.1 Resumen de procedimientos analíticos	13
2.2.1.2 Resumen de validación de los procedimientos analíticos	13
2.2.1.3 Estudios adicionales que respaldan el uso de SRID bivalente para las cepas B	15
3 Análisis de lotes.....	17
3.1 Descripción de los lotes analizados	17
3.2 Análisis de lotes	18
3.2.1 Resultados del producto final a granel	18
3.2.2 Resultados del producto llenado.....	22
4 Caracterización de impurezas.....	26



Lista de tablas

Tabla 1: Especificación de liberación del PFAG	4
Tabla 2: Especificación de liberación para el FP	5
Tabla 3: Resumen de validación para el contenido de formaldehído libre	8
Tabla 4: Resumen de validación para el contenido proteico total.....	10
Tabla 5: Resumen de validación para el contenido de ovoalbúmina	11
Tabla 6: Resumen de validación del contenido de antígeno HA mediante SRID.....	14
Tabla 7: Descripción del lote de PFAG.....	17
Tabla 8: Descripción del lote de FP	17
Tabla 9: Resultados de las pruebas de liberación de QIV, lotes de PFAG	19
Tabla 10: Contenido de antígeno HA en µg/dosis (resultados de IPC), PFAG	21
Tabla 11: Resultados de la prueba de liberación de los lotes de FP de QIV para la planta de Le Trait	23
Tabla 12: Resultados de la prueba de liberación de los lotes de FP de QIV para la planta de VDR de Sanofi Pasteur	24
Tabla 13: Contenido de impurezas relacionadas con el DS en la etapa de PFAG	26



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

1 Especificaciones y justificación de las especificaciones

Las especificaciones de liberación de las etapas de producto farmacéutico (DP) de la vacuna antigripal tetravalente (QIV) están basadas en:

- la monografía n.º 0153 de la Ph. Eur. “Vacunas para uso en seres humanos”, edición actual;
- la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur. “Vacuna antigripal (virión fraccionado, inactivada)”;
- 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*.
- 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)].
- La experiencia adquirida durante el desarrollo farmacéutico y clínico.

Las especificaciones de liberación del producto final a granel (PFAG) y del producto llenado (FP) de la vacuna antigripal tetravalente (QIV) se resumen en la Table 1 y en la Table 2, respectivamente, con una justificación para cada prueba, referencia al método y criterios de aceptación.

Las especificaciones que se utilizarán para controlar el FP en los estudios de estabilidad iniciales y en curso se presentan en la sección 3.2.P.8.2 Protocolo de estabilidad posterior a la aprobación y compromiso de estabilidad.



Tabla 1: Especificación de liberación del PFAG

Prueba	Referencia / método	Criterio de aceptación	Justificación de las especificaciones
Esterilidad bacteriana y fúngica	Filtración por membrana/Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana.	Esta prueba en el PFAG la requiere la Ph. Eur. n.º 0158, edición actual, y TRS n.º 927 de la OMS El criterio de aceptación es un requisito de seguridad regulatorio.
Contenido de formaldehído libre	Método colorimétrico de Nash (método interno)	≤60 µg/mL	Se utiliza formaldehído para la inactivación del virus. El monitoreo de su eliminación lo requiere tanto la monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, como la monografía 0153 de la Ph. Eur., edición actual. El criterio de aceptación se basa en el utilizado para el control y la liberación de la vacuna antigripal trivalente estacional de Sanofi Pasteur, Francia, para uso intramuscular (TIV), y es ≤60 µg/mL. El cambio en la composición de la vacuna desde la TIV hasta la QIV provoca una ligera elevación de la concentración de formaldehído en el PFAG; no obstante, esta elevación no afecta el límite de 60 µg/mL. Este criterio de aceptación es más estricto que el requisito regulatorio ya que el límite superior recomendado por la monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y por la monografía 0153 de la Ph. Eur., edición actual, es de 0,2 g/L.
Contenido proteico total	Método Kjeldahl/método interno basado en el método n.º 2.5.9 de la Ph. Eur., edición actual, y en el método n.º 2.5.33 (método 7, procedimiento A) de la Ph. Eur, edición actual.	≤600 µg/mL	Cumplimiento de la Ph. Eur. 0158, edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS. El criterio de aceptación para el contenido de proteína total cumple con la monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, que es "no más de 300 µg por dosis de vacuna". Considerando que una dosis de vacuna es igual a 0,50 mL, la concentración de proteína total en el PFAG no debe superar los 600 µg/mL.



Prueba	Referencia / método	Criterio de aceptación	Justificación de las especificaciones
Contenido de ovoalbúmina	ELISA/Ph. Eur. 2.7.1, edición actual	≤100 ng/mL	Cumplimiento de la Ph. Eur. 0158, edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS. El criterio de aceptación es ≤100 ng/mL, correspondientes a ≤50 ng/dosis, y está basado en el 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 hemaglutinina (HA)]	/ Por cálculo*	≤6	Cumplimiento de la Ph. Eur. 0158, edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS. El criterio de aceptación se basa en el requisito regulatorio de la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y de la TRS n.º 927 de la OMS que estableció que el contenido proteico total "no es mayor que seis veces el contenido total de antígeno HA de la vacuna determinado en el análisis".

* Con base en los resultados del contenido de proteína total y contenido de HA realizados como prueba de control durante el proceso (IPC) en la etapa de PFAG.

Tabla 2: Especificación de liberación para el FP

Prueba*	Método	Criterio de aceptación	Justificación de las especificaciones
Esterilidad bacteriana y fúngica	Filtración por membrana/Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana.	Cumplimiento de 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.
Aspecto	Evaluación visual/Ph. Eur. 2.9.20, edición actual	Líquido incoloro y opalescente	Cumplimiento de la guía Q6B de la ICH (sección 4.2.1), monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual El criterio de aceptación es "Líquido incoloro opalescente" y está basado en la monografía 0158 de la Ph. Eur. que indica que "La vacuna tiene el aspecto de un líquido ligeramente opalescente" y en los resultados obtenidos con los lotes de viabilidad.



Prueba*	Método	Criterio de aceptación	Justificación de las especificaciones
pH	Determinación potenciométrica/Ph. Eur. 2.2.3, edición actual.	6,8 - 7,6	Cumple con la monografía n.º 0153 de la Ph. Eur., edición actual. El criterio de aceptación es el mismo que el utilizado para el control y la liberación de la TIV, el rango de aceptación [6,8-7,6] se basa en el pH de la solución salina tamponada con fosfato (PBS).
Volumen extraíble	Pesaje/Ph. Eur., 2.9.17, edición actual	≥ volumen nominal	Conforme a la monografía n.º 0153 de la Ph. Eur., edición actual. El criterio de aceptación es "≥ volumen nominal" y cumple con la recomendación del método n.º 2.9.17 de la Ph. Eur., que es no menor que el volumen nominal (es decir, 0,50 mL por dosis). Permite la administración de un mínimo de 0,50 mL de vacuna por jeringa.
Identificación del antígeno HA	Inmunodifusión radial simple (SRID)/Ph. Eur. 2.7.1, edición actual.	Identificación positiva para las 4 cepas.	Conforme a la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS.
Contenido de antígeno HA para: Cepa A/H1N1 Cepa A/H3N2 Cepa B/Victoria Cepa B/Yamagata	(Cepas A: método clásico cepas B: método bivalente)	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	El criterio de aceptación para el contenido de antígeno HA se basa en las monografías mencionadas anteriormente, es decir, el límite inferior de confianza (p = 0,95) no es inferior al 80 % de la cantidad indicada en la etiqueta para cada cepa (límite inferior: 12 µg/cepa/dosis).
Contenido de endotoxinas bacterianas	Método cromogénico cinético de lisado de amebocitos de Limulus (LAL)/Ph. Eur. 2.6.14, edición actual.	< 100 UI/dosis	Cumple con las monografías n.º 0153 y n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS. El criterio de aceptación es "<100 UI/dosis" y cumple con la monografía 0158 de la Ph. Eur., edición actual, que exige menos de 100 UI por dosis humana.

* Conforme a la monografía n.º 0158 de la Ph. Eur., edición actual, y la TRS n.º 927 de la OMS, la prueba de toxicidad anormal se debe realizar en la etapa de FP. El criterio de aceptación es "Ausencia de muertes o signos de enfermedad en los 7 días posteriores a la inyección" y se define de conformidad con el método 2.6.9 de la Ph. Eur., edición actual. No obstante, como se sugiere en esta guía y monografía, la prueba puede omitirse para la liberación de lotes de rutina una vez que está bien establecida la uniformidad de la producción y cuando se implementan buenas prácticas de manufactura (BPM). La prueba de toxicidad anormal se realizó en seis lotes de validación de FP elaborados según las BPM (vea la sección 3.2.P.5.4 Análisis de lotes). Los resultados de la prueba de toxicidad anormal cumplieron el criterio de aceptación. Con base en estos resultados, se prevé eliminar la prueba de toxicidad anormal una vez que se haya establecido definitivamente la uniformidad de la producción. La uniformidad de la producción, con respecto a la prueba de toxicidad anormal, se establecerá en 10 lotes que cumplen con las BPM, elaborados según el proceso industrial actual, como lo sugiere la guía técnica de la Dirección Europea para la Calidad de los Medicamentos (EDQM).



2 Procedimientos analíticos y validación de los procedimientos analíticos

2.1 Pruebas de liberación del producto final a granel de la vacuna antigripal tetravalente

El método de la prueba de esterilidad bacteriana y fúngica se realiza en el momento de la liberación, de acuerdo con el método farmacopeico que se enumera en la Table 1. Para esta prueba, no se precisan datos de validación analítica.

A continuación, se presentan los resúmenes de los métodos analíticos y los resultados de la validación de los métodos analíticos para los procedimientos analíticos no detallados en las farmacopeas.

2.1.1 Contenido de formaldehído libre

2.1.1.1 Resumen de procedimientos analíticos

Esta prueba del contenido de formaldehído libre es un método colorimétrico basado en espectrofotometría visible UV, denominado método de Nash.

El contenido de formaldehído libre del PFAG se analiza midiendo la absorbancia del compuesto coloreado (3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina) formado por la reacción del formaldehído con acetilacetona en presencia de un exceso de sales de amoníaco. La absorbancia de la 3,5-diacetil-1, 4-dihidrolutidina se mide en su máxima absorción (413 nm) y se compara con una curva de referencia preparada con un estándar de referencia.

La intensidad del color es proporcional a la cantidad de formaldehído presente en la muestra.

El procedimiento analítico utilizado para determinar el contenido de formaldehído libre en el PFAG se describe en su totalidad en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

2.1.1.2 Resumen de validación de los procedimientos analíticos

La prueba de contenido de formaldehído libre se validó en cuanto a su especificidad, linealidad, exactitud, precisión (intermedia y repetibilidad) y límite de cuantificación (LQ). Los resultados de validación obtenidos se aplican también a la etapa de FP, ya que la única diferencia entre las etapas de PFAG y FP es el paso de llenado.

En la Table 3 se presenta un resumen de los resultados de la validación analítica.



Tabla 3: Resumen de validación para el contenido de formaldehído libre

Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Especificidad	El porcentaje medio de recuperación entre la concentración medida del agregado y el agregado teórico debe hallarse entre el 80 % y el 120 % a los niveles +1 y +2.	El porcentaje de recuperación para los niveles +1 y +2 es respectivamente igual al: 103 % y 111 %.
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser $\leq x/\pm 1,2$.	Media general: — $m = 1,497$ que equivale a $31,4 \mu\text{g/mL}$ en forma aritmética. La desviación estándar relativa de la repetibilidad y de la precisión intermedia es respectivamente igual al: $1,5\%$ y $2,2\%$. Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 corrida con 1 medición: $\pm 0,022$ es decir $x/\pm 1,05$ en notación aritmética.
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} \leq 0,01$ $P_{\text{Falta de ajuste}} > 0,05$ (de lo contrario, la curvatura sería despreciable con respecto a la regresión).	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{Falta de ajuste}} < 0,01$ \Rightarrow Pero la curvatura es despreciable. $Y = 0,005 + 1,004 \times X$ Donde X = concentración teórica prevista del formaldehído residual ($\log[\mu\text{g/mL}]$) y Y = concentración medida del formaldehído residual ($\log[\mu\text{g/mL}]$). $R^2 = 0,9998$ Rango de linealidad: $[0,4 - 82,7] \mu\text{g/mL}$
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los 4 niveles de concentración teórica esperada debe hallarse entre el 80 % y el 120 %.	En función del nivel de concentración, la recuperación porcentual media está entre el 101 % y el 107 %.
Límite de cuantificación	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser $\leq x/\pm 1,3$ El porcentaje medio de recuperación en el LQ debe hallarse entre el 80 % y el 120 %.	El límite de cuantificación es: $LQ = 0,4 \mu\text{g/mL}$ La recuperación porcentual promedio en el límite de cuantificación es: 102% Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 corrida con 1 medición: $\pm 0,028$ es decir $x/\pm 1,07$ en notación aritmética.

Los datos completos de validación analítica se presentan en la sección 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

Todas las características de validación cumplen los criterios de aceptación. En conclusión, el método de prueba se consideró válido cuando se utilizó para cuantificar el contenido de formaldehído libre en las etapas de PFAG y FP.



2.1.1.3 Resumen del procedimiento analítico para la determinación del contenido de proteínas totales

La determinación de proteínas está basada en el análisis de nitrógeno por mineralización con ácido sulfúrico. El contenido de nitrógeno se analiza por destilación seguida de titulación.

Las proteínas se precipitan con un reactivo sulfotúngstico. Luego se recolecta el precipitado. Durante la mineralización sulfúrica el nitrógeno orgánico se transforma en sulfato de amonio. Tras la alcalinización con hidróxido de sodio se recupera amoníaco destilado y después se analiza con una solución titulada de ácido clorhídrico.

El procedimiento analítico utilizado para determinar el contenido de proteína total en el PFAG se describe en su totalidad en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

2.1.1.4 Resumen de validación de los procedimientos analíticos

La prueba de contenido de proteína se validó en cuanto a su linealidad, exactitud y precisión (precisión intermedia y repetibilidad). La especificidad no se evaluó durante esta validación ya que la prueba de proteínas totales (determinación de nitrógeno después de la mineralización) se basa en el método 2.5.9, de la Ph. Eur., edición actual. Este método es específico para la determinación del nitrógeno.

Puesto que el LQ se calcula en cada análisis, no se validó.

En la Table 4 se presenta un resumen de los resultados de la validación analítica.



Tabla 4: Resumen de validación para el contenido proteico total

Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser menor o igual que $\pm 30 \mu\text{g/mL}$.	Coeficiente de variación: <ul style="list-style-type: none"> • Repetibilidad: 1,35% • Precisión intermedia: 1,35% Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 corrida con 1 medición que se realiza de la manera habitual: $\pm 8 \mu\text{g/mL}$.
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} \geq 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,98$ Después del ajuste lineal de $Y = \text{concentración medida en función de } X = \text{concentración teórica}$, se establece la siguiente ecuación: $Y = 5,274 + 0,975 \cdot X$ Rango de linealidad: $[36 - 753] \mu\text{g/mL}$.
Exactitud	La recuperación porcentual promedio debe estar comprendida entre el 90 % y el 110 %.	El porcentaje promedio de recuperación y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Para la concentración proteica total teórica de $56,989 \mu\text{g/mL}$: 108 % [102 - 113] % • Para las concentraciones proteicas teóricas totales $142,472$; $427,417$; $569,889$ y $740,856 \mu\text{g/mL}$: 99 % [96-102] %



Los datos completos de validación analítica se presentan en la sección 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

Todas las características de validación cumplen los criterios de aceptación. En conclusión, el método es válido para cuantificar las proteínas totales en QIV en las etapas de PFAG y FP.

2.1.1.5 Resumen del procedimiento analítico del contenido de ovoalbúmina

El contenido de ovoalbúmina del PFAG se analiza mediante un ensayo inmunoenzimático adsorbente tipo "sándwich" (ELISA) en comparación con una solución de referencia de albúmina de huevo de gallina (ovoalbúmina).

La ovoalbúmina presente en las muestras se captura mediante una inmunoglobulina G (IgG) de cabra anti-ovoalbúmina que recubre una microplaca. Un segundo anticuerpo (IgG de conejo anti-ovoalbúmina) se fija al antígeno inmovilizado. Se añade un conjugado (IgG de cabra anti-conejo conjugada con fosfatasa alcalina) y se fija al complejo anticuerpo-antígeno-segundo anticuerpo. La detección se realiza agregando solución cromógena (PNPP). Después de la incubación, la intensidad de la coloración producida es proporcional a la cantidad de ovoalbúmina que contiene la muestra. La reacción enzimática se detiene agregando hidróxido de sodio y la absorbancia se determina con un espectrofotómetro a 405 nm y a 630 nm.

Se genera una curva estándar a partir de una solución de ovoalbúmina de referencia.

El procedimiento analítico utilizado para determinar el contenido de ovoalbúmina en el PFAG se describe en su totalidad en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

2.1.1.6 Resumen de validación de los procedimientos analíticos

El contenido de ovoalbúmina se validó en cuanto a su linealidad, exactitud, precisión (precisión intermedia y repetibilidad), LQ y especificidad.

En la Table 5 se presenta un resumen de los resultados de la validación analítica.

Tabla 5: Resumen de validación para el contenido de ovoalbúmina

Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Especificidad	En el lote sin ovoalbúmina: la especificidad es satisfactoria cuando los títulos obtenidos son inferiores al límite de cuantificación. En el lote con agregado, la recuperación porcentual promedio debe estar comprendida entre el 80 % y el 120 %.	Los resultados obtenidos son inferiores al LQ. Porcentaje medio de recuperación: 101%.
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser menor o igual que λ : 1,50.	Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 corrida con 1 medición que se realiza de la manera habitual: λ : 1,41 en expresión aritmética.



Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} \geq 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,24$ Después del ajuste lineal de $Y = \log$ concentración medida en función de $X = \log$ concentración teórica, se observa la siguiente ecuación: $Y = 0,055 + 0,964 \cdot X$ Rango de linealidad: [1,501 - 206,486] redondeado a [2 - 206] ng/mL.
Exactitud	La recuperación porcentual promedio debe estar comprendida entre el 80% y el 120%.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: 101 % [97 % - 105 %].
Límite de cuantificación	A una concentración próxima al LQ: El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser menor o igual que s : 1,50. El porcentaje medio de recuperación debe estar comprendido entre el 80% y el 120%.	Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para una serie con una medición realizada del modo habitual: s : 1,33 Recuperación porcentual promedio: 110%
Especificidad	En el lote sin ovoalbúmina: La especificidad es satisfactoria cuando los títulos obtenidos son inferiores al LQ. En el lote con agregado, la recuperación porcentual promedio debe estar comprendida entre el 80 % y el 120 %.	Los resultados obtenidos son inferiores al LQ. Porcentaje medio de recuperación: 101%.

Los datos completos de validación analítica se presentan en la sección 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

Todas las características de validación cumplen los criterios de aceptación. En conclusión, el método es válido para cuantificar el contenido de ovoalbúmina por el método de ELISA en QIV en la etapa de PFAG.

2.1.2 Proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno hemaglutinina]

La proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno hemaglutinina (HA)] se obtiene mediante el cálculo entre el contenido proteico total, cuyo método se describe más arriba, y el contenido de antígeno HA, que es una prueba de control durante el proceso (IPC) en el producto final a granel. El contenido de antígeno HA se determina también para la liberación del producto llenado (FP). El mismo método se aplica para los lotes de PFAG y FP, y su descripción se presenta en la sección 2.2.1.

2.2 Pruebas de liberación para el producto llenado de la vacuna antigripal tetravalente

Las siguientes pruebas se realizan en el momento de la liberación, de acuerdo con el método farmacopeico que se enumera en la Table 2. Para estas pruebas, no se precisan datos de validación analítica.

- Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica, realizada por filtración a través de membrana conforme al método n.º 2.6.1 "Esterilidad" de la Ph. Eur., edición actual.

ROXANA MONTEMLONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



- Aspecto, realizada por inspección visual de conformidad con el método 2.9.20 "Contaminación por partículas: partículas visibles" de la Ph. Eur., edición actual.
- pH, prueba realizada de conformidad con el método 2.2.3 "Determinación potenciométrica del pH" de la Ph. Eur., edición actual.
- Volumen extraíble, prueba realizada de conformidad con el método 2.9.17 "Prueba de volumen extraíble de las preparaciones parenterales" de la Ph. Eur., edición actual.
- Contenido de endotoxinas bacterianas, llevada a cabo con el método cromogénico cinético de lisado de amebocitos de Limulus (LAL), según las indicaciones del método n.º 2.6.14 "Endotoxinas bacterianas" de la Ph. Eur., edición actual.

La prueba de contenido de antígeno HA no se detalla en la Ph. Eur.; por lo tanto, los resúmenes de los métodos analíticos y los resultados de la validación analítica se presentan a continuación.

2.2.1 Contenido e identificación del antígeno HA

2.2.1.1 Resumen de procedimientos analíticos

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 de las cepas B, el método de SRID utilizado para controlar las cepas B en lotes de DP se realiza con un antígeno de referencia bivalente estándar, mientras que las cepas A se controlan mediante el método clásico de SRID (vea 2.2.1.3).

El procedimiento analítico utilizado para determinar el contenido de antígeno HA en el FP se describe en su totalidad en la sección 3.2.P.5.2 Procedimientos analíticos.

2.2.1.2 Resumen de validación de los procedimientos analíticos

Como el procedimiento es un ensayo cuantitativo, las diferentes características estudiadas son la especificidad, la precisión (precisión intermedia y repetibilidad), la linealidad y la exactitud.

En la Table 6 se presenta un resumen de los resultados de la validación analítica del método de SRID.



Tabla 6: Resumen de validación del contenido de antígeno HA mediante SRID

Característica	Criterio de aceptación	Resultado		
Especificidad	Para el control negativo no se debe observar ningún anillo de precipitación.	Para el control negativo, no se observa ningún anillo de precipitación para las 4 cepas.		
	No hay presencia de anillos dobles.	No hay anillos dobles para las 4 cepas.		
	La intensidad del anillo es similar a la referencia evaluada en la misma placa.	La intensidad del anillo es similar al anillo de referencia para las 4 cepas. Para cada antisuero hay ausencia de anillos o anillos significativamente diferentes para las otras cepas.		
Precisión	El intervalo de confianza de la precisión intermedia debe ser $\leq x/1,2$ para $k=1$ corrida con $n=1$ medición	El intervalo de confianza del 95 % de precisión intermedia para 1 corrida y 3 corridas con 1 medición (redondeos recomendados al décimo) son:		
			intervalo de confianza del 95 % para $k = 1$ corrida y $n = 1$ medición (para liberación)	Intervalo de confianza del 95 % para $k = 3$ corridas y $n = 1$ medición (para Información: estudios de estabilidad)
		Cepa A/H1N1	$\pm 0,041$ que equivale a $\times 1,10$ en notación aritmética	$\pm 0,024$ que equivale a $\times 1,06$ en notación aritmética
		Cepa A/H3N2	$\pm 0,052$ que equivale a $\times 1,13$ en notación aritmética	$\pm 0,030$ que equivale a $\times 1,07$ en notación aritmética
		B/linaje Victoria (referencia bivalente)	$\pm 0,047$ que equivale a $\times 1,11$ en notación aritmética	$\pm 0,027$ que equivale a $\times 1,06$ en notación aritmética
		B/linaje Yamagata (referencia bivalente)	$\pm 0,055$ que equivale a $\times 1,14$ en notación aritmética	$\pm 0,032$ que equivale a $\times 1,08$ en notación aritmética
Se recomienda redondear el resultado final al décimo, sin embargo, como la especificación se redondea a la unidad, los resultados se redondearán a la unidad para que coincida con la especificación.				



Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} \geq 0,05$ (o aceptado con los criterios de Bliss)	<p>Después de un ajuste lineal de $Y =$ concentración medida ($\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$) en función de $X =$ concentración teórica ($\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$), en escala log-log, se observa la siguiente relación:</p> <p>Cepa A/H1N1: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,38$ $Y = -0,020 + 1,029 \cdot X$ Rango de linealidad: [9,58-25,72] $\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$</p> <p>Cepa A/H3N2: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,87$ $Y = 0,177 + 0,904 \cdot X$ Rango de linealidad: [8,23-23,15] $\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$</p> <p>Referencia bivalente de la cepa B/Brisbane: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,62$ $Y = 0,127 + 0,936 \cdot X$ Rango de linealidad: [8,74-24,57] $\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$</p> <p>Referencia bivalente de la cepa B/Massachusetts: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,93$ $Y = 0,094 + 0,926 \cdot X$ Rango de linealidad: [9,55-22,97] $\mu\text{g}/0,5 \text{ mL}$</p>
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los niveles teóricos de concentración debe hallarse entre el 80 % y el 120 %.	<p>La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes:</p> <p>Cepa A/H1N1: 103,3% [101,4% - 105,2%] Cepa A/H3N2: 117,2% [114,1% - 120,3%] Referencia bivalente de la cepa B/Brisbane: 113,3 % [110,4 % - 116,2 %] Referencia bivalente de la cepa B/Massachusetts: 102,2% [97,6%-106,8 %]</p>

El método es específico, preciso, lineal y exacto para las cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), A/Texas/50/2012 (NYMC X223A223A) (H3N2), B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) y B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata).

El método de SRID es válido para cuantificar el antígeno HA en la QIV para 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).

2.2.1.3 Estudios adicionales que respaldan el uso de SRID bivalente para las cepas B

Durante la validación se determinó la exactitud del contenido de antígeno HA mediante el método de SRID bivalente contra el SRID clásico para las distintas combinaciones de cepas B. Con el método de SRID bivalente se obtienen resultados de contenido de antígeno HA más próximos al



contenido previsto de antígeno HA en comparación con el método clásico de SRID. En general, estos datos respaldan la mejora que ofrece el método de SRID bivalente.

Cabe señalar que, en el futuro, la validación del método de SRID se llevará a cabo según los requisitos de la ICH (método clásico para las cepas A y método bivalente para las cepas B) en cada cambio de cepa (o cepa reordenante) o lotes de reactivos.

En el futuro, para cada nueva combinación de B (incluidos los nuevos lotes de reactivos), los análisis preliminares de exactitud se realizarán con el método de SRID bivalente para detectar posibles niveles elevados de reactividad cruzada entre los 2 reactivos de la cepa B, que podrían afectar el análisis de exactitud. Estos análisis se realizarán antes de la validación del método de SRID bivalente.

Además, para mejorar el conocimiento sobre el método de SRID bivalente, se realizó un estudio de agregado en pequeñas cantidades y un estudio de degradación, para demostrar la capacidad del método de SRID de detectar la degradación diferencial de una cepa B sobre la otra, utilizando tanto el método clásico como el bivalente de SRID.

Los detalles, resultados y conclusiones de estos estudios de respaldo se presentan en la sección 3.2.P.5.3 Validación de los procedimientos analíticos.

En el futuro, para asegurar que el método bivalente es capaz de detectar la posible disminución del antígeno B, se realizarán estudios forzados de degradación para el método clásico y el bivalente con las 3 nuevas combinaciones de cepas B provenientes de lotes comerciales, según el protocolo que se presenta a continuación.

Protocolo de degradación:

El protocolo es similar al protocolo anterior, que se describe en la sección 2.2.1.3, la única diferencia es el número de niveles de degradación y el número de determinaciones (no se realizan pruebas para el 75 % de degradación y se realiza solo una determinación para el 100 % de degradación).

Las muestras de la formulación tetravalente se prepararán mezclando los monovalentes correspondientes a la formulación trivalente normal. La cepa B agregada se estudiará en 4 niveles (mientras que la otra cepa B se mantiene intacta):

- Tres niveles de degradación por tratamiento térmico para reducir el contenido de antígeno HA: 25 %, 50 % y 100 % (es decir, totalmente degradado);
- un nivel sin degradación: 0%.

Cabe destacar que, en el futuro, el contenido de antígeno HA en cada muestra del estudio de degradación para las cepas B se determinará mediante los métodos clásico y bivalente de SRID, con dos pruebas independientes para cada resultado, excepto para la cepa B totalmente degradada, para la cual se realiza una sola medición.

En el futuro, podrían realizarse estudios de degradación adicionales, si una nueva combinación de cepas B presenta un mayor nivel de reactividad cruzada que el experimentado anteriormente.

Cabe destacar finalmente que, en el futuro, paralelamente al método de SRID bivalente realizado en el momento de la liberación, el método clásico todavía se realizará en los tres primeros lotes de PFAG por temporada, para mejorar el conocimiento sobre el fenómeno de reactividad cruzada y la



especificidad de los reactivos disponibles. El método de SRID clásico se cualificará mediante la verificación de la linealidad y la exactitud para cada nueva cepa B o reactivos asociados.

3 Análisis de lotes

En esta sección se presentan los datos del análisis de lotes del PFAG y del FP de la QIV.

3.1 Descripción de los lotes analizados

La planta de elaboración, los números de lote, los tamaños de lote, las fechas de elaboración y la utilización del lote para cada lote de PFAG se resumen en la Table 7.

Tabla 7: Descripción del lote de PFAG

Planta de elaboración	Número de lote	Tamaño del lote (L)	Fecha de elaboración	Uso del lote
Sanofi Pasteur, planta de VDR	FDV02328	405,174	04 JUN 2014	Formulación de lotes clínicos Estudio de validación del proceso
	FDV02329	401,691	05 JUN 2014	
	FDV02330	401,492	19 JUN 2014	
	FDV02380	991,741	03 DIC 2014	Estudio de validación del proceso
	FDV02381	1 000,199	18 DIC 2014	
	FDV02421	950,249	02 OCT 2015	

La planta de elaboración, los números de lote, los tamaños de lote, las fechas de elaboración y la utilización del lote para cada lote de FP se resumen en la Table 8.

Tabla 8: Descripción del lote de FP

Planta de elaboración	Número de lote	PFAG correspondiente	Tamaño del lote (jeringas)	Fecha de elaboración	Uso del lote
Sanofi Winthrop Industrie, Planta de Le Trait	S4456	FDV02328*	737 662	03 de julio de 2014	Lotes clínicos; Estudio de validación del proceso; Estudio de compatibilidad del cierre para el tapón-émbolo de clorobutilo.
	S4457	FDV02329*	729 301	06 de julio de 2014	
	S4458	FDV02330*	729 312	15 de julio de 2014	
Sanofi Pasteur planta de VDR	FDNC2174	FDV02380	591 092	07 ENE 2015	Estudio de validación del proceso
	FDNC2173	FDV02380	914 159	12 ENE 2015	
	FDNC2199	FDV02381	911 478	28 de enero de 2015	
	FNDC2478	FDV02421	906 847	12 de octubre de 2015	

* Los lotes de PFAG se elaboraron en la planta de VDR.



3.2 Análisis de lotes

3.2.1 Resultados del producto final a granel

Los lotes del PFAG de la QIV, que se describen en la Sección 3.1, se controlaron de acuerdo con la especificación de liberación que se describe en la Sección 1.

Los datos de liberación para estos lotes se resumen en la Table 9.


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Sanofi Pasteur
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 2.3.P.5
Control del producto farmacéutico

Tabla 9: Resultados de las pruebas de liberación de QIV, lotes de PFAG

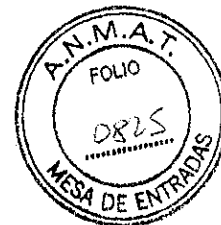
Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Número de lote					
			FDV02328	FDV02329	FDV02330	FDV02380	FDV02381	FDV02421
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur., 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.
Contenido de formaldehído libre	Método interno	≤60 µg/mL	37	37	35	36	37	36
Contenido proteico total	Método método interno basado en el método n.º 2.5.9 de la Ph. Eur., edición actual, y en el método n.º 2.5.33 (método 7, procedimiento A) de la Ph. Eur., edición actual.	≤600 µg/mL	344	319	331	344	338	355
Contenido de ovoalbúmina	Ph. Eur., 2.7.1, edición actual	≤100 ng/mL	15	10	11	15,5	14,0	15
Proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno HA]*	/ Por cálculo	≤ 6	2	2	2	2	2	2

* Los resultados del contenido de antígeno HA (obtenidos como prueba de control durante el proceso [IPC] en la etapa de PFAG) utilizados para el cálculo de la proporción (contenido proteico total/contenido de antígeno HA) se presentan a continuación en la Table 10.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S.A.



Los resultados de la proporción [contenido proteico total/contenido de antígeno HA] de los lotes de PFAG se obtuvieron utilizando los resultados del contenido proteico total (como parte de las pruebas de liberación) y resultados adicionales del contenido de HA determinado como prueba de IPC en la etapa de PFAG. Los resultados de IPC se presentan a continuación en la Table 10.



Sanofi Pasteur
Vacuna antigripal tetravalente (virión fraccionado, inactivado)

Sección 3.3.P.5
Control del producto farmacéutico

Tabla 10: Contenido de antígeno HA en µg/dosis (resultados de IPC), PFAg

Cepa	Referencia al método	Criterio de aceptación	FDV02328†	FDV02329†	FDV02330†	FDV02380‡	FDV02381‡	FDV02421‡
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa en la etapa de FP. 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 (17-24)	19 (17-22)	16 (14-18)	18 (16-21)	17 (15-20)	17 (15-19)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)			19 (16-23)	20 (17-23)	17 (14-20)	18 (17-19)	18 (17-20)	17 (14-20)
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)			18 (16-20)	17 (16-19)	17 (15-18)	18 (16-21)	18 (16-20)	19 (18-21)
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata)			16 (14-18)	18 (17-19)	18 (15-22)	16 (15-18)	16 (14-18)	20 (18-21)

- * La prueba de contenido de antígeno HA se realiza mediante el método clásico de inmunodifusión radial simple (SRID) para las cepas A y por el método de SRID bivalente para las cepas B.
- † Para los lotes FDV02328, FDV02329 y FDV02330, se realizaron dos análisis independientes para la prueba de contenido de antígeno HA en las cepas B y se calculó el promedio ponderado, según el método n.º 5.3 de la Ph. Eur., edición actual, como se describe en la sección 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración. Se realizó un análisis en las cepas A para esos mismos lotes.
- ‡ Para los lotes FDV02380, FDV02381 y FDV02421, se realizó un análisis para la prueba de contenido de antígeno HA en las cepas A y en las cepas B.

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
APODERADA
SANOFI PASTEUR S. A.



Todos los resultados al momento de la liberación y los resultados de contenido de antígeno HA determinados como IPC para los lotes de PFAG FDV02328, FDV02329, FDV02330, FDV02380, FDV02381 y FDV02421 de la QIV, se encuentran dentro de los criterios de aceptación definidos.

3.2.2 Resultados del producto llenado

Los resultados de la prueba de liberación de los lotes de FP de QIV se resumen en la Table 11 y la Table 12.



Tabla 11: Resultados de la prueba de liberación de los lotes de FP de QIV para la planta de Le Trait

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Planta de Le Trait		
			S4456†	S4457†	S4458†
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur., 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.	Sin multiplicación microbiana.
Aspecto	Ph. Eur., 2.9.20, edición actual	Líquido incoloro y opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente
pH	Ph. Eur., 2.2.3, edición actual	6,8-7,6	7,3	7,5	7,3
Volumen extraíble	Ph. Eur., 2.9.17, edición actual	≥ volumen nominal	Cumple	Cumple	Cumple
Identificación del antígeno HA	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Identificación positiva para las 4 cepas	Positiva	Positiva	Positiva
Contenido de antígeno HA (µg/dosis)		Objetivo: 15 µg/dosis por cada cepa El límite inferior de confianza (p = 0,95) del contenido estimado de antígeno HA no es menor que 12 µg/dosis por cada cepa.			
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)			17 (14 - 19)	20 (17 - 23)	16 (13 - 18)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)			19 (17 - 22)	19 (16 - 23)	18 (15 - 21)
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)			18 (17 - 19)	18 (17 - 19)	17 (16 - 19)
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata).			15 (13 - 17)	17 (16 - 18)	16 (15 - 18)
Contenido de endotoxinas bacterianas	Ph. Eur., 2.6.14, edición actual	< 100 UI/dosis	<0,25	<0,25	<0,25
Toxicidad anormal‡	Ph. Eur., 2.6.9, edición actual	Ausencia de muertes o de signos de enfermedad en los 7 días siguientes a la inoculación.	Cumple	Cumple	Cumple

* 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 dos análisis independientes para la prueba de contenido de antígeno HA en las cepas B y se calculó la media ponderada, según el método 5.3 de la Ph. Eur., edición actual, como se describe en la sección 3.2.P.2.3 Desarrollo del proceso de elaboración. Se realizó un análisis con las cepas A.

‡ La prueba de toxicidad anormal solo se realiza en los primeros diez lotes.



Tabla 12: Resultados de la prueba de liberación de los lotes de FP de QIV para la planta de VDR de Sanofi Pasteur

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Sanofi Pasteur, planta de VDR			
			FDNC2174†	FDNC2173†	FDNC2199†	FDNC2478†
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.
Aspecto	Ph. Eur., 2.9.20, edición actual	Líquido incoloro y opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente	Líquido incoloro, opalescente
pH	Ph. Eur., 2.2.3, edición actual	6,8-7,6	7,3	7,3	7,3	7,3
Volumen extraíble	Ph. Eur., 2.9.17, edición actual	≥ volumen nominal	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Identificación del antígeno HA	Ph. Eur. 2.7.1, edición actual*	Identificación positiva para las 4 cepas	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Contenido de antígeno HA (µg/dosis)		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.				
A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)			17 (14-20)	18 (17-20)	17 (16-19)	17 (15-19)
A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)			17 (15-20)	17 (16-19)	17 (16-19)	18 (16-20)
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)			20 (19-21)	20 (17-22)	19 (18-21)	19 (17-21)
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata).	18 (16-20)		16 (14-18)	16 (13-18)	20 (18-22)	
Contenido de endotoxinas bacterianas	Ph. Eur., 2.6.14, edición actual	< 100 UI/dosis	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
Toxicidad anormal‡	Ph. Eur., 2.6.9, edición actual	Ausencia de muertes o de signos de enfermedad en los 7 días siguientes a la inoculación.	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

* 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 realizó un análisis para la prueba de contenido de antígeno HA en las cepas A y las cepas B.

‡ La prueba de toxicidad anormal solo se realiza en los primeros diez lotes.



Todos los resultados de liberación de los lotes de FP S4456, S4457, S4458, FDNC2174, FDNC2173, FDNC2199 y FDNC2478 de QIV están dentro de los criterios de aceptación definidos.



4 Caracterización de impurezas

En la QIV se pueden encontrar tres impurezas relacionadas con el principio activo, a saber, formaldehído, ovoalbúmina y octoxinol 9. Estas impurezas se describen para el DS en la sección 2.3.S.3 Caracterización.

El contenido residual de octoxinol 9, formaldehído y ovoalbúmina evaluado en la etapa de PFAG como parte de las pruebas de liberación o de IPC cumple los criterios de aceptación (vea la Table 13).

Tabla 13: Contenido de impurezas relacionadas con el DS en la etapa de PFAG

Impureza	Criterio de aceptación	Número de lote					
		FDV02328	FDV02329	FDV02330	FDV02380	FDV02381	FDV02421
Formaldehído	≤60 µg/mL	37	37	35	36	37	36
Ovoalbúmina	≤100 ng/mL	15,0	10,2	10,6	15,5	14,0	15
Octoxinol 9	≤445 µg/mL	399	425	387	412	441	414

El paso de formulación no produce ninguna impureza adicional en el FP. Las características del producto farmacéutico no se ven afectadas por las impurezas relacionadas con el cierre del envase.



Sección 2.3.P.6 Estándares o materiales de referencia

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

Los estándares o materiales de referencia utilizados para las pruebas realizadas con la vacuna antigripal tetravalente (QIV) en las etapas de producto final a granel (PFAG) y producto llenado (FP) se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Estándares o materiales de referencia

Paso de elaboración	Prueba	Estándar o material de referencia
PFAG	contenido de formaldehído libre	<p>La solución de formaldehído se prepara a partir de una solución madre de formaldehído al 40 % suministrada por un proveedor externo.</p> <p>La solución madre se conserva a temperatura ambiente, mientras que la solución preparada internamente se almacena a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.</p> <p>Cuando se utiliza un nuevo lote de estándar de referencia de formaldehído, la referencia se cualifica de conformidad con los procedimientos internos vigentes, mediante una serie de análisis frente a un lote anterior.</p>
PFAG	contenido de ovoalbúmina	<p>Referencia liofilizada suministrada por un proveedor externo, rehidratada según las instrucciones del proveedor.</p> <p>La referencia liofilizada se almacena a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, el estándar de referencia rehidratado se almacena a $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$.</p>
FP	Contenido e identificación del antígeno hemaglutinina (HA)	<p>Los antígenos de referencia son suministrados por los Centros Colaboradores de la OMS, con sus títulos y condiciones de uso.</p> <p>Los reactivos de antígenos se almacenan a una temperatura $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$.</p> <p>Los antígenos de referencia para las cepas A (H1N1, H3N2) son soluciones de referencia específicas de cada cepa.</p> <p>El antígeno de referencia para las cepas B es una referencia bivalente compuesta por antígenos de referencia del tipo B/linaje Victoria y del tipo B/linaje Yamagata. La cualificación de las referencias se describe en la sección 3.2.P.6 Estándares o materiales de referencia.</p>
FP	Contenido de endotoxinas bacterianas	<p>La endotoxina estándar de control (CSE) forma parte de un kit de prueba suministrado por un proveedor externo y corresponde al polvo liofilizado de endotoxinas de <i>E. coli</i> almacenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.</p> <p>La CSE es calibrada por el proveedor según la solución de endotoxina estándar de referencia (RSE proporcionada por la Dirección Europea de Calidad del Medicamento [EDQM]), según se requiere en la Ph. Eur. 2.6.14, edición actual.</p> <p>Sanofi Pasteur confirma la calibración de la CSE contra la RSE al momento de la entrega, mediante un procedimiento interno.</p> <p>La CSE se almacena a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (en forma de polvo).</p> <p>La RSE se almacena a $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ después de su reconstitución con agua apirógena.</p>



Sección 3.2.P.4.1 Especificaciones

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

Los siguientes excipientes utilizados en la elaboración del producto terminado final se mencionan en la Ph. Eur. Todos los excipientes enumerados se utilizan para preparar la solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Todos los componentes se analizan de conformidad con las monografías de la Ph. Eur. La referencia a la monografía aplicable a cada componente se enumera en la Tabla 1.

Tabla 1: Lista de excipientes

Excipiente	Referencia a la farmacopea
Solución PBS:	
Cloruro de sodio	Ph. Eur. 0193, edición actual
Cloruro de potasio	Ph. Eur. 0185, edición actual
Fosfato disódico dihidrato	Ph. Eur. 0602, edición actual
Dihidrogenofosfato de potasio	Ph. Eur. 0920, edición actual
Agua para inyectables (WFI)	Ph. Eur. 0169, edición actual



Sección 3.2.P.4.2 Procedimientos analíticos

Los procedimientos analíticos utilizados para controlar los componentes de la solución salina tamponada con fosfato, contenida en la vacuna antigripal tetravalente, son los que se describen en las monografías de la farmacopea y, por lo tanto, no figuran en este documento (vea la sección 3.2.P.4.1 Especificaciones).

