



Sección 3.2.S.2.3 Control de materiales

Control de los materiales fuente y de inicio de origen biológico

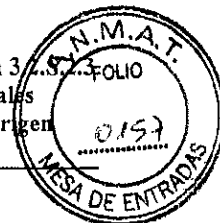
Índice

Lista de tablas	2
1 Materiales de origen no viral.....	3
1.1 Huevos fertilizados de criaderos de gallinas SPF	3
1.2 Huevos embrionados provenientes de criaderos sanos	5
2 Materiales de origen viral.....	6



Lista de tablas

Tabla 1: Materiales de inicio de origen biológico3



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

En la Tabla 1 se presenta una lista de todos los materiales de inicio de origen biológico, con su origen y las etapas del proceso de elaboración en que se usan.

Tabla 1: Materiales de inicio de origen biológico

Material	Origen	Etapas del proceso de elaboración	Función
Huevos fertilizados sin patógenos específicos (SPF)	Gallinas SPF	Preparación de lote de siembra maestro (MSL), lote de siembra intermedio (ISL) y lote de siembra de trabajo (WSL).	Sustrato para la multiplicación del virus
Huevos embrionados	Gallinas de criaderos sanos	Producción del principio activo (DS): inoculación (etapa 4)	Sustrato para la multiplicación del virus
Cepas del virus de la gripe	Vea la sección 3.2.S.2.3 Fuente, historia y generación de la cepa viral vacunal.	Preparación del MSL	Virus

1 Materiales de origen no viral

1.1 Huevos fertilizados de criaderos de gallinas SPF

Los huevos fertilizados de criaderos de gallinas SPF se usan para la preparación de las siembras virales: MSL, ISL y WSL.

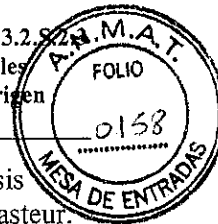
Tanto los criaderos de gallinas como los huevos han de ser SPF.

Todos los huevos utilizados se ajustan a la monografía n.º 5.2.2 "Criaderos de pollos libres de patógenos específicos para la producción y control de calidad de las vacunas" Ph. Eur., edición actual.

Los huevos SPF se obtienen de proveedores externos validados que garantizan los estándares adecuados: el proceso de elaboración y los controles se ajustan a los requisitos normativos vigentes (monografía de la Ph. Eur. antes citada) y el proveedor se compromete a informar a Sanofi Pasteur en el caso de que se produzcan incidentes durante la producción.

Como parte de su programa de garantía de calidad, Sanofi Pasteur lleva a cabo una auditoría de las actividades relativas a los productos que realizan por los proveedores (procesamiento, control de calidad, acondicionamiento y conservación, identificación y rastreabilidad, documentos y registros, etc.).

Los proveedores de huevos SPF se presentan en la sección 3.2.R Información regional, tabla B.



Con cada entrega de huevos de un criadero, el proveedor incluye el certificado de los análisis correspondientes a los últimos resultados de las gallinas SPF antes de la entrega a Sanofi Pasteur. Se presenta un ejemplo de Certificado de análisis para cada proveedor.



1.2 Huevos embrionados provenientes de criaderos sanos

Los huevos de gallina embrionados provenientes de criaderos sanos se usan para preparar la cosecha monovalente concentrada.

Descripción y organización de los criaderos

Los huevos provienen de varios proveedores externos, cuyos criaderos se inspeccionan periódicamente para revisar las condiciones sanitarias según las Directivas Europeas vigentes (1999/29/EC, 2001/102/EC, 89/662/EC, 2004/41/EC y 91/496/EC).

Los animales de estos criaderos deben estar sanos e inmunizados, en particular contra la enfermedad de Newcastle, la bronquitis infecciosa, la encefalomiелitis, la laringotraqueítis aviar, la enfermedad de Marek, la enfermedad de Gumboro, SIGT (síndrome de la cabeza hinchada), EDS 76 (síndrome de caída de la postura) y CAV (virus de la anemia aviar) durante el período de producción.

Además, los criaderos de puesta deben estar libres de las siguientes salmonelas según las directivas europeas:

- *Salmonella typhimurium*,
- *Salmonella enteritidis*,
- *Salmonella gallinarum pullorum*,
- *Salmonella virchow*,
- *Salmonella hadar*,
- *Salmonella infantis*.

El proceso utilizado para la vacuna antigripal ha demostrado su capacidad para eliminar la carga de contaminación bacteriana. En caso de detectar la presencia de salmonelas durante el período de producción, se podrían utilizar los huevos de los criaderos contaminados antes de la detección. No obstante, según las Directivas Europeas, los criaderos se sacrifican.

Los criaderos se revisan para descartar la presencia de los agentes correspondientes, entre ellos *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*. Tal como se exige en la Farmacopea Europea, el proceso de inactivación utilizado para la vacuna antigripal ha demostrado su capacidad de inactivar los virus de la leucosis aviar, *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* (vea la sección 3.2.A.2. Evaluación de seguridad de agentes extraños)

Los criaderos de puesta también se deben generar a partir de linajes de gallinas sin virus de la leucosis aviar (ALV) endógeno. La ausencia de ALV exógeno también se verifica desde 2015 en todos los criaderos, al principio, a la mitad y al final de la puesta de los huevos.

Durante el período de producción, se verifica periódicamente la ausencia de gripe aviar en los criaderos.

La alimentación de los animales no debe contener ningún vestigio de agentes antibióticos. Si debido a las condiciones sanitarias de un criadero fuera necesario utilizar antibióticos, se debe



informar a Sanofi Pasteur para que decida si se debe suspender la entrega de los huevos del criadero en cuestión.

La operación de incubación debe comenzar en los 10 días siguientes a la puesta. Los huevos sucios se deben desechar.

Los huevos fertilizados se deben desinfectar:

- En el plazo de 6 horas después de la recolección.
- A llegar al centro de incubación.

Control de los huevos después de la entrega, realizado por Sanofi Pasteur durante el proceso de elaboración

Para cada entrega se analiza una muestra estadísticamente representativa de cada criadero para garantizar que la calidad de los huevos y los embriones cumple con las especificaciones para la producción del virus gripal (número de huevos sucios, número de huevos contaminados).

Los huevos de muestra de cada uno de los criaderos incluidos en una entrega deben incubarse sin inoculación del WSL, simultáneamente con los huevos inoculados, y se consideran "huevos de control".

2 Materiales de origen viral

Los respectivos Centros Colaboradores de la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizan todas las pruebas de control de calidad de las cepas virales descritas en la sección 3.2.S.2.3 Fuente, historia y generación de la cepa viral vacunal. El cumplimiento de las especificaciones del Centro Colaborador de la OMS consta en un certificado de análisis, que acompaña a cada virus al momento de la entrega.



Sección 3.2.S.2.3 Control de materiales

Sistema de lotes de siembra viral, caracterización y pruebas

Índice

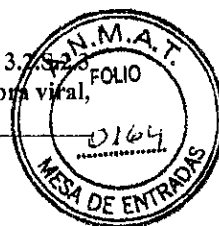
Lista de tablas	4
Lista de figuras	5
1 Panorama del sistema de lotes de siembra viral.....	6
2 Preparación del lote de siembra maestro.....	8
2.1 Etapas de producción	8
2.1.1 Inoculación	8
2.1.2 Multiplicación viral	8
2.1.3 Cosecha.....	8
2.1.4 Llenado y almacenamiento.....	8
2.2 Número de pasaje.....	9
3 Preparación de lotes de siembra intermedios.....	9
3.1 Etapas de producción	9
3.1.1 Inoculación	9
3.1.2 Multiplicación viral	10
3.1.3 Cosecha.....	10
3.1.4 Llenado y almacenamiento.....	10
4 Preparación de los lotes de siembra de trabajo.....	10
4.1 Etapas de producción	10
4.1.1 Inoculación	10
4.1.2 Multiplicación viral	11
4.1.3 Cosecha.....	11
4.1.4 Concentración.....	11
4.1.5 Filtración.....	11
4.1.6 Llenado y almacenamiento.....	11
4.2 Generación de un nuevo lote de siembra de trabajo y número de pasaje	11



5	Pruebas realizadas y resultados de las pruebas.....	12
5.1	Especificaciones.....	12
5.2	Análisis de lotes.....	13
5.2.1	Análisis de lotes del lote de siembra maestro.....	14
5.2.2	Análisis del lote de siembra de trabajo.....	15
5.3	Procedimientos analíticos.....	18
5.3.1	Identificación del antígeno HA.....	18
5.3.2	Identificación del antígeno NA.....	18
5.3.3	Título infeccioso en huevos.....	18
5.3.3.1	Referencia.....	18
5.3.3.2	Principio del título infeccioso en huevos.....	18
5.3.3.3	Equipo.....	18
5.3.3.4	Lista de reactivos.....	18
5.3.3.5	Procedimiento operativo.....	18
5.3.3.6	Lectura, cálculos y resultados.....	19
5.3.3.7	Criterios de validez.....	19
5.3.4	Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica.....	19
5.3.5	Prueba de micoplasmas.....	19
5.4	Estrategia de pruebas (justificación/fundamento).....	20
5.5	Resumen de la validación de los métodos de CC y conclusiones.....	21
5.5.1	Título infeccioso en huevos.....	21
5.5.1.1	Panorama.....	21
5.5.1.2	Resultados y análisis.....	22
5.5.1.3	Homogeneidad de los dos resultados.....	26
5.5.1.4	Conclusión.....	27
5.5.2	Prueba para detección de micoplasmas.....	27
5.6	Estándar de referencia.....	27
6	Caracterización.....	27
6.1	Identidad.....	28
6.1.1	Identidad del antígeno HA.....	28
6.1.1.1	Principio del método.....	28
6.1.1.2	Lista de reactivos.....	28
6.1.1.3	Procedimiento operativo.....	28
6.1.1.4	Criterios de validez.....	29
6.1.1.5	Resultados.....	30
6.2	Pureza, características especiales y estabilidad genética.....	32
7	Almacenamiento.....	33



8 Composición de reactivos preparados para la elaboración de los lotes de
siembra33



Lista de tablas

Tabla 1: Especificaciones para el lote de siembra maestro	13
Tabla 2: Especificaciones para el lote de siembra de trabajo	13
Tabla 3: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), lote FA353744.....	14
Tabla 4: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), lote FA488262	14
Tabla 5: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa B/Brisbane/60/2008, lote FA338855	14
Tabla 6: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa B/Massachusetts/2/2012, lote FA477285	14
Tabla 7: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), lote FA356399.....	15
Tabla 8: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), lote FA492096	15
Tabla 9: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa B/Brisbane/60/2008, lote FA413887	17
Tabla 10: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa B/Massachusetts/2/2012, lote FA490508.....	17
Tabla 11: Lista de los resúmenes de validación para los procedimientos de CC.....	21
Tabla 12: Resumen de los resultados de validación.....	22
Tabla 13: Precisión, títulos infecciosos	23
Tabla 14: Resultados de repetibilidad y precisión intermedia.....	23
Tabla 15: Linealidad, títulos infecciosos medidos	24
Tabla 16: Resultados de linealidad.....	24
Tabla 17: Exactitud, factores de dilución	26
Tabla 18: Resultados de exactitud.....	26
Tabla 19: Solución tampón del inóculo destinada a la preparación de lotes de siembra y a la dilución de los lotes de siembra viral	33
Tabla 20: Solución salina tamponada con fosfato (PBS)	33
Tabla 21: Solución de sacarosa al 34 %	34
Tabla 22: Solución de sacarosa al 60 %	34

Lista de figuras

Figura 1: Diagrama de flujo de la preparación de los lotes de siembra maestro, intermedio y de trabajo 7

Figura 2: Gráfico de linealidad.....25



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

1 Panorama del sistema de lotes de siembra viral

En la Figura 1 se presenta un panorama de la elaboración del sistema de lotes de siembra, que se utiliza para las cuatro cepas gripales. El número de pasaje aumenta de uno en uno por cada nueva etapa de elaboración (es decir, la cepa viral de referencia, el lote de siembra maestro [MSL], el lote de siembra intermedio [ISL] y el lote de siembra de trabajo [WSL]). A fin de aumentar la amplificación viral, se pueden preparar ISL entre la elaboración de los MSL y WSL. En cada una de estas etapas, el virus se replica en huevos embrionados.

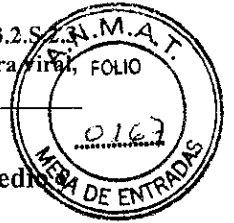
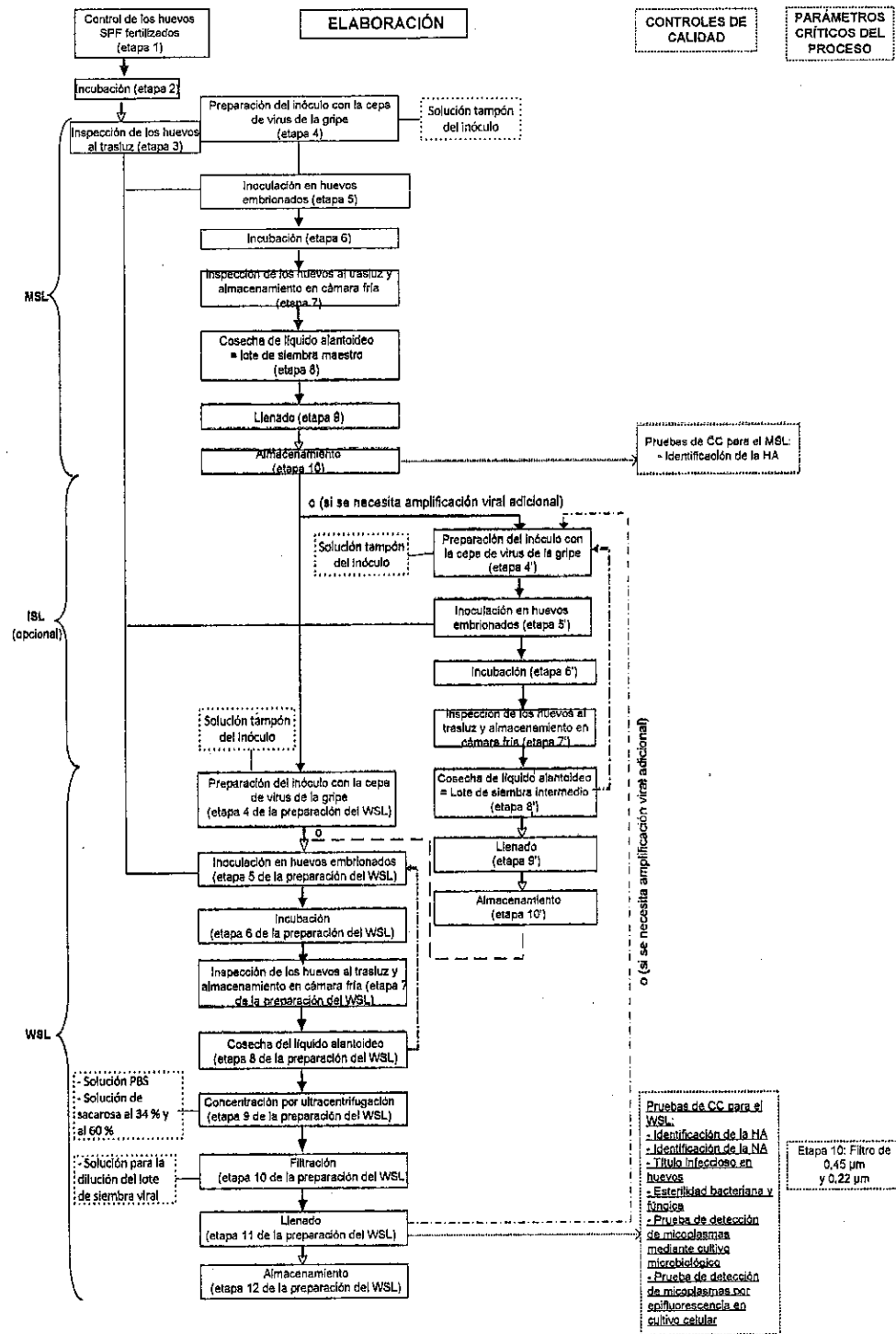
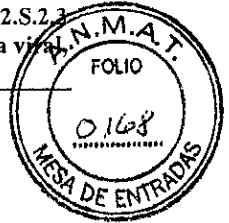


Figura 1: Diagrama de flujo de la preparación de los lotes de siembra maestro, intermedio de trabajo





2 Preparación del lote de siembra maestro

2.1 Etapas de producción

2.1.1 Inoculación

Etapa 1: Tras la recepción, después de adquirirlos del proveedor validado, los huevos fertilizados sin patógenos específicos (SPF) se controlan visualmente. Los huevos rotos, con fisuras y sucios se rechazan. Después se desinfectan los huevos.

Etapa 2: Los huevos se incuban en condiciones óptimas de incubación para la embriogénesis (incluyendo temperatura y duración de la incubación) adaptadas a la multiplicación del virus de la gripe.

Etapa 3: Los huevos embrionados se observan al trasluz, por ejemplo, se descartan los huevos vacíos, muertos, contaminados o rotos, así como los huevos con vascularidad anormal.

Etapa 4: Una vez descongelada, se preparan diluciones 1/10 de la cepa viral en solución tampón del inóculo y se homogeneizan las suspensiones.

Etapa 5: Se desinfecta la parte superior de cada huevo. Se inyecta un volumen fijo de cada dilución del inóculo viral en la cavidad alantoidea de los huevos SPF embrionados. Se inyecta un máximo de 45 huevos por cada dilución.

2.1.2 Multiplicación viral

Etapa 6: Los huevos inoculados se incuban en condiciones óptimas de incubación (incluyendo temperatura y duración de la incubación) para garantizar un rendimiento viral máximo en la etapa de elaboración del principio activo (DS).

Etapa 7: Los huevos se observan al trasluz y los anormales se rechazan. Luego se colocan los huevos en una cámara frigorífica para evitar la diseminación de células sanguíneas durante la cosecha.

2.1.3 Cosecha

Etapa 8: Se abre la parte superior de cada huevo tras su desinfección y se desechan los huevos anormales. Se cosecha el líquido alantoideo y se agrupa para cada dilución viral. Se evalúa el título de antígeno hemaglutinina (HA) de cada dilución. La dilución que presente el título óptimo de antígeno HA para garantizar un rendimiento máximo en la etapa de elaboración del DS se selecciona como MSL.

2.1.4 Llenado y almacenamiento

Etapa 9: El MSL se envasa en criotubos. Se toman muestras para las pruebas de control de calidad (CC).

Etapa 10: El MSL se almacena a ≤ -60 °C.



2.2 Número de pasaje

La generación del MSL implica un pasaje adicional en huevos embrionados desde la cepa de referencia suministrada por el Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La amplificación viral no suele ser suficiente con un solo pasaje entre el MSL y el WSL, por lo que se pueden introducir pasajes adicionales (vea la Figura 1, etapa 4' del ISL a etapa 8' del ISL) para preparar lotes de ISL.

El ISL representa todos los pasajes entre el MSL y el WSL utilizados para la producción: el número total de pasajes de ISL no superará los 13. Los ISL se elaboran según el procedimiento descrito en el párrafo 2, con la excepción de la preparación del inóculo (etapa 4' del ISL), que es, en este caso, la dilución más adecuada de un vial de:

- MSL (etapa 10);
- o del ISL anterior (etapa 8 del ISL);
- o de un WSL anterior, que en este caso se considera ISL (etapa 11 del WSL).

Los ISL se almacenan ≤ -60 °C.

El WSL abarca del 2.º pasaje al 15.º pasaje de la cepa de referencia proporcionada por el Centro Colaborador de la OMS.

3 Preparación de lotes de siembra intermedios

3.1 Etapas de producción

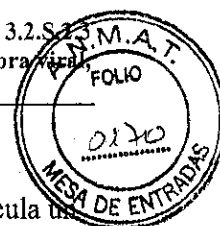
3.1.1 Inoculación

Etapa 1: Tras la recepción, después de adquirirlos del proveedor validado, los huevos fertilizados sin patógenos específicos (SPF) se controlan visualmente. Los huevos rotos, con fisuras y sucios se rechazan. Después se desinfectan los huevos.

Etapa 2: Los huevos se incuban en condiciones óptimas de incubación para la embriogénesis (incluyendo temperatura y duración de la incubación) adaptada a la multiplicación del virus de la gripe.

Etapa 3: Los huevos embrionados se observan al trasluz, por ejemplo, se descartan los huevos vacíos, muertos, contaminados o rotos, así como los huevos con vascularidad anormal.

Etapa 4: Una vez descongelado, se preparan diluciones de 10 veces del MSL, del ISL anterior o del WSL anterior (que en este caso se considera ISL) en solución tampón del inóculo y se homogeneizan las suspensiones.



Etapa 5: Se desinfecta la parte superior de cada huevo. Se inocula un volumen fijo de cada dilución del inóculo viral en la cavidad alantoidea de los huevos SPF embrionados. Se inocula un máximo de 45 huevos por cada dilución.

3.1.2 Multiplicación viral

Etapa 6: Los huevos inoculados se incuban en condiciones óptimas de incubación (incluyendo temperatura y duración de la incubación) para garantizar un rendimiento viral máximo en la etapa de elaboración del DS.

Etapa 7: Los huevos se observan al trasluz y los anormales se rechazan. Luego se colocan los huevos en una cámara frigorífica para evitar la diseminación de células sanguíneas durante la cosecha.

3.1.3 Cosecha

Etapa 8: Se abre la parte superior de cada huevo tras su desinfección y se desechan los huevos anormales. El líquido alantoideo se cosecha y se agrupa. Se evalúa el título de antígeno HA de cada dilución. La dilución que presente el título óptimo de antígeno HA para garantizar un rendimiento máximo en la etapa de elaboración del DS se selecciona como ISL.

3.1.4 Llenado y almacenamiento

Etapa 9: El ISL se envasa en criotubos.

Etapa 10: El ISL se almacena a ≤ -60 °C.

4 Preparación de los lotes de siembra de trabajo

4.1 Etapas de producción

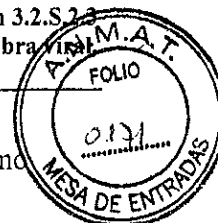
4.1.1 Inoculación

Etapa 1: Tras la recepción, después de adquirirlos de un proveedor validado, los huevos fertilizados SPF se controlan visualmente. Los huevos rotos, con fisuras y sucios se rechazan. Después se desinfectan los huevos.

Etapa 2: Los huevos se incuban en condiciones óptimas de incubación para la embriogénesis (incluyendo temperatura y duración de la incubación) adaptada a la multiplicación del virus de la gripe.

Etapa 3: Los huevos embrionados se observan al trasluz, por ejemplo, se descartan los huevos vacíos, muertos, contaminados o rotos, así como los huevos con vascularidad anormal.

Etapa 4: Una vez descongelado, un vial del MSL se diluye en solución tampón del inóculo y se homogeneiza. El inóculo para elaborar el WSL también se puede preparar con un vial del



ISL (etapa 8'). El factor de dilución adecuado se determina durante la preparación del último pasaje.

Etapa 5: Se desinfecta la parte superior de cada huevo. Se inocula un volumen fijo de cada inóculo viral en la cavidad alantoidea de los huevos SPF embrionados.

4.1.2 Multiplicación viral

Etapa 6: Los huevos inoculados se incuban en condiciones óptimas de incubación (incluyendo temperatura y duración de la incubación) para garantizar un rendimiento viral máximo en la etapa de elaboración del DS.

Etapa 7: Los huevos se observan al trasluz y los anormales se rechazan. Luego se colocan los huevos en una cámara frigorífica para evitar la diseminación de células sanguíneas durante la cosecha.

4.1.3 Cosecha

Etapa 8: Se abre la parte superior de cada huevo tras su desinfección y se desechan los huevos anormales. El líquido alantoideo se cosecha y se agrupa.

4.1.4 Concentración

Etapa 9: El proceso industrial requiere un paso de concentración por ultracentrifugación en un gradiente de sacarosa continuo. El líquido alantoideo se introduce en el gradiente de sacarosa que consta de un 34 % (p/p) y un 60 % (p/p) de sacarosa. Solo se recolectan y agrupan las fracciones que contienen el virus.

4.1.5 Filtración

Etapa 10: La suspensión viral concentrada se diluye con solución para diluir los lotes de siembra viral antes de las filtraciones a través de un prefiltro de 1,2 μm y a través de un filtro con una porosidad doble de 0,45 μm y 0,22 μm , respectivamente. Se prueba la integridad de la membrana de filtración.

4.1.6 Llenado y almacenamiento

Etapa 11: El WSL se envasa en criotubos. Se toman muestras para las pruebas de CC.

Etapa 12: El WSL se almacena a ≤ -60 °C (alrededor de 200 a 1800 tubos).

4.2 Generación de un nuevo lote de siembra de trabajo y número de pasaje

Se prepararán y se analizarán nuevos lotes WSL como se describe anteriormente. De conformidad con la monografía n.º 0158 "Vacuna antigripal de virus fraccionados, inactivada" de la Ph. Eur., edición actual, el número total de pasajes desde la vacuna antiviral candidata recibida por el fabricante hasta el WSL no superará los 15.



5 Pruebas realizadas y resultados de las pruebas

5.1 Especificaciones

Las especificaciones para el MSL y para el WSL utilizados para elaborar la vacuna se presentan en la Tabla 1 y en la Tabla 2.

Cada prueba se describe en el párrafo 5.3 y se justifica en el párrafo 5.4.

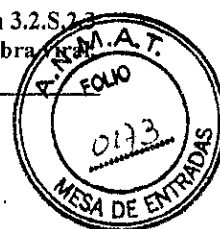


Tabla 1: Especificaciones para el lote de siembra maestro

Prueba	Método	Referencia regulatoria	Criterio de aceptación
Identificación del antígeno HA	Inhibición de la hemaglutinación	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva

Tabla 2: Especificaciones para el lote de siembra de trabajo

Prueba	Método	Referencia regulatoria	Criterio de aceptación
Identificación del antígeno HA	Inhibición de la hemaglutinación	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva
Identificación del antígeno neuraminidasa (NA)	Transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva
Título infeccioso	EID ₅₀ * en huevos	Método interno	≥6 log ₁₀ EID ₅₀ /mL
Esterilidad bacteriana y fúngica	Filtración por membrana	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana
Prueba de micoplasmas por cultivo microbiológico	Inoculación en medios de cultivo adecuados	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en agar y caldo
Prueba de micoplasmas por epifluorescencia en cultivo celular	Inoculación a células indicadoras y tinción específica	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en células y se trata con una tincura fluorescente.

* EID₅₀ para: dosis infecciosa del 50 % en huevos

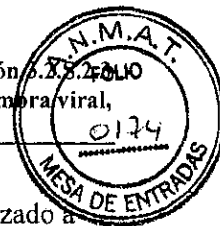
5.2 Análisis de lotes

Los resultados de las pruebas de liberación para los lotes de MSL y WSL de las cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), B/Brisbane/60/2008 y B/Massachusetts/2/2012 se presentan en la Tabla 3, en la Tabla 4, en la Tabla 5 y en la Tabla 6 para el MSL, y en la Tabla 7, en la Tabla 8, en la Tabla 9 y en la Tabla 10 para el WSL.

Para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), el lote de MSL FA353744 es el primer pasaje a partir de la cepa reordenante recibida, y se realizaron 5 pasajes más para obtener el lote de WSL FA356399.

Para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), el lote de MSL FA488262 es el primer pasaje realizado a partir de la cepa reordenante recibida, y se realizó un pasaje más para obtener el lote de WSL FA492096.

Para la cepa B/Brisbane/60/2008, el lote de MSL FA338855 es el primer pasaje a partir de la cepa reordenante recibida, y se realizaron 7 pasajes más para obtener el lote de WSL FA413887.



Para la cepa B/Massachusetts/2/2012, el lote de MSL FA477285 es el primer pasaje realizado a partir de la cepa reordenante recibida, y se realizaron 3 pasajes más para obtener el lote de WSL FA490508.

5.2.1 Análisis de lotes del lote de siembra maestro

Tabla 3: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), lote FA353744

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva

*Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepa A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

Tabla 4: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), lote FA488262

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

Tabla 5: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa B/Brisbane/60/2008, lote FA338855

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

Tabla 6: Pruebas de liberación realizadas con el MSL de la cepa B/Massachusetts/2/2012, lote FA477285

Prueba	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).



Los resultados de los cuatro lotes cumplen con los criterios de aceptación.

5.2.2 Análisis del lote de siembra de trabajo

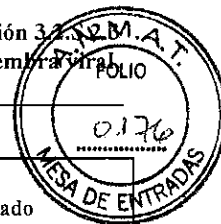
Tabla 7: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1), lote FA356399

Pruebas de control de calidad	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno NA	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva
Título infeccioso	Método interno	$\geq 6 \log_{10} \text{EID}_{50}/\text{mL}$	$8,83 \log_{10} \text{EID}_{50}/\text{mL}$
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Prueba de micoplasmas por cultivo microbiológico	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en agar y caldo	Cumple
Prueba para detección de micoplasmas por epifluorescencia en cultivo celular	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en células y se trata con una tinción fluorescente.	Cumple

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

Tabla 8: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2), lote FA492096

Pruebas de control de calidad	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno NA	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva
Título infeccioso	Método interno	$\geq 6 \log_{10} \text{EID}_{50}/\text{mL}$	$10 \log_{10} \text{EID}_{50}/\text{mL}$
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Prueba de micoplasmas por cultivo microbiológico	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en agar y caldo	Cumple



Pruebas de control de calidad	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Prueba para detección de micoplasmas por epifluorescencia en cultivo celular	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en células y se trata con una tinción fluorescente.	Cumple

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

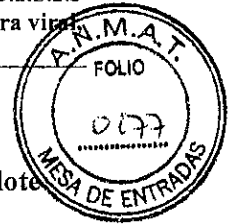


Tabla 9: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa B/Brisbane/60/2008, lote FA413887

Pruebas de control de calidad	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno NA	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva
Título infeccioso	Método interno	$\geq 6 \log_{10}$ EID ₅₀ /mL	6,70 \log_{10} EID ₅₀ /mL
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Prueba de micoplasmas por cultivo microbiológico	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en agar y caldo	Cumple
Prueba para detección de micoplasmas por epifluorescencia en cultivo celular	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en células y se trata con una tintura fluorescente.	Cumple

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

Tabla 10: Pruebas de liberación realizadas con el WSL de la cepa B/Massachusetts/2/2012, lote FA490508

Pruebas de control de calidad	Referencia al método	Criterio de aceptación	Resultado
Identificación del antígeno HA*	Ph. Eur. 0158, edición actual.	Positiva	Positiva
Identificación del antígeno NA	Método interno basado en la Ph. Eur. 2.6.21, edición actual	Positiva	Positiva
Título infeccioso	Método interno	$\geq 6 \log_{10}$ EID ₅₀ /mL	10 \log_{10} EID ₅₀ /mL
Esterilidad bacteriana y fúngica	Ph. Eur. 2.6.1, edición actual	Sin multiplicación microbiana	Sin multiplicación microbiana
Prueba de micoplasmas por cultivo microbiológico	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en agar y caldo	Cumple
Prueba para detección de micoplasmas por epifluorescencia en cultivo celular	Ph. Eur. 2.6.7, edición actual	Negativa para la presencia de micoplasmas cuando se cultiva en células y se trata con una tintura fluorescente.	Cumple

* Prueba realizada con sueros/antígenos de referencia correspondientes a los tres tipos de cepas A/H1N1, A/H3N2 y B sin distinción de linajes genéticos (B/linaje Yamagata y B/linaje Victoria).

