

través de la cadena alimentaria. El contenido de dioxinas y PCB en escualeno se determinó mediante una modificación del método EPA 680. La modificación incluyó el uso de un detector de masa cuantitativa.

**x. Pureza por GC**

La pureza cromatográfica de escualeno se determinada por GC. Una muestra de escualeno en hexano se inyecta en un cromatógrafo de gases serie HP 6890 equipado con un detector de ionización de llama (FID). El análisis se realiza en una columna capilar (DB-XLB de J & W) de 30 m x 0,32 mm x 0,50 mm mantenida a 200° C durante 2 minutos y luego se intensificó a 12° C por minuto hasta 310° C, donde se mantiene por 9 minutos. El punto de inyección y el detector de llama (FID) se mantienen a 300° C y 320° C, respectivamente. La identidad del pico de escualeno se establece por GC / MS (cromatografía de gases utilizando un detector selectivo de masas). La pureza se presenta como el área del pico del escualeno como un porcentaje de la suma de las áreas de todos los picos en el cromatograma. Los parámetros de ensayo se seleccionan para permitir la detección de impurezas >0,1% con respecto al pico de escualeno.

**xi. Índice de saponificación**

El índice de saponificación se determina como los equivalentes hidrolizados y neutralizados de hidróxido de sodio consumidos por el escualeno, según se describe en USP <401>.

**xii. Identidad por FTIR**

Este análisis se usa como ensayo de identificación estableciendo que el espectro de FTIR (Fourier Transformed Infra Red) del escualeno es comparable al escualeno como material de referencia, según se describe en USP <197>.

**xiii. Ensayo microbiológico**

Este ensayo se utiliza para determinar el número de microorganismos viables presentes en las materias primas de escualeno y establece que estos organismos se encuentran por debajo del límite de especificación.

El número de colonias en placa estándar, mohos, levaduras y termófilos en la materia prima de escualeno se determina por el análisis microbiológico, Método Pour Plate.

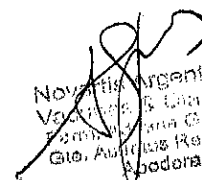
**xiv. Apariencia**

El color del escualeno se determina usando Gardner test, según se describe en USP <631>.

**d. Fabricación de escualeno:**

El Escualeno para la producción masiva del adyuvante MF59C.1 deriva del aceite de hígado de tiburón. En pocas palabras, el proceso de fabricación consiste en tres pasos principales:

  
Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronico  
Director Técnico  
MN 14840

  
Novartis Argentina S.A.  
Vendedor de Cosmético  
Farmacia G. Jimenez  
Gto. Autorizaciones Regulatorias  
Bordenada



1. Refinación o desacidificación,
2. Fraccionamiento por destilación, y
3. Llenado del granel.

En el aceite crudo de hígado de tiburón se analiza el escualeno y los ácidos grasos libres. En el primer paso (refinado o desacidificación), los ésteres de ácidos grasos (ej. triglicéridos) son saponificados con un tratamiento con hidróxido de sodio y los ácidos grasos libres así formados se extraen de la mezcla. En el segundo paso, el fraccionamiento del material se consigue por destilación en condiciones de alta temperatura y presión reducida. El escualeno purificado después de la destilación se envasa en contenedores a granel y se embarca.

No se utilizan disolventes durante la purificación de escualeno a partir de aceite crudo de hígado de tiburón, y por ser un proceso físico, no hay impurezas exógenas potenciales que puedan contaminar el producto.

#### **e. Redestilación del escualeno**

La redestilación del escualeno recibido de los proveedores calificados se lleva a cabo por un fabricante contratado, Sigma-Aldrich-Fluka (SAF) Chemicals. La redestilación de escualeno se realiza bajo condiciones conocidas y controladas (alta temperatura ~ 200° C, presión baja <0,7 mm Hg), siguiendo los lineamientos actuales de las guías de Buenas Prácticas de Fabricación, con el fin de garantizar una alta calidad independientemente de la fuente inicial de escualeno.

Este paso de redestilación en el proceso de purificación del escualeno inactiva y elimina posibles contaminantes virales del producto final (véase la sección F).

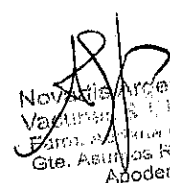
Debido a que el escualeno es una molécula pequeña, pudo ser ampliamente caracterizado. Basados en los datos de caracterización, se demostró la equivalencia del escualeno redestilado derivado de los tres diferentes proveedores (Barnet, Sophim y Maruha).

El escualeno pre-destilado obtenido de proveedores calificados es redestilado usando un equipo de destilación con modalidad de película descendente bajo las normas GMP. El aparato de destilación es suministrado por Aldrich Chemical Company (una división de SAF Corporation) y el proceso de destilación se realiza utilizando los registros de los lotes de producción desarrollado por Aldrich Chemical.

El proceso de redestilación se describe brevemente a continuación.

La materia prima de escualeno se coloca en un matraz recubierto con nitrógeno. En la línea de entrada del matraz se coloca un prefiltro de polipropileno y en la parte superior del otro extremo del aparato de destilación se inserta una aguja de acero inoxidable de 19 G. El aparato de destilación consiste en una cámara interior individual con forma de tubo con una protuberancia cilíndrica "dedo caliente" atravesando por el centro.

  
Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronola  
Director Técnico  
MN 14640

  
Novartis Argentina S.A.  
Vacunas e Inmunológico  
María Elena G. Jiménez  
Gte. Asuntos Regulatorios  
Apoderada



El benzoato de etilo (punto de ebullición: 212° C) se calienta por debajo de la protuberancia cilíndrica para proporcionar calor a la pared interior de dicha protuberancia del alambique. El sistema se evacua durante la destilación.

El escualeno se extrae por el vacío a través de una aguja de acero inoxidable de 19 G y gotea sobre la protuberancia precalentada. Como el producto se calienta al vacío, en la protuberancia cilíndrica se volatiliza y se condensa en las paredes exteriores del alambique cuando son enfriados por el aire ambiente. El condensado desciende por las paredes en un matraz de colección de 50 L, también al vacío.

No hay contacto escualeno - solvente durante este proceso. Los contaminantes no volátiles dejan la protuberancia fluyendo hacia el alambique y se recogen en el matraz de residuos. Las impurezas extremadamente volátiles se extraen a través de la línea de vacío, reduciendo sus niveles en el escualeno condensado. El proceso continúa sin interrupción hasta que toda la materia prima sea procesada.

El destilado se envasa mediante el uso de nitrógeno a presión para transferir el producto en botellas de vidrio de borosilicato de 1 l Tipo I USP que se han limpiado y autoclavado de acuerdo con los procedimientos escritos.

Una vez terminada la destilación, el alambique y el equipo auxiliar se desmontan y limpian por completo mediante un procedimiento de limpieza documentado.

**f. Impurezas en el escualeno**

**i. Impurezas químicas**

El escualeno contiene bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas y metales pesados como impurezas. Estos están presentes en el aceite crudo de hígado de tiburón y entran a través de la cadena alimentaria.

La especificación para el contenido de PCB / dioxina en escualeno ha cambiado con el tiempo. Inicialmente, se realizaron pruebas para determinar los niveles presentes en el escualeno y los límites fueron de no más de 20 mg / kg de PCB y no más de 10 ppm de metales pesados. Estos límites se aplican en la liberación de escualeno para su uso en la fabricación de MF59C.1.

En el análisis de PCB, también se incluyen las otras "familias" de dioxinas y los resultados se expresan teniendo en cuenta la recomendación de la OMS (Evaluación del riesgo de salud de las dioxinas: re-evaluación de la ingesta diaria tolerable (IDT), Mayo 25-29 1998, Geneva, Switzerland), que recomienda un IDT de no más de 1 a 4 pg / kg / día, basado en 9,75 mg de escualeno / dosis de MF59C y un promedio de adulto de 60 Kg, que corresponde a un equivalente de toxicidad (TEQ) de 6153 pg / g.

Tres lotes de escualeno se volvieron a analizar, la tabla de cálculo de IDT para escualeno se presenta a continuación. Se estableció un límite de TEQ de 6.153 pg / g.

$$\text{IDT} = \text{TEQ (pg/g)} \times \# \text{ grams por 1 dosis} / 60 \text{ Kg peso corporal}$$

  
Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronico  
Director Técnico  
MN 14840

  
Novartis Argentina S.A.  
Gabriela Amador  
Ejecutiva de Asesoría  
Gta. Adjunta Regulatoria  
Apoderada



Ej.: para el lote RNB257, que tiene un valor de TEQ de 186, el cálculo es el siguiente:

$$\text{TDI} = 186 \times 0,00975 / 60 = 0,03 \text{ pg / día / Kg de peso corporal}$$

Tras un examen de 48 lotes de escualeno, la especificación de PCB / dioxina de TEQ en el escualeno se ha reducido ahora a  $\leq 661 \text{ pg / g}$ , es decir más de nueve veces menor que la especificación anterior de  $\leq 6.153 \text{ pg / g}$ . Una sola dosis de la vacuna con adyuvante MF59 contiene 9,75 mg de escualeno, por lo tanto, sobre la base de la especificación actual, el TEQ teórico más alto posible en una dosis de vacuna con adyuvante MF59 es 6,44 pg / dosis:

$$661 \text{ pg/g} \times 0,00975 \text{ g/dosis} = 6,44 \text{ pg/dosis}$$

La ingesta diaria tolerable (IDT) establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) consultada en 1998 (Europa 2001) es de 1-4 pg TEQ / kg de peso corporal. En el peso corporal, la cantidad máxima teórica de PCB / dioxina en una sola dosis de vacuna con adyuvante MF59 administrada a un niño de 3,5 Kg sería 1,84136 pg TEQ / kg, lo que está por debajo del límite superior de 4 pg TEQ / kg para la IDT.

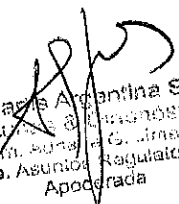
No se utilizan disolventes durante la purificación de escualeno a partir de aceite crudo de hígado de tiburón, y como es un proceso físico, no hay ninguna posibilidad de que se introduzcan impurezas químicas exógenas en el producto.

## ii. Productos de degradación

Al igual que otros aceites, el escualeno está sujeto a la oxidación. La oxidación puede dar lugar a la formación de carbonilos y ácidos orgánicos. Los carbonilos se monitorean durante las pruebas de estabilidad del granel del adyuvante MF59C.1.



Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840



Novartis Argentina S.A.  
Vacunas y Farmacéuticos  
Fam. Bona, G. Jimenez  
Cta. Asunción Regulatorias  
Apoderada



### 3) CONTROL DE CALIDAD-METODOS CONTROL ADYUVANTE MF59C.1

#### 3.1 Especificaciones

Tabla 6: Resumen de especificaciones y pruebas de rutina - Características

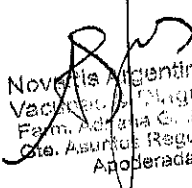
| Prueba                                                                                           | Método                       | Especificación                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                  |                              | <b>Liberación</b>                                                                             |
| Aspecto                                                                                          | Aspecto visual               | Líquido blanco, homogéneo.<br>Sin partículas extrañas visibles                                |
| pH                                                                                               | Potenciometría               | 6,0-7,0                                                                                       |
| Tamaño medio de las partículas                                                                   | Dispersión lumínica dinámica | 155 ± 20 nm                                                                                   |
| Número de partículas grandes > 1,2-400 µm/ml                                                     | Sensado óptico de partículas | No más de 1 x 10 <sup>7</sup> partículas                                                      |
| Contenido de escualeno                                                                           | RP-HPLC                      | 36-42 mg/ml                                                                                   |
| Identidad de escualeno                                                                           | RP-HPLC                      | Comparable a cromatograma de referencia                                                       |
| Contenido de polisorbato 80                                                                      | RP-LC                        | 4,1-5,3 mg/ml                                                                                 |
| Contenido de trioleato de sorbitán                                                               | RP-LC                        | 4,1-5,3 mg/ml                                                                                 |
| Endotoxina                                                                                       | Prueba LAL cinética          | No más de 1 UE/ml                                                                             |
| Carga biológica                                                                                  | Recuento microbiano total    | TAMC ≤ 10 UFC/ml<br>TYMC ≤ 10 UFC/ml                                                          |
| Contenido de carbonilo (Identificación y cuantificación de formaldehído, acetaldehído y acetona) | RP-HPLC                      | Acetaldehído no más de 2,6 ppm<br>Acetona no más de 1,5 ppm<br>Formaldehído no más de 0,2 ppm |

RP-LC: cromatografía líquida de fase inversa.

TAMC: contenido microbiano aeróbico total.

TYMC: contenido microbiano total de levaduras/hongos combinados

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vaccines & Diagnostic  
 Farm. Adriana C. Jimenez  
 Cta. Asuntos Regulatorios  
 Apoderada



## **3.2 Procedimientos Analíticos**

### **3.2.1 Aspecto**

Se examina la homogeneidad, claridad, color, turbidez, presencia de material extraño y sedimentación de una muestra del Adyuvante MF59C.1 a Granel contra un fondo negro, antes y después de mezclar mediante inversión suave.

### **3.2.2 pH**

Se determina el pH por potenciometría.

### **3.2.3 Tamaño medio de las partículas**

El tamaño medio de las partículas se mide con un medidor de tamaño de partículas submicrométricas Nicomp 370 que emplea Dispersión Lumínica Dinámica.

### **3.2.4 Número de partículas grandes > 1,2-400 $\mu\text{m}$ por ml**

El número de partículas de emulsión > 1,2  $\mu\text{m}$  de diámetro del Adyuvante MF59C.1 a Granel se mide con un Medidor Óptico de Partículas AccuSizer 770 utilizando oscurecimiento de luz.

### **3.2.5 Identidad y contenido de escualeno**

Se inyecta una muestra de Adyuvante MF59C.1 a Granel en un sistema de HPLC de fase inversa isocrática, y se emplea detección UV a 215 nm.

### **3.2.6 Contenido de polisorbato 80 y contenido de trioleato de sorbitán**

El método usado para la cuantificación de polisorbato 80 y trioleato de sorbitán (dos componentes importantes del adyuvante MF59C.1) es un método de Cromatografía Líquida de Fase Inversa (RP-LC).

### **3.2.7 Endotoxina**

El kit de prueba Kinetix-QCL es un análisis cinético cuantitativo para la detección de endotoxina bacteriana gramnegativa.

### **3.2.8 Carga biológica**

Se diluye la muestra, y se filtran dos alícuotas a través de una membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Una membrana se coloca sobre una placa de Agar Soja Triptico, y la otra, sobre agar Sabouraud, y se incuban a 30-35°C y a 20-25°C, respectivamente, durante 5 días.

### **3.2.9 Contenido de carbonilo**



Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840



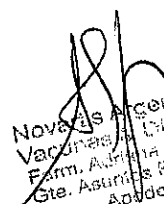
Novartis Argentina S.A.  
Vacunas y Diagnóstico  
Patricia Adriana G. Jimenez  
Gte. Asuntos Regulatorios  
Aprobada



La degradación química (peroxidación) e inducida por la luz (fotólisis) del escualeno del MF59C.1 determina la formación de compuestos carbonilo, como formaldehído, acetaldehído y acetona. Se usa un método de RP-HPLC con detección UV/Vis para el análisis de formaldehído, acetaldehído y acetona.



Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncic  
Director Técnico  
MN 14840



Novartis Argentina S.A.  
Vacunas, Diagnóstico  
Farm. Adriana G. Jimenez  
Gte. Asuntos Regulatorios  
Apoderada



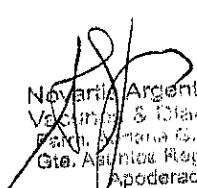
#### 4) CONSISTENCIA DE LA PRODUCCION

A continuación, se detallan los resultados para los lotes de consistencia producidos en el edificio H12 de Marburg usando la Línea 1 y la Línea 2.

**Tabla 7: Resultados de lotes de consistencia (producidos en Marburg), Línea 1 y Línea 2**

| Prueba                                   | Especificación                                                 | Número de lote          |                         |                         |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                          |                                                                | 549 168 010             | 549 169 010             | 549 170 010             |
| Aspecto                                  | Líquido blanco, homogéneo.<br>Sin partículas extrañas visibles | Cumplido                | Cumplido                | Cumplido                |
| pH                                       | 6,0-7,0                                                        | 6,4                     | 6,4                     | 6,4                     |
| Tamaño medio de las partículas           | 155 ± 20 nm                                                    | 141                     | 145                     | 146                     |
| Número de partículas grandes > 1,2 µm/ml | No más de 1 x 10 <sup>7</sup> partículas                       | 726 000                 | 848 000                 | 870 000                 |
| Identidad de escualeno                   | Comparable al cromatograma de referencia                       | Comparable a referencia | Comparable a referencia | Comparable a referencia |
| Contenido de escualeno                   | 36-42 mg/ml                                                    | 41                      | 41                      | 41                      |
| Contenido de polisorbato 80              | 4,1-5,3 mg/ml                                                  | 4,4                     | 4,4                     | 4,4                     |
| Contenido de trioleato de sorbitán       | 4,1-5,3 mg/ml                                                  | 4,2                     | 4,2                     | 4,3                     |
| Endotoxina                               | No más de 1 UE/ml                                              | < 0,25                  | < 0,25                  | 0,5                     |
| Carga biológica                          | No más de 10 UFC/ml                                            |                         |                         |                         |
| Comienzo                                 |                                                                | 0                       | 0                       | 0                       |
| Medio                                    |                                                                | 0                       | 0                       | 0                       |
| Fin                                      |                                                                | 0                       | 0                       | 0                       |
| Contenido de                             |                                                                |                         |                         |                         |

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jerónimo  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vacunas & Diagnóstico  
 Path. y Materia Q. Químicas  
 Gte. Asuntos Regulatorios  
 Apoderada



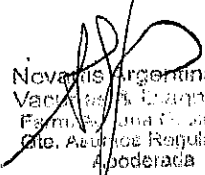
|              |                   |     |     |     |
|--------------|-------------------|-----|-----|-----|
| carbonilo    |                   |     |     |     |
| Acetaldehído | No más de 2,6 ppm | 1,4 | 1,4 | 1,4 |
| Acetona      | No más de 1,5 ppm | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| Formaldehído | No más de 0,2 ppm | 0,0 | 0,1 | 0,1 |

A continuación, se comunican los resultados para los lotes de consistencia producidos en el edificio H12 de Marburg usando la Línea 3.

**Tabla 8: Resultados de lotes de consistencia (producidos en Marburg), Línea 3**

| Número de lote                              |                                                             | 571 3001 010          | 571 3002 010                       | 571 3003 010          |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------|
| Fecha de fabricación                        |                                                             | 17 de agosto de 2009  | 19 de agosto de 2009               | 20 de agosto de 2009  |
| Prueba                                      | Uso Especificación                                          | Lote de consistencia  | Lote de consistencia<br>Resultados | Lote de consistencia  |
| Aspecto                                     | Líquido blanco, homogéneo. Sin partículas extrañas visibles | Aprobado              | Aprobado                           | Aprobado              |
| pH                                          | 6,0-7,0                                                     | 6,4                   | 6,4                                | 6,5                   |
| Tamaño medio de las partículas              | 155 ± 20 nm                                                 | 153                   | 156                                | 149                   |
| Número de partículas grandes (> 1,2-400 µm) | No más de 1 x 10 <sup>7</sup> partículas/ml                 | 0,4 x 10 <sup>6</sup> | 0,4 x 10 <sup>6</sup>              | 0,4 x 10 <sup>6</sup> |
| Identidad de escualeno por RP-HPLC          | Comparable al cromatograma de referencia                    | aprobado              | aprobado                           | aprobado              |
| Contenido de escualeno por RP-HPLC          | 36-42 mg/ml                                                 | 36                    | 37                                 | 39                    |
| Contenido de polisorbato 80 por RP-LC       | 4,1-5,3 mg/ml                                               | 4,7                   | 4,8                                | 4,8                   |
| Contenido de trioleato de                   | 4,1-5,3 mg/ml                                               | 4,2                   | 4,4                                | 4,5                   |

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

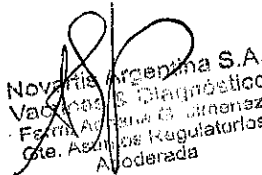
  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vicedirector Farmacéutico  
 Farm. Luna C. Antoniaz  
 Cte. Agencia Reguladora  
 Apoderada



|                        |              |                         |       |       |       |
|------------------------|--------------|-------------------------|-------|-------|-------|
| sorbitán por RP-LC     |              |                         |       |       |       |
| Endotoxina             |              | No más de 1UE/ml        | < 1,0 | < 1,0 | < 1,0 |
| Carga biológica        | Comienzo     | TAMC ≤ 10               | 0/0   | 0/0   | 0/0   |
|                        | Medio        | UFC/ml TYMC ≤ 10 UFC/ml | 0/0   | 0/0   | 0/0   |
|                        | Fin          |                         | 0/0   | 0/0   | 0/0   |
| Contenido de carbonilo | Acetaldehído | No más de 2,6 ppm       | 0,5   | 0,5   | 0,6   |
|                        | Acetona      | No más de 1,5 ppm       | 0,2   | 0,1   | 0,1   |
|                        | Formaldehído | No más de 0,2 ppm       | 0,1   | 0,1   | 0,1   |

TAMC: contenido microbiano aeróbico total TYMC: contenido microbiano total de levaduras/hongos combinados

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vacunas y Diagnóstico  
 Farm. Av. Santa Fe 1300  
 Cte. Asunción Regulatorias  
 Avoderada



## 5) SISTEMA CONTENEDOR-CIERRE

### 5.1 Descripción y especificaciones de los recipientes

#### 5.1.1 Recipiente/cierre

Los recipientes usados para el Adyuvante MF59C.1 a Granel son frascos Corning de 1 litro o equivalentes con diferentes volúmenes, fabricados de vidrio de borosilicato tipo 1 USP y sellados con tapas de polibutitereftalato (PBT) rojo revestidas de politetrafluoroetileno (PTFE). Las especificaciones para los recipientes y las tapas son aceptables y se detallan a continuación.

El Adyuvante MF59C.1 a Granel también se puede envasar en bolsas de plástico flexibles fabricadas con un polímero de EVA (etilenvinilacetato) y adaptadas a conectores asépticos.

Las bolsas de plástico flexibles son provistas por STEDIM o por JM o por un proveedor calificado equivalente. Las especificaciones para la bolsa de plástico flexible se detallan a continuación.

#### 5.1.2 Especificaciones

La capa de contacto del producto de las bolsas plásticas flexibles cumple con la monografía de Polietilén-vinil acetato de la Pharm. Eur. para envases y tubos para preparaciones parenterales de nutrición.

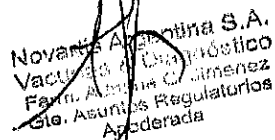
Las bolsas plásticas son certificadas libres de TSE/BSE. Estas cumplen con la guía de EMEA y la monografía de la Pharm. Eur. minimizando el riesgo de transmisión de agentes de encefalopatía esponjiforme animal a través de productos medicinales.

Las especificaciones de los proveedores incluyen esterilidad, endotoxinas e integridad.

#### 5.1.3 Etiquetado del adyuvante MF59C.1 a granel

Se etiqueta cada frasco de Adyuvante MF59C.1 a Granel para indicar el contenido, las condiciones de conservación, el nombre y la dirección del fabricante, la fecha de fabricación, el número de partida y número de lote de Novartis Vaccines and Diagnostics.

  
Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronice  
Director Técnico  
MN 14840

  
Novartis Argentina S.A.  
Vaccines and Diagnostics  
Farm. Argentina C. Jimenez  
Gte. Asuntos Regulatorios  
Asesorada



# PRODUCTO TERMINADO

## 1) INTRODUCCIÓN

### 1.1 Descripción y Composición del producto terminado

**Fluxvir®** es una vacuna antigripal, de antígeno de superficie, inactivada, adyuvantada con MF59C.1. La vacuna se presenta como una suspensión estéril monodosis de 0,5 ml para inyección en una emulsión blanco lechosa, contenida en una jeringa de vidrio prellenada.

**Fluxvir®** contiene predominantemente antígenos de superficie hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) purificados de cada una de las tres cepas de virus de la gripe, tipos A y B, recomendados en forma anual para la vacunación por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Europea (UE). Las cepas de virus de la gripe crecen individualmente en huevos de pollo embrionados y son inactivadas mediante tratamiento con formaldehído antes de la purificación de los antígenos de superficie y la formulación con el adyuvante MF59C.1. El adyuvante MF59C.1 es una emulsión oleoacuosa compuesta por escualeno como la fase oleosa, estabilizada con los agentes tensioactivos polisorbato 80 y trioleato de sorbitán, en un amortiguador citrato. La potencia de la vacuna se expresa como la concentración de proteína HA.

El adyuvante MF59C.1 aumenta la respuesta inmunitaria a la vacunación con los antígenos del virus de la gripe.

**Fluxvir®** induce inmunidad activa contra los virus de la gripe, como demuestra la presencia de altos títulos de anticuerpos contra las cepas incluidas en la vacuna en el suero de los sujetos vacunados. Después de la vacunación con **Fluxvir®**, también se observaron aumentos significativos de anticuerpos contra cepas heterovariantes, antigénicamente diferentes de las contenidas en la vacuna.

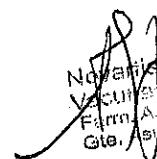
La formulación de la vacuna a granel final se lleva a cabo cerca de Siena en una localidad denominada Rosia. El llenado y el envasado se realizan en el centro de Rosia.

**Fluxvir®** tiene una vida útil de 12 meses cuando se almacena a 2-8°C (no congelar), protegido de la luz.

**Fluxvir®** debe ser administrada en una sola dosis de 0,5 mL por inyección intramuscular a nivel del músculo deltoides. Está indicada para la inmunización activa contra la gripe en ancianos (> 65 años de edad), en especial para aquellos con mayor riesgo de complicaciones asociadas (es decir, pacientes afectados por enfermedades crónicas de base, como diabetes, enfermedades cardiovasculares y respiratorias).

El uso de **Fluxvir®** debe basarse en las recomendaciones oficiales.

  
**Novartis Argentina S.A.**  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840

  
Novartis Argentina S.A.  
Facultad de Diagnóstico  
Farm. Mariana G. Gómez  
Gte. Agentes Regulatorios  
Apoderada



Cada jeringa monodosis prellenada de **Fluxvir®** contiene 0,5 ml\* de vacuna antigripal adyuvantada, con la siguiente composición:

**Tabla 1 Composición de Fluxvir® para la presente estación**

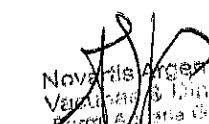
| Nombres de los componentes                                                                                                                                                        | Cantidad por dosis      | Función            | Referencia respecto de estándares |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| <u>Componentes activos</u>                                                                                                                                                        |                         | Vacuna antigripal  | Ph. Eur.                          |
| Antígenos hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) de las cepas de virus de la gripe recomendadas por la OMS/UE para la fabricación de vacuna antigripal para la presente estación | ≥ 15 µg HA (por cepa)** |                    |                                   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• A (H1N1)</li> <li>• A (H3N2)</li> <li>• B</li> </ul>                                                                                     |                         |                    |                                   |
| Cloruro de sodio                                                                                                                                                                  | 4,00 mg                 | Auxiliar isotónico | Ph. Eur.                          |
| Cloruro de potasio                                                                                                                                                                | 0,10 mg                 | Amortiguador       | Ph. Eur.                          |
| Fosfato diácido de potasio                                                                                                                                                        | 0,10 mg                 | Amortiguador       | Ph. Eur.                          |
| Fosfato disódico dihidratado                                                                                                                                                      | 0,66 mg                 | Amortiguador       | Ph. Eur.                          |
| Cloruro de magnesio hexahidratado                                                                                                                                                 | 0,05 mg                 | Estabilizador      | Ph. Eur.                          |
| Cloruro de calcio dihidratado                                                                                                                                                     | 0,06 mg                 | Estabilizador      | Ph. Eur.                          |
| Escualeno                                                                                                                                                                         | 9,75 mg                 | Adyuvante          | Especificación interna            |
| Polisorbato 80                                                                                                                                                                    | 1,175 mg                | Adyuvante          | N.F.                              |
| Trioleato de sorbitán                                                                                                                                                             | 1,175 mg                | Adyuvante          | N.F.                              |
| Citrato de sodio                                                                                                                                                                  | 0,66 mg                 | Adyuvante          | U.S.P.                            |
| Ácido cítrico                                                                                                                                                                     | 0,04 mg                 | Adyuvante          | U.S.P.                            |
| Agua para inyección                                                                                                                                                               | Hasta 0,50 ml           | Diluyente          | Ph. Eur.                          |

\*Se incluye en la jeringa un excedente de hasta 0,1 ml para permitir la extracción de un volumen nominal de 0,50 ml.

\*\*Se incluye un promedio de hasta el 15% de la concentración de HA para cada cepa del virus.

La composición de la vacuna (**Fluxvir®**) cambia cada año con respecto a los principios activos (de acuerdo con recomendaciones de la OMS).

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jarencio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vacunas y Diagnóstico  
 Farm. S. de Buenos Aires  
 Gte. Ases. Regulatorios  
 Apoderada



## 2) PROCESO DE PRODUCCIÓN – PRODUCTO TERMINADO

### 2.1 Elaborador (es)

Granel:

| Nombre y dirección                                                                 | Responsabilidad                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l.<br>Via Fiorentina 1<br>53100 Siena Italia | Fabricación de Semilla Maestra, Semilla de Trabajo, Cosecha Monovalente.<br>Pruebas de Control de Calidad.                                                                                                  |
| Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l.<br>Loc. Bellaria<br>53018 Rosia Italia    | Suministro alternativo de Agua para Inyección, centro alternativo de preparación de la solución, Filtración estéril/Preparación Estéril de la Cosecha Monovalente Combinada, Pruebas de Control de Calidad. |

Empaque 1° y 2°:

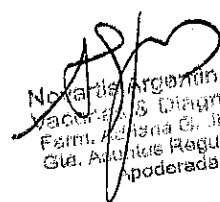
| Nombre y dirección                                                               | Responsabilidad                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Novartis Vaccines and Diagnostics S.r.l.<br>Loc. Bellaria<br>53018 Rosia, Italia | Formulación, llenado, inspección y envase.<br>Pruebas de Control de Calidad. |

### 2.2 Fórmula del batch

#### Fórmula de fabricación

Después de definir el tamaño del lote, se pueden calcular los volúmenes (pesos) de cada componente. La potencia requerida de la vacuna final a granel en términos de contenido de HA se define como 15 µg/dosis por cepa de virus, con un excedente de hasta el 15% para tener en cuenta la variabilidad inherente dentro del método de análisis de potencia aplicado. Para alcanzar el contenido de HA requerido en el producto final, se debe hacer un cálculo para cada lote de formulación final a granel comenzando por la cantidad de cada antígeno

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vaccines & Diagnostics  
 Fami. Bellaria G. Jimenez  
 Gu. Act. Regulatorias  
 Apoderada



que se agregará. El contenido de HA de cada lote de antígeno es variable; por lo tanto, el cálculo de volumen para cada antígeno se basa en la potencia en el momento de liberación de la cosecha monovalente combinada. Como la dosis es de 0,5 ml, la potencia de la vacuna final a granel en contenido de HA para cada cepa de virus debe ser de 34,5 µg/ml, si se agrega un excedente del 15%. La concentración de HA de cada cosecha monovalente combinada individual determina el volumen para agregar. El volumen restante de la vacuna final a granel consiste en amortiguador A y solución B. Luego, se calculan las cantidades exactas de los otros componentes, de acuerdo con una fórmula definida. La fórmula presentada asume una concentración de HA de 575 µg HA/ml para las cosechas monovalentes combinadas del tipo A y de 287,5 µg HA/ml para las del tipo B.

**Tamaño del lote:** aproximadamente 360 l.

Fórmula:

|                                        |                 |         |
|----------------------------------------|-----------------|---------|
| Buffer A                               |                 | 25,92 l |
| Agua para inyección                    |                 | 55,37 l |
| Cosecha(s) monovalente(s) combinada(s) | (Tipo A – H1N1) | 32,73 l |
| Cosecha(s) monovalente(s) combinada(s) | (Tipo A – H3N2) | 32,73 l |
| Cosecha(s) monovalente(s) combinada(s) | (Tipo B)        | 32,73 l |
| Solución B                             |                 | 0,52 l  |
| Adyuvante MF59C.1 a granel             |                 | 180 l   |

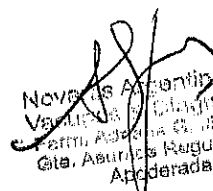
A continuación, se presentan las fórmulas de los lotes de los componentes no activos del producto final a granel por litro y por tamaño teórico del lote de 360 l:

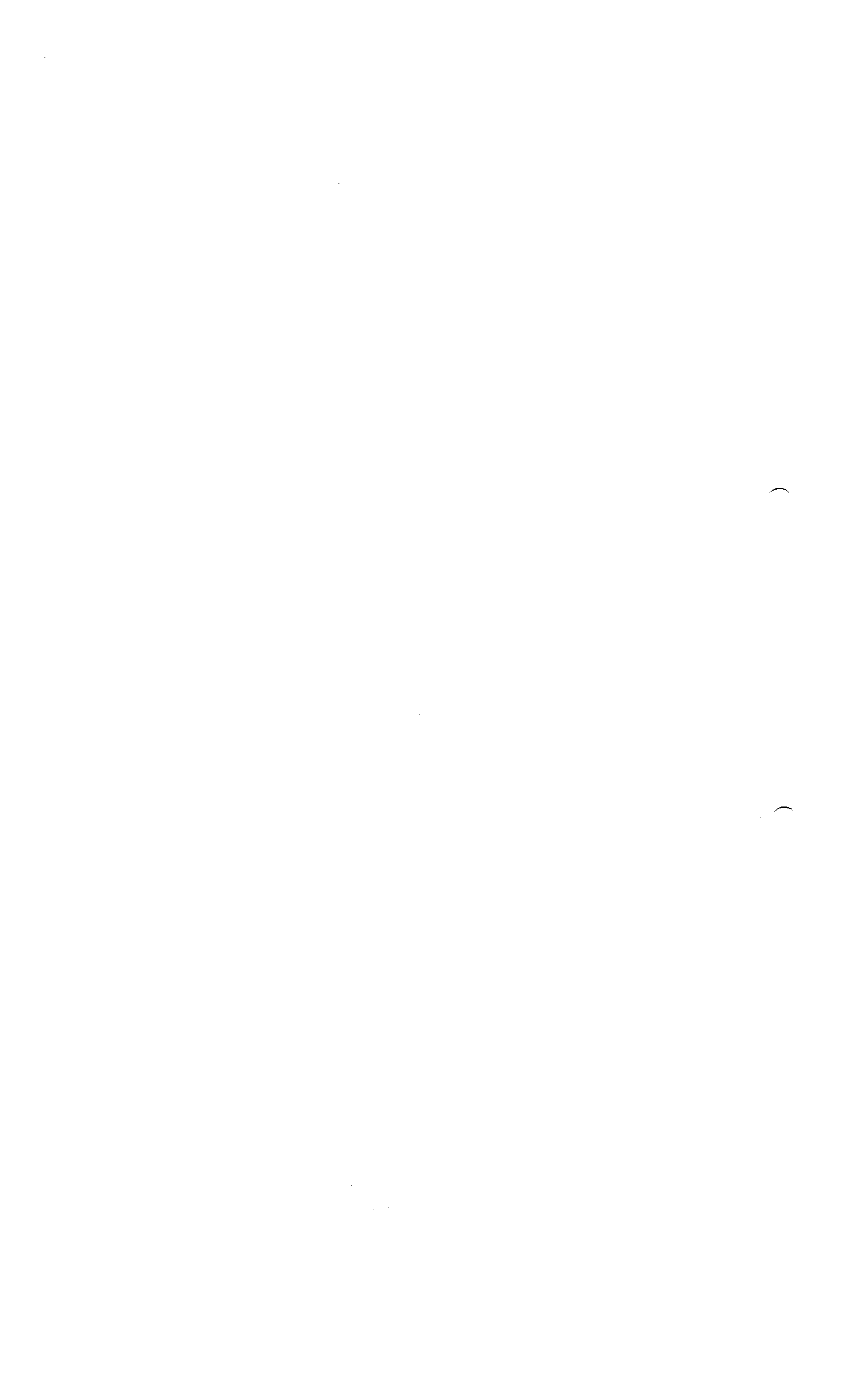
| BUFFER A (10x)               | Cantidad por litro | Cantidad por lote de 360 l |
|------------------------------|--------------------|----------------------------|
| Cloruro de sodio             | 80,0 g             | 2.073,6 g                  |
| Cloruro de potasio           | 2,0 g              | 51,84 g                    |
| Fosfato diácido de potasio   | 2,0 g              | 51,84 g                    |
| Fosfato disódico dihidratado | 13,4 g             | 347,32 g                   |
| Agua para inyección c.s.p.   | 1,0 l              | 25,92 g                    |

| SOLUCIÓN B (5x)            | Cantidad por litro | Cantidad por lote de 360 l |
|----------------------------|--------------------|----------------------------|
| Cloruro de magnesio        | 50,0 g             | 26 g                       |
| Cloruro de calcio          | 66,5 g             | 34,58 g                    |
| Agua para inyección c.s.p. | 1,0 l              | 0,52 l                     |

| ADYUVANTE MF59C.1 A<br>GRANEL | Cantidad por litro | Cantidad por lote de 360 l |
|-------------------------------|--------------------|----------------------------|
|                               |                    |                            |

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Vicedirector Científico  
 Farm. Adolfo G. Almonoz  
 Cta. Asesoría Regulatoria  
 Apoderada



|                            |       |          |
|----------------------------|-------|----------|
| Adyuvante MF59C.1 a Granel | 1,0 l | 2 X 90 l |
|----------------------------|-------|----------|

Se descarta el resto de cualquiera de estas soluciones tras la formulación de la vacuna final a granel.

Se añaden cantidades exactas de cada componente al tanque de mezcla del producto final a granel. Excepto por los antígenos, se descarta cualquier exceso de componente usado en la fabricación de la vacuna final a granel.

### 2.3 Descripción de los procesos de fabricación y controles de los procesos

#### Descripción de los procesos

El tamaño máximo de los lotes definido para la vacuna final a granel es de 360 litros. Después, se subdivide este producto a granel en alícuotas para llenado y terminación. Cada lote llenado representa una sola corrida en la línea de llenado. La fabricación del producto final es un ensamblaje aséptico de la vacuna final a granel, seguido de llenado y terminación asépticos.

Se definen el equipo usado en la fabricación y la clase de las áreas. El Proceso de Fabricación incluye los siguientes pasos críticos:

Recepción de las mezclas monovalentes de Siena y filtración estéril en Rosia

Preparación del Buffer A

Preparación de la Solución B

Esterilización del tanque de mezcla

Agregado de Solución B al Buffer A para formar el buffer final

Esterilización del buffer final

Agregado de Cosechas Monovalentes Combinadas al buffer final

Agregado de adyuvante MF59C.1 a granel estéril


Mezclado para producir la vacuna final a granel

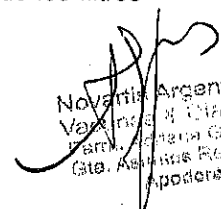
Subdivisión en alícuotas de la vacuna final a granel en lotes de llenado

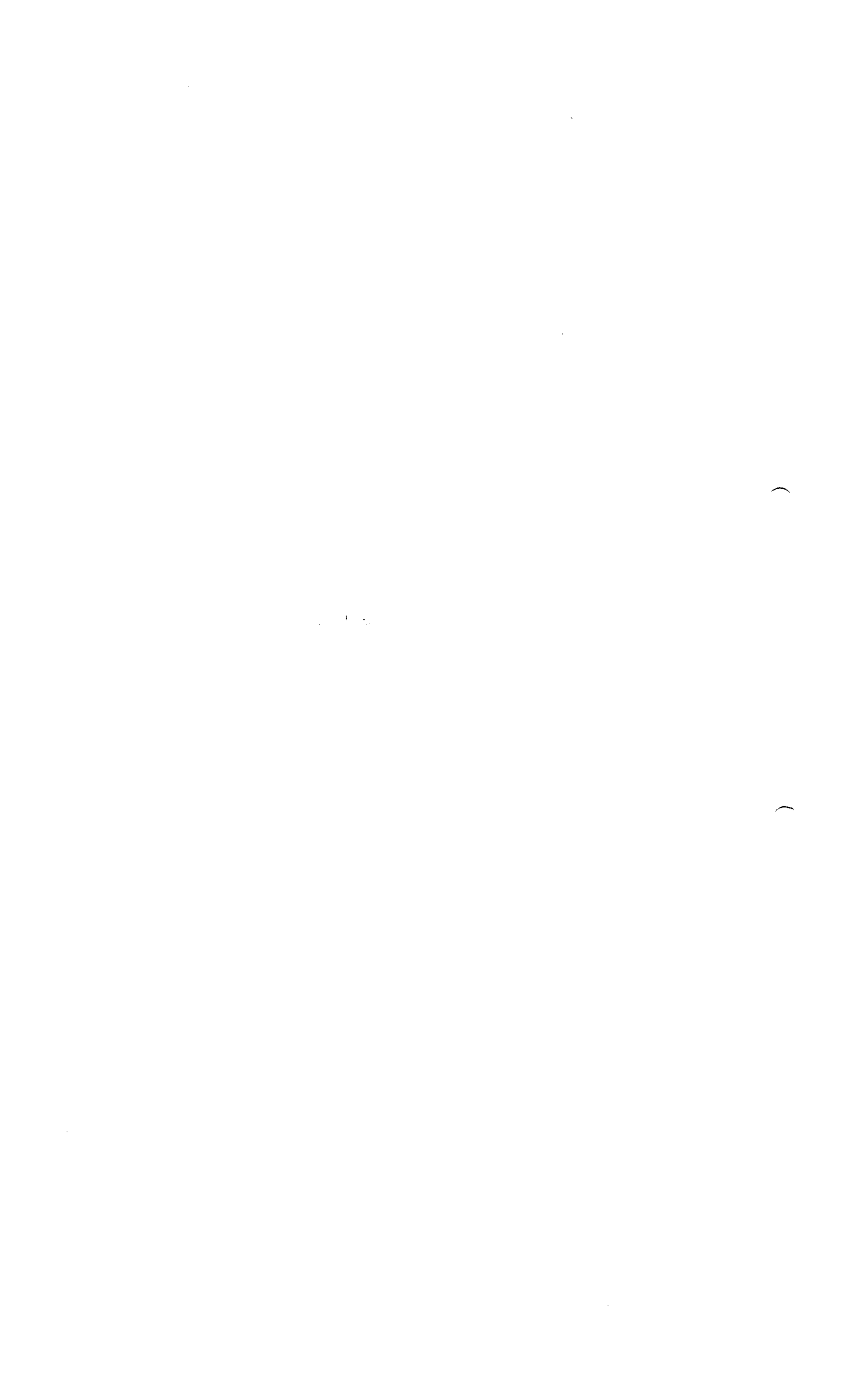
Llenado aséptico en recipientes preesterilizados

Marcado con línea de media dosis, etiquetado y envase

El proceso de fabricación describe los pasos de filtración estéril para los diversos componentes. La vacuna final a granel no está esterilizada terminalmente, porque esto podría determinar la pérdida de antígeno. El amortiguador A y la solución B se preparan por separado y, después, se mezclan para producir el amortiguador final, que es sometido a filtración estéril en un tanque de mezcla estéril. Sólo se investiga la integridad de los filtros

  
Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeronimo  
Director Técnico  
MN 14940

  
Novartis Argentina S.A.  
Votante de Diagnóstico  
Farm. Siena G. Gimenez  
Cto. Asesor Regulatorio  
Aprobada



después del uso. Si los filtros fallan, se descartan las soluciones, y se limpia y vuelve a esterilizar el tanque.

El adyuvante MF59C.1 a granel se esteriliza por filtración. Sólo se investiga la integridad de este filtro después del uso.

#### **Preparación del granel final**

El Producto Final a Granel se prepara mediante la adición consecutiva del Buffer Final (Buffer A y agua para inyección) y las Cosechas Monovalentes Combinadas al tanque estéril del producto final a granel. Este tanque se coloca sobre una balanza que se calibra a cero antes de comenzar a añadir los componentes. De esta manera, se puede calcular la cantidad exacta de cada uno de los componentes agregados al tanque. Se agrega el Buffer Final a través de una vía de llenado que contiene un filtro estéril de 0,2  $\mu\text{m}$ . Se practica una Prueba de Integridad de la membrana después de esta filtración, y se descarta la solución en caso de que la prueba fracase. Se transfieren asépticamente las cantidades requeridas de cada Cosecha Monovalente Combinada, filtrada en condiciones estériles, de sus respectivos vasos al tanque de mezcla mediante una bomba peristáltica a través de una tubería estéril. Se verifica cada adición por el aumento del peso del tanque. Las Cosechas Monovalentes Combinadas se añaden como soluciones estériles. Tras completar la adición, se agita el producto a granel durante no menos de 30 minutos para permitir una mezcla adecuada. Se controla el pH del Producto Final a Granel obtenido. Se toman muestras para las pruebas de control de liberación del Producto Final a Granel. Después, éste se divide en alícuotas por transferencia aséptica a recipientes estériles.

#### **Preparación de la Solución B**

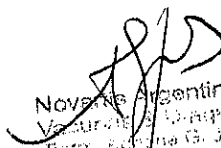
Se transfieren las cantidades pesadas de las sales a un recipiente de vidrio esterilizado que contiene una alícuota del agua para inyección requerida (alrededor del 70%). Se agita la solución obtenida hasta la lograr la disolución completa de las sales, y se agrega agua para inyección al volumen final; se agita la solución final durante aproximadamente 5 minutos.

#### **Preparación del Buffer A y del Buffer Final**

Se agrega una alícuota de agua para inyección (alrededor del 50%) al tanque esterilizado, y se inicia la agitación. Se transfieren las cantidades pesadas de las sales al tanque. Se añade agua para inyección hasta alcanzar el peso requerido, y se agita la solución resultante durante aproximadamente 10 minutos.

El mismo día de la preparación del Producto Final a Granel, se añade el volumen requerido de solución B (medido con un cilindro de vidrio esterilizado) al tanque que contiene el Buffer

  
**Novartis Argentina S.A.**  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840

  
Novartis Argentina S.A.  
Votación Electrónica  
Farm. Asunción G. Jirónes  
Gta. Asunción Regulatarios  
Apoderada

