

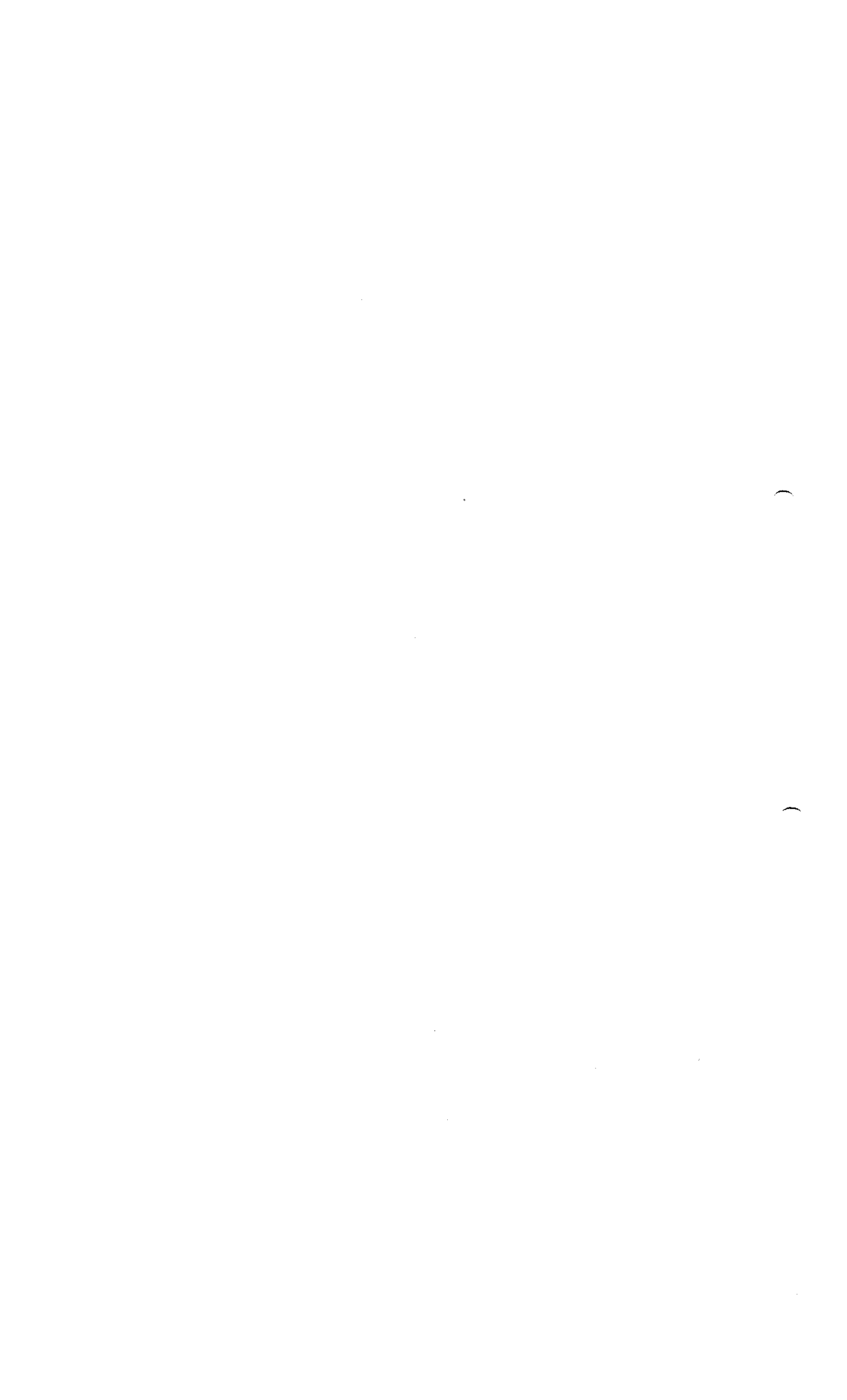


3.2.S.5

Estándares o Materiales de Referencia - HBsAg


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
INGENIERO EN GRADU
SANOFI PASTEUR S.A.

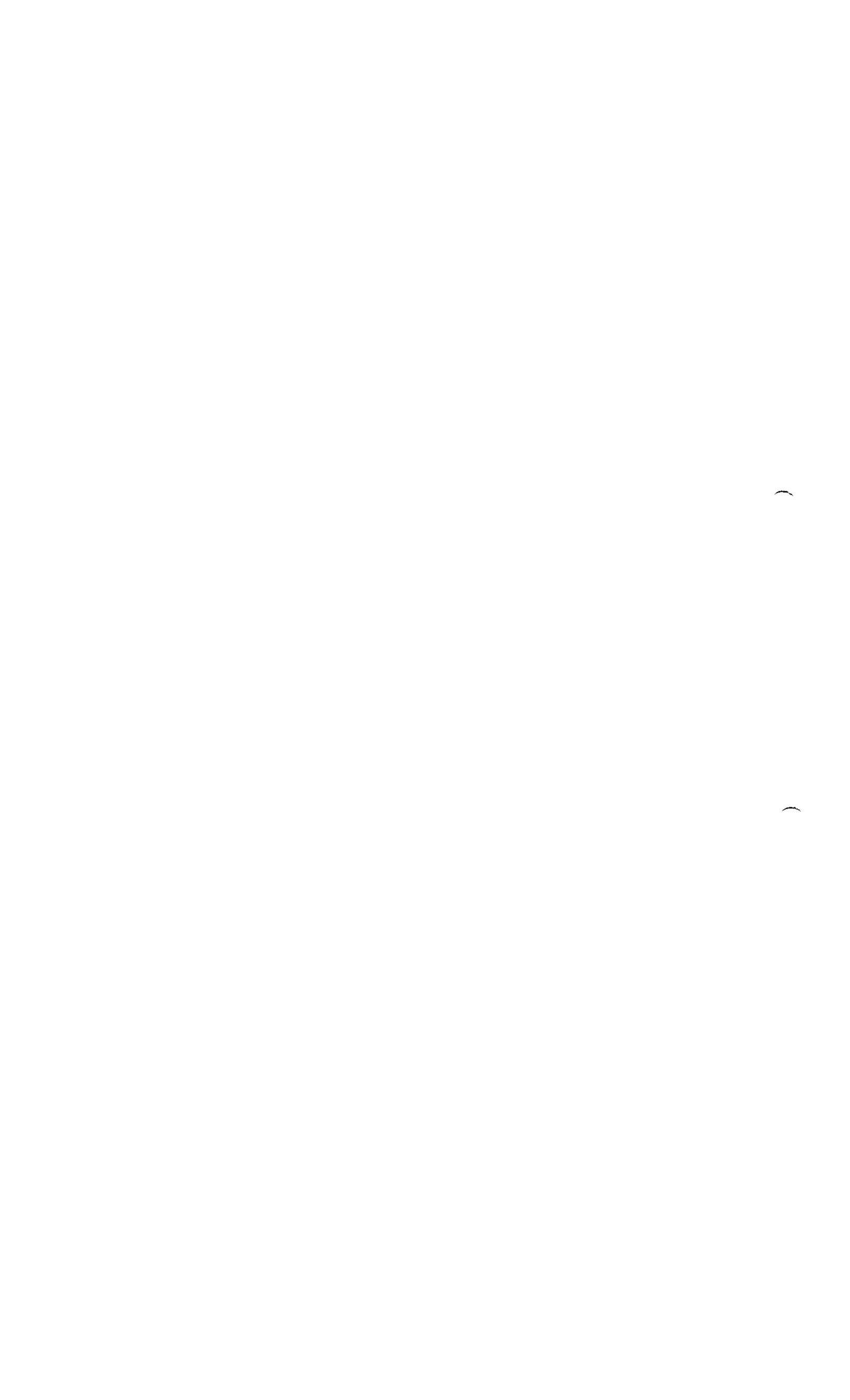




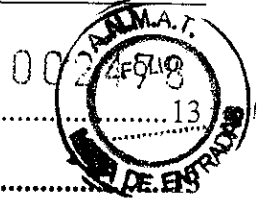
Sección 3.2.S.5 - Estándares o materiales de referencia

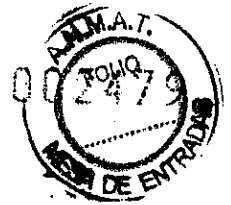
Índice

Lista de tablas	3
1 Estándar de referencia de albúmina de suero bovino.....	4
2 Estándar de referencia para la sacarosa	4
3 Material de referencia para los lípidos.....	4
4 Estándar de referencia interna de HBsAg	4
4.1 Estándar de referencia RA07/00	5
4.1.1 Preparación y uso del estándar de referencia.....	5
4.1.2 Cualificación del estándar de referencia.....	5
4.2 Estándar de referencia L039	6
4.2.1 Preparación y uso del estándar de referencia.....	6
4.2.2 Cualificación del estándar de referencia.....	6
4.3 Estándar de referencia AA004	6
4.3.1 Preparación y uso del estándar de referencia.....	6
4.3.2 Cualificación del estándar de referencia.....	7
4.3.2.1 Calibración	7
4.3.2.2 Caracterización.....	7
4.4 Estándar de referencia AC012	8
4.4.1 Preparación y uso del estándar de referencia.....	8
4.4.2 Cualificación del estándar de referencia.....	9
4.4.2.1 Calibración	9
4.4.2.2 Caracterización.....	9
4.5 Estándar de referencia AC079	10
4.5.1 Preparación y uso del estándar de referencia.....	10
4.5.2 Cualificación del estándar de referencia.....	11
4.5.2.1 Calibración	11
4.5.2.2 Caracterización.....	11
4.6 Procedimiento para cualificar nuevos estándares	12
4.6.1 Calibración de un estándar de referencia.....	12
4.6.2 Caracterización de un estándar de referencia	12



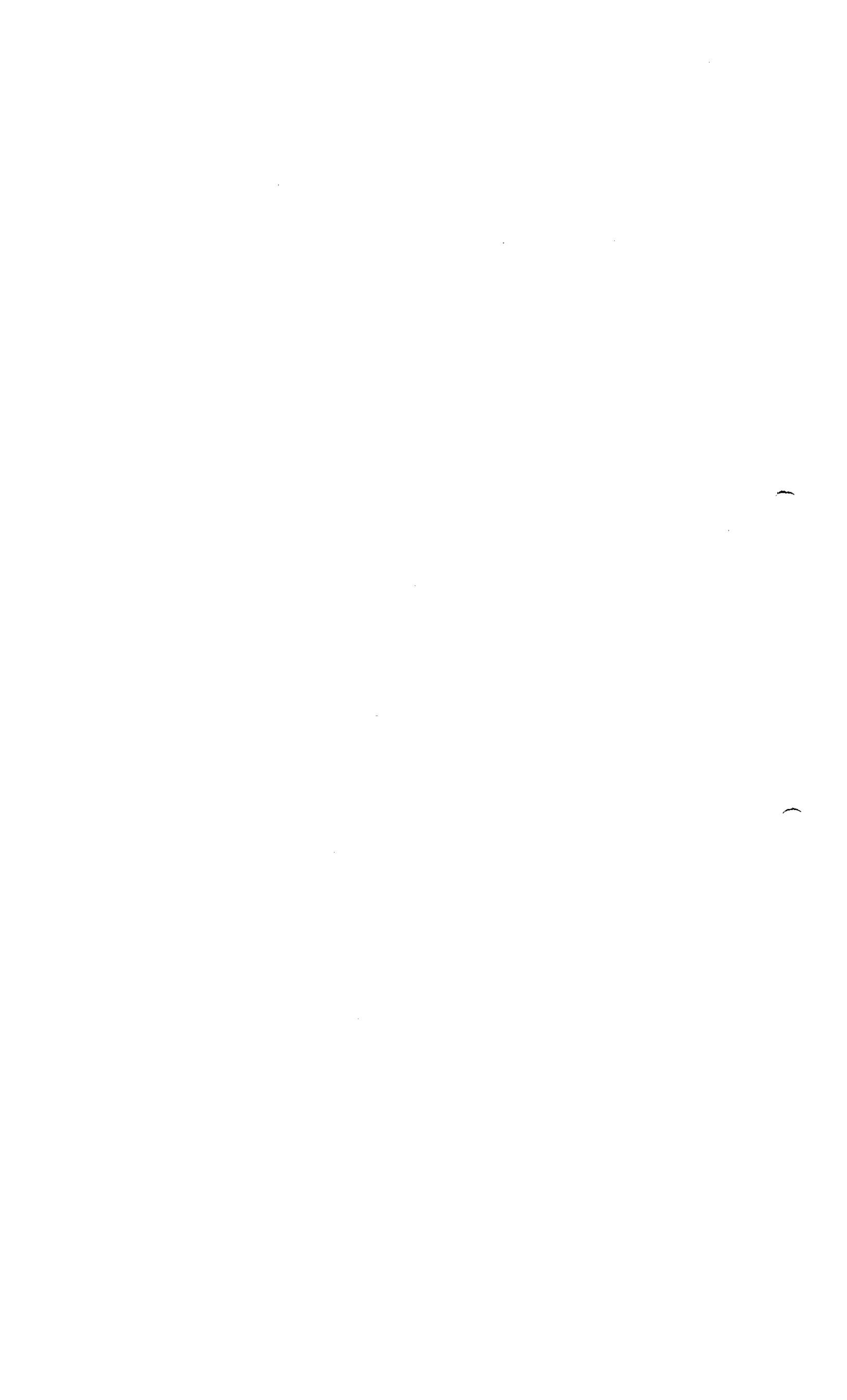
4.6.3	Condiciones de almacenamiento	13
5	Material de referencia marcador de bajo peso molecular.....	13
6	Material de referencia para las endotoxinas.....	13

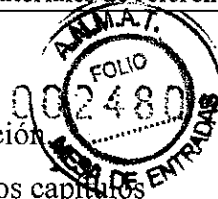




Lista de tablas

Tabla 1: Caracterización del lote AA004	8
Tabla 2: Caracterización del lote AC012	10
Tabla 3: Caracterización del lote AC0079	11
Tabla 4: Características de un estándar de referencia	12





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

La información sobre los estándares o materiales de referencia se presenta en los capítulos siguientes. Se incluyen ejemplos de certificado de análisis si están disponibles.

1 Estándar de referencia de albúmina de suero bovino

El estándar de referencia utilizado para determinar el contenido proteico mediante el método de Lowry es un material de referencia estándar de albúmina de suero bovino (BSA) proporcionado por el NIST (Instituto Nacional de Estándares y Tecnologías) de los Estados Unidos de América o cualquier otra organización oficial. Este estándar internacional para la determinación de las proteínas se compra con un certificado de análisis que indica la concentración proteica certificada. La temperatura de almacenamiento es de entre +2°C y +8°C.

Al final de esta sección se presenta un ejemplo del certificado de análisis se presenta.

2 Estándar de referencia para la sacarosa

El estándar de referencia utilizado para determinar el contenido de carbohidratos es un material de referencia de estándar de sacarosa en polvo proporcionado por el NIST (Instituto Nacional de Estándares y Tecnologías) de los Estados Unidos de América o cualquier otra organización oficial.

Dado que el estándar de referencia de la EDQM (Dirección Europea para la Calidad de los Medicamentos) para la sacarosa en polvo se utiliza sólo para la identificación, no está disponible ningún título específico. Por este motivo no se utiliza el estándar de referencia de la EDQM.

La temperatura de almacenamiento es de entre +20°C y +25°C.

Un ejemplo del certificado de análisis se presenta al final de esta sección.

3 Material de referencia para los lípidos

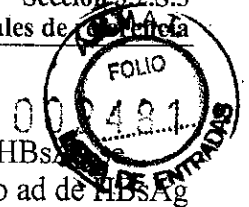
El material de referencia empleado para la prueba de contenido de lípidos es un aceite de oliva altamente refinado, de baja acidez, suministrado por un proveedor externo. La temperatura de almacenamiento es de entre +20°C y +25°C.

Un ejemplo del certificado de análisis se presenta al final de esta sección.

4 Estándar de referencia interna de HBsAg

De acuerdo con la recomendación de la OMS, *el estándar de referencia que se utilice para determinar el contenido de HBsAg en el antígeno purificado puede ser un granel representativo de contenido conocido de HBsAg y proteínas, o un preparado altamente purificado de HBsAg de contenido conocido de HBsAg y proteínas.*





De acuerdo con la monografía 1056 de la Ph. Eur.: “la cantidad y especificidad del HBsAg se determina por medio de la comparación con el estándar internacional para el subtipo ad de HBsAg o una referencia interna”.

Dado que el estándar internacional es adsorbido, no es representativo del HBsAg de sanofi pasteur. Por este motivo, el estándar de referencia actual utilizado para determinar el contenido y la identificación del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) mediante ELISA es un estándar de referencia interno que cumple con la revisión del informe TRS 786 Anexo 2 de la OMS adoptado por el ECBS en octubre de 2010 y con los requisitos de la monografía 1056 de la Farmacopea Europea.

El título de las dos primeras referencias (RA07/00 y L039) utilizadas durante el desarrollo se determinó mediante calibración respecto de un lote de vacuna GenHevac.

En cuanto al tercer estándar de referencia (AA004), su título se definió mediante la determinación del contenido proteico total (método de Lowry) y la pureza, de la siguiente manera:

$$\text{Título} = \text{contenido proteico} \times \text{pureza} (\%) / 100$$

Se prefiere este cálculo absoluto, dado que está basado en métodos ortogonales independientes del método ELISA en sí mismo.

4.1 Estándar de referencia RA07/00

4.1.1 Preparación y uso del estándar de referencia

La referencia RA07/00 se elaboró el 28 de marzo de 2000 en la planta de Caaguazú siguiendo el proceso de elaboración de Rhein Biotech (vea la sección 3.2.S.2.6 Desarrollo del proceso de elaboración).

La referencia se almacenó a $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ y se monitoreó utilizando gráficos de control.

Este estándar de referencia se utilizó en el análisis ELISA Monolisa Plus para lo siguiente:

- Estudio de estabilidad de los lotes de la primera serie de producción L006, L008 y L009 hasta el momento de medición de 24 meses;
- Liberación de los lotes L004 a L048.

4.1.2 Cualificación del estándar de referencia

El estándar de referencia se liberó de acuerdo con las especificaciones vigentes en ese momento.

Esta referencia se calibró respecto de un lote de la vacuna GenHevac; el título obtenido con 12 determinaciones mediante el análisis ELISA Monolisa Plus fue 7,76 mg/mL.

El contenido proteico (método de Lowry) fue de 1,54 mg/mL.

