

アレパンリックス（H1N1）筋注 提出資料

1. 凝集物について
 - 1.1. 白色凝集物に関するまとめ
 - 1.2. 白色凝集物に関するまとめ_別添
 - 1.3. Status Aggregate Investigations
 - 1.4. Kinetics of Aggregates Formation
 - 1.5. Factors Impacting the Aggregates in the H1N1 Antigen Lots and in the Adjuvanted H1N1 Vaccine Lots
 - 1.6. Arepanrix H1N1 Pandemic vaccine, QC preliminary data on retained samples Dec 10, 2009

2. 黒色微粒子について
 - 2.1. 黒色微粒子に関するまとめ
 - 2.2. Presence of coring particles in the vial after reconstitution of Pandemrix™

3. アナフィラキシーについて
 - 3.1. カナダにおけるArepanrix接種後のアナフィラキシーについて
 - 3.2. カナダにおけるArepanrix接種後のアナフィラキシーについて（追加情報）
 - 3.3. 別添 1_A80CA007Aロットにおける症例（2009年12月16日時点）
 - 3.4. 別添 2_抗原ロット番号のみがAFLPA313AAと判明している症例（2009年12月16日時点）
 - 3.5. 該当症例CIOMS

4. 情報提供資料
 - 4.1. 医療従事者用説明資料
 - 4.2. 被接種者用説明資料
 - 4.3. 予診票

当該提出資料のうち、「1. 凝集物」及び「3. アナフィラキシーについて」につきましては、特定の個人を識別することができる情報、あるいは、公表することにより当社の権利、競争上の地位その他正当な利益を害するおそれがある法人に関する情報が含まれております。そのため、一部を非公開とする予定です。委員・参考人の先生方におかれましては、本資料の取扱いにご注意ください。

アレパンリックス（H1N1）筋注における白色凝集物に関するまとめ

2009年12月17日

白色凝集物について

カナダ・ケベック工場製のインフルエンザ抗原製剤（H1N1、H5N1 および季節性）においては、その株の種類により程度の差はあるものの、白色の凝集物を生じることを確認しております。種々の分析結果に基づく検討により、この凝集物は本来抗原製剤中に存在するヘムアグルチニンおよびたん白質から構成されていることが明らかとなっております。このことから、アレパンリックス（H1N1）筋注の抗原製剤においても発生しているこの凝集物は、微生物などの外来性の生物によるものではなく、さらに原料ならびに原薬および抗原製剤の製造工程に由来する外来性の不純物／異物ではなく、スプリットした抗原粒子等が何らかの機構で凝集した内因性の物質であると考えられます。

国内臨床試験用の治験薬について、社内保管品と治験施設への輸送品とを目視検査したところ、凝集物の量および大きさに差が認められないことから、日本国内における輸送の影響はないものと考えております。また、日本に輸送された治験用ロット、その製造元保管品およびカナダ国内向けの市販用ロットを目視検査により比較し、凝集の程度がほぼ同等であることを確認しており、本抗原製剤に認められる凝集物は、カナダから日本および日本国内の輸送により発生するものではないと考えられます。

免疫原性については、日本国内の臨床試験で用いたロットおよびカナダ国内で流通している市販用ロットについて、AS03 アジュバント製剤と混合した後の接種前のワクチンは表示量に相当する HA 含量を示しており、凝集物が及ぼす免疫原性への影響はないことを確認しております。

また、安全性については、凝集が生じている国内臨床試験で用いたロットを用いて異常毒性否定試験および発熱性物質試験を実施することにより確認しています。また、さらに臨床での使用において、これまでに予期しない安全性の問題が発生していないことを確認しております。

以上のことから、本ワクチンにおいて、凝集物の発生が製剤の品質、安全性および有効性に影響を及ぼすことはないと考えております。以下に凝集物に関するこれまでの経緯、種々の検討および今後実施予定の検討を示します。

1. 凝集物発生に関する経緯

2005年、3 価の季節性インフルエンザワクチン「Fluviral」（当時カナダでのみ承認）の抗原製剤 5 ロット（ロット番号：3FV19911、3FV20211、3FV20511、3FV21911 および 3FV23711）において、大きさは様々であるが白色の粒子（凝集物）が認められた。そのため、検体を遠心分離し上清と沈殿物（凝集物）それぞれにつき、光学密度、たん白質含量および HA 含量（SRID 法）の測定ならびに FT-IR による解析を実施し、また、光学密度における保存温度の影響について調査した。現在まで 1mm 以上の凝集物は認められていない。

[平成 21 年 10 月 26 日提出 報告書 “Industrial Development Final Report PDI 70.61”]

また、新型 H1N1 インフルエンザワクチン「Arepanrix H1N1 (A/California/7/2009 株)」について、カナダ当局による試験時に上記と同様の凝集物が認められ、2009 年 10 月 9 日に当局から報告を受けた。そのため、抗原製剤の外観観察、輸送前後における光学密度、平均粒子径、多分散性指数および HA 含量の測定ならびに SDS-PAGE およびウェスタンブロットによる解析を実施した。また、検体を遠心分離し上清と沈殿物（凝集物）それぞれにつき、光学密度、たん白質含量および HA 含量の測定ならびに SDS-PAGE により解析を実施し凝集物を調査した。さらに、異常毒性否定試験および発熱性物質試験により安全性を確認した。

[平成 21 年 11 月 13 日提出 報告書 “AS03-Adjuvanted Quebec H1N1 Pandemic Vaccine (Arepanrix H1N1) Un-Adjuvanted Monovalent H1N1 Vaccine Briefing Document”]

1.1. 凝集物に関する科学的な調査

- Fluviral について、2005 年以前および以降も凝集物は認められている [10 月 28 日付の照会 3 に対する回答]。
- Arepanrix H1N1 について、すべての臨床用および市販用ロットの抗原製剤について凝集物が認められている [10 月 28 日付の照会 8 に対する回答および EMEA の照会 11 に対する回答]。
- 界面活性剤を含有するドレスデン製の抗原製剤（H1N1、H5N1 および季節性インフルエンザワクチン）には凝集物は認められない [10 月 28 日付の照会 1 に対する回答]。
- 一般的にたん白質を含有する製剤に凝集が発生することがあり、その直接の原因として、温度、pH、塩濃度、輸送および界面活性剤の有無などが挙げられ、たん白質の（静電的性質、疎水性）によるものと考えられている [10 月 28 日付の照会 3 および 5 に対する回答]。
- Arepanrix H1N1 について、SDS-PAGE およびウェスタンブロットによる解析により、遠心分離前と遠心分離後の沈殿物（凝集物）とが同様のたん白質プロファイルであることから、凝集物は抗原製剤中の固形分（ヘムアグルチニンおよびたん白質）と同一の組成からなり、内因性のものであると考えられる。
- Arepanrix H1N1 について、凝集物は微生物などの外来性生物によるものではないことを無菌試験により確認した [EMEA の照会 9 に対する回答]。
- 日本において保管した Arepanrix H1N1 治験薬および DSM サイト（米国）において充てんした Arepanrix H1N1 を、ともにカナダへと輸送した製剤について、アジュバント製剤との混合後にバイアルから 1 回接種分を 10 回抜き取り、それぞれ HA 含量を測定することにより、1 バイアル中の含量均一性を評価した結果、凝集物の存在および輸送の影響がないことを確認した [EMEA の照会 8 に対する回答]、 [11 月 12 日付の照会 8 に対する回答（更新版）] および [平成 21 年 12 月 10 日提出 報告書 “Factors Impacting the Aggregates in the H1N1 Antigen Lots and in the Adjuvanted H1N1 Vaccine Lots”]。

1.1.1. 製造方法の影響

- 2000 年シーズンの Fluviral において、凝集物の発生が認められ、翌年のシーズンにパナマ株のスプリット方法を変更した [EMEA の照会 3 に対する回答]。

- 2005 年以降、製造方法の大きな変更は行われていない [10 月 28 日付の照会 3 に対する回答]。
- Fluviral および Arepanrix H1N1 について、充てん前に 8 μ m のフィルターによるろ過を実施している [11 月 12 日付の照会 7④に対する回答]。
- 原薬の製造工程で界面活性剤が除去されるため、この段階において凝集が起こる可能性は否定できないが、ろ過滅菌の前後で性状に変化はなく、ろ過滅菌後の原薬はすべて、性状の規格「本品は澄明～乳白色の懸濁液であり、まれにわずかに沈殿を生じる。」に適合している [11 月 12 日付の照会 5 に対する回答]。
- 凝集物が、UV 照射およびホルムアルデヒド処理による不活化に影響を与えることはない。また、万が一、不活化されないウイルス粒子が存在した場合においても、その後のスプリット化工程により十分に不活化される [11 月 12 日付の照会 5 および 11 月 20 日付の照会 2 に対する回答]。

1.1.1.1. 工程管理

- Arepanrix H1N1 抗原製剤は充てんラインにおいて、外来性の異物が混入したバイアルを排除するために教育を受けた検査員による目視による全数検査を実施している。また、AQLを設定し異物が認められた際の管理手順を設定している。その際は、抜き取り検査によりバイアル中の外来性異物の面積を基準円と照らし合わせてその大きさを計測している [11 月 12 日付の照会 1 および 7⑤に対する回答]。

1.1.2. 輸送の影響

- Arepanrix H1N1 (AS03-Adjuvanted 製品) の臨床用ロットおよび市販用ロットの抗原製剤ならびに Arepanrix H1N1 (Un-Adjuvanted 製品) の市販品ロットについて、トラックによる 20 時間までの輸送の前後においては、平均粒子径、多分散性指数、HA 含量 (HPLC 法および SRID 法) ならびに SDS-PAGE およびウェスタンブロットによるたん白質プロファイルに変化はほとんどなく、また、たん白質含量 (ローリー法) および HA 含量 (HPLC 法および SRID 法) の結果から凝集物の割合もほとんど変化はなかった。さらに、遠心分離前、遠心分離後の上清および沈殿物 (凝集物) について SDS-PAGE による解析を実施し、それらは同様のたん白質プロファイルであり、凝集物は抗原製剤に本来含有する成分 (ヘムアグルチニンおよびたん白質) であることが示唆された。
- Arepanrix H1N1 (AS03-Adjuvanted 製品) の治験用ロットの抗原製剤について、輸送前と比較して輸送後の SRID 法による HA 含量は NIBSC の参照抗原および CBER の参照抗原を用いた際、それぞれ 18% および 10% 低下した。しかしながら AS03 アジュバント製剤との混合後の SRID 法における沈降輪は輸送前後において同等であることから、輸送前後の HA 含量に変化は認められなかった [EMA の照会 5 に対する回答]。一方、HPLC 法による HA 含量も輸送前後において同等であった。
- 凝集の発生は輸送のような外的な要因よりも抗原の性質による要因が強いため、その発生を防止する手段はない [11 月 12 日付の照会 8 に対する回答]。

1.1.3. 温度の影響

- Fluviral について、氷およびアイスパックによる保冷においては光学密度（OD 値）に変化はないものの、-30℃、2 時間の保存により OD 値の上昇が認められた。
- Fluviral について、室温および 37℃において振とうしても凝集物の消失は認められなかった。

1.1.4. 凝集物の経時的な変化

- 製造日より 22～61 日が経過した 4 ロット（市販品 3 ロットおよび臨床試験用 1 ロット）について、抗原製剤において平均粒子径、多分散性指数、遠心分離により採取した凝集物のたん白質含量および HA 含量の測定ならびにアジュバント製剤との混合後の HA 含量の測定を実施した。この結果より、平均粒子径および多分散性指数については経時的な変化は認められなかったものの、経時的に凝集物に占めるたん白質含量は減少し、HA 含量は増加する傾向が認められた。しかしながら、アジュバント製剤混合後の HA 含量については経時的な変化は認められなかった [EMEA の照会 (Cycle RR#7.4 Major Objection) 1 に対する回答] および [平成 21 年 12 月 10 日提出 報告書 “Kinetics of Aggregates Formation”]。

1.1.5. 免疫原性

- Arepanrix H1N1 (AS03-Adjuvanted 製品) の治験用ロットの抗原製剤について、SRID 法による HA 含量は輸送により 18%または 10%低下したが、AS03 アジュバント製剤との混合後は輸送前後いずれも規格の範囲内であったことから、Arepanrix H1N1 ワクチンの免疫原性は輸送の有無に影響を受けないことが確認された。

1.1.5.1. アジュバント製剤と混合後の免疫原性

- 凝集が生じている実生産 3 ロットの抗原製剤全量を SRID 法により HA 含量を測定した結果、同様に HA の低下傾向が認められ (12.8μg/mL)、凝集物中の HA 含量は全 HA 含量の 45～50% (遠心分離による方法) であった。さらにそれらのロットを輸送後に SRID 法で HA 含量を測定したところ輸送の影響を受けていなかった (12.8μg/mL)。一方、複数ロットの抗原製剤について同量の AS03 アジュバント製剤との混合後の HA 含量は平均 7.6μg/mL を示した。これは抗原製剤の規格値の半量に相当し、アジュバント混合後に HA 含量が回復していることが示唆された。
- 凝集が生じている治験用 2 ロットおよび市販品 2 ロットについて、0.22μm のフィルターによる凝集物の分取前後に HA 含量を測定した。この結果、抗原製剤のみではフィルターろ過後における HA 含量はろ過前の 73～79%であるものの、アジュバント混合後の製剤においてはろ過前の 91～100%と回復した。このことから、抗原製剤において存在する凝集物はアジュバント混合後にフィルターの目開き以下に小さく分散することが示唆された [11 月 12 日付の照会 8 に対

- カナダにおいてアナフィラキシーの発生原因を調査するために流通を停止したロット（A80CA007A）の製造元保管品について種々の検討を実施したところ、当該ロットは他の市販品ロットと比較し抗原製剤において 50 μ m 以上の凝集物が多く認められる（ただし平均粒子径については同程度であり、最大粒子径についてはより大きいロットも認められている）ものの、上述の 0.22 μ m のフィルターろ過による検討において、フィルターろ過後における HA 含量は 90%であった [平成 21 年 12 月 15 日提出 報告書 “Arepanrix H1N1 Pandemic vaccine, QC preliminary data on retained samples Dec 10, 2009”]。
- これらの結果から、凝集物が存在していてもアジュバント製剤を加えて抗原成分を分散させた後では、SDS-PAGE 法によるたん白質プロファイルに変化がなく、SRID 法による力価の低下もないことが立証された。したがって、アジュバントで再構成させることにより、凝集物が免疫原性に影響を及ぼさないことが裏付けられた。

1.2. 安全性

- Arepanrix H1N1 の臨床用ロットについて、異常毒性否定試験および発熱性物質試験を実施しており、いずれも試験に適合した。なお、試験を実施するために外部試験機関に輸送している。
- Fluviral において、臨床での使用における予期しない安全性の問題は認められていない。

1.3. まとめ

以上のことから、本凝集物は本来抗原製剤に存在する成分からなる内因性のものであり、温度および輸送による影響はほとんど認められなかった。さらにアジュバント製剤混合後の免疫原性および安全性に対する問題は認められていない。

2. 本ワクチンにおける凝集物の状態

2.1. 目視検査の結果

2.1.1. 国内保管品の状態

- 国内臨床試験用の治験薬について、社内保管品ならびに都内および福岡の治験施設への輸送品における目視検査を実施した。凝集物の量および大きさに差が認められないことから、日本国内における輸送の影響はないものと考えられた。また、社内保管しているケベック工場製の H5N1 の治験薬についても同様に検査を実施したところ、凝集の程度は H1N1 製剤と比較して小さいものの、凝集物を認めた。なお、いずれの検体にも長径 1mm 以上および 0.15mm² の凝集物は認められなかった [11 月 12 日付の照会 1 および 2 に対する回答]。

2.1.2. カナダ市販品の状態

- 日本に輸送された治験用ロット、その製造元保管品およびカナダ国内向けの市販用ロットとの凝集状態について目視検査により比較し、凝集物の量および大きさはいずれもほぼ同等であることを確認した。また、カナダにおいてアナフィラキシー反応およびORSの発現が顕著であったロット（A80CA009A）の抗原製剤（ロット番号：AFLPA319BB）についても目視検査を実施したところ、他のロットと比較し凝集の程度は同等であった。なお、いずれの検体にも長径1mm以上および0.15mm²の凝集物は認められなかった〔11月12日付の照会1および6②に対する回答〕。

2.2. まとめ

目視検査の結果から、凝集物の発生において日本国内外の輸送の影響はないものと考えられた。また、日本に輸送された治験用ロット、その製造元保管品およびカナダ国内向けの市販用ロットとの凝集の程度について比較し、凝集の程度がほぼ同等であることを確認した。一方、H5N1および季節性インフルエンザ株においては凝集の程度が小さいことから、凝集の要因としては、株の内在的な性質による部分が多いと推察された。

3. 今後の実施予定の検討項目

3.1. 日本国内での検討

- 製造元での充てん後の目視検査に加えて、今後輸送される日本向け市販用ロットについて、2.1.1.に準じた方法にて目視検査を実施する。

3.2. 製造元での検討

- 日本国内臨床試験用の社内保管品を製造元に返送し、目視検査を実施し、さらにそれと同一ロットの製造元での保管品との凝集物の割合を比較する。
- 本年12月末までに、抗原製剤の濁度により凝集物の存在を定量的に評価する方法を確立し、出荷時における規格として設定することを検討中である〔12月9日付の照会4に対する回答〕。

3.3. まとめ

凝集物の管理については、上述のように、製造元において出荷時における規格の設定を検討中であり、その規格の設定は12月末の予定である。前項までに示すように、凝集物が製剤の品質、安全性および有効性に影響を及ぼすことはないと考えられるが、当社では日本向け市販用ロットについてもいくつかのバイアルにつき目視検査を実施し、各ロットの凝集物の状態をモニターする予定である。

4. 提出資料一覧（凝集物について）

- 1.1 白色凝集物に関するまとめ（本資料）
- 1.2 白色凝集物に関するまとめ_別添
 - EMEA の照会 3 に対する回答
 - EMEA の照会 5 に対する回答
 - EMEA の照会 8 に対する回答
 - EMEA の照会 9 に対する回答
 - EMEA の照会 11 に対する回答
 - EMEA の照会（Cycle RR#7.4 Major Objection） 1 に対する回答
- 1.3 Status Aggregate Investigations
- 1.4 Kinetics of Aggregates Formation
- 1.5 Factors Impacting the Aggregates in the H1N1 Antigen Lots and in the Adjuvanted H1N1 Vaccine Lots
- 1.6 Arepanrix H1N1 Pandemic vaccine, QC preliminary data on retained samples Dec 10, 2009

Question 3

Q-Pan Antigen Drug Product - EMEA/H/C/1201/aggregate report

It is understood that changes to the manufacturing processes were made in response to the occurrence of aggregates being linked to the increased ORS cases seen in Canada. This should be detailed and discussed. Discussion should be provided on the suitability of release and stability specifications to control/indicate the likeliness of aggregation.

Upon receipt of a higher number of adverse event reports in the Fall of 2000, the Company immediately initiated a thorough investigation to identify a potential cause. Investigations focused on all aspects of manufacturing, including raw materials, manufacturing process and the final vaccine product.

Extensive testing using Transmission Electronic Microscopy (TEM) revealed that the split monovalent concentrates of the A/Panama/2007/99 strain as well as the Fluviral/FluLaval trivalent vaccine produced in 2000 contained large aggregates with a size of more than 500nm of unsplit virions. These aggregates of unsplit virions were practically absent from the previous year's Fluviral/FluLaval. In the following season, 2001-2002, the manufacturing process was modified to improve the splitting process of the Panama strain. This modification resulted in a decrease of the number of ORS cases. Hence, it was concluded at that time that there might have been a link between presence of unsplit split virion particles and the increased rate of ORS.

Table 1 presents results of fragmentation assessment from the referred production seasons as well as the previous and the following seasons

CONFIDENTIAL

Table 1 Fragmentation Assessment by TEM – Fluviral Monovalent (1999 to 2002)

Year	Strains	% of Fragmented Virions	% of Non-Fragmented Virions
Year 1999-2000 (Pre-ORS Season)	A/Beijing/262/95	95	5
	A/Sydney/5/97	99	1
	B/Yamanashi/166/98	98	2
Year 2000-2001 (ORS Season)	A/Panama/2007/99	78	21
	A/New Caledonia/20/99	97	3
	B/Yamanashi/166/98	98	2
Year 2001-2002 (with Revised Splitting Process)	A/Panama 2007/99	99.7	0.3
	A/New Caledonia/20/99	98.4	1.6
	B/Victoria/504/2000	99.4	0.6

The revised splitting process consisted of an increased dilution of the monovalent (from 8L to 17L) before splitting, and an increased DOC content, from 0.3% to 0.5% for all strains. In addition, for the A/Panama strain exclusively, a second splitting treatment with Triton X-100 at 0.3% was added to ensure a greater level of assurance of disruption efficiency while the investigation was still ongoing. This additional step of Triton treatment for the A/Panama strain was later removed from the manufacturing process for the Panama strain, as it was no longer necessary, as confirmed by testing of each monovalent by electron microscopy.

Fragmentation assessment by TEM was also introduced as QC release test for all drug substance monobulks. A minimum of 95% of fragmented virions was established as a specification for this test in order to indicate the effectiveness of the splitting process.

The revised splitting process has been in use since then and since then over 1200 monovalent bulk batches of 10 different strains have been produced and used for the manufacture of Fluviral/FluLaval lots. All batches were tested and were found to be over 95% fragmentation, irrespective of the strain, demonstrating the robustness of the revised process.

In the case of Arepanrix H1N1, the effectiveness of the process to fragment the virions was clearly demonstrated during the production of consistency batches. Table 2 shows fragmentation assessment by TEM for three batches representative of the commercial scale.

Table 2 Fragmentation Assessment by TEM – Arepanrix H1N1 (2009)

Batch Number	% of Fragmented Virions	% of Non-Fragmented Virions
1M9091CL	99.2	0.8
1M9092CL	99.6	0.4
1M9093CL	>99.9	<0.1

All three batches met the specification for the fragmentation confirming the efficacy and consistency of the splitting step.

In conclusion, the production process of Arepanrix H1N1 has demonstrated to consistently produce an adequately fragmented drug substance. Therefore, the presence of aggregates observed in final containers of Arepanrix H1N1 has no connection with the presence of unsplit virions.

Hence, given that white aggregates have been observed in Fluviral/FluLaval lots after implementation of the revised splitting method, for which no specific increased rate of ORS was observed and given that H1N1 monovalent bulk batches have been shown to be properly fragmented, the presence of the aggregates in H1N1 antigen vials is likely to have no impact on the ORS incidence rate.

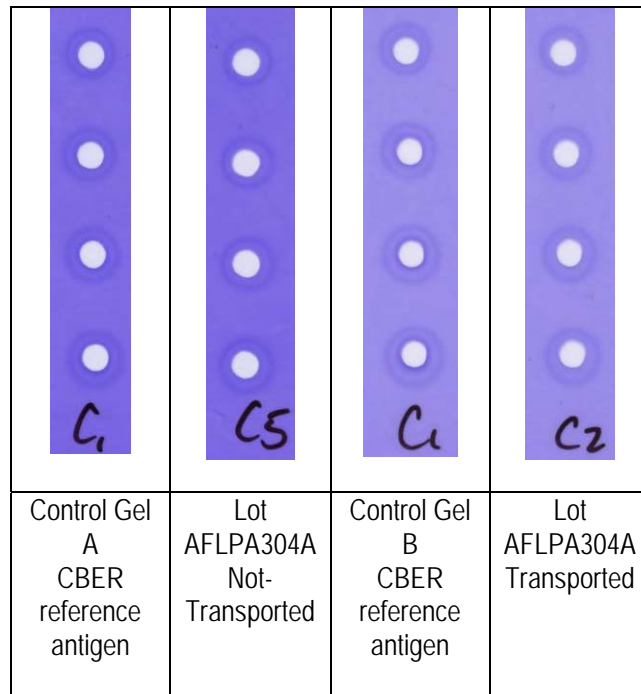
Question 5

Q-Pan Antigen Drug Product - EMEA/H/C/1201/aggregate report

The MAH should provide photographic pictures of the SRD gel for the aggregated and non-aggregated samples. The possibility of aggregates not being able to diffuse through the SRD matrix should be excluded.

Photographic pictures of SRD gels are provided in Figure 1. The figure shows rings from the four dilutions (higher to lower dilution from top to bottom) tested for HA content in each sample. Lot AFLPA304A, where aggregates were observed in both transported and not-transported samples, is presented. The Reference antigen (lot 69) provided by the Centre for Biologics Evaluation and Research (CBER) is presented as a control for non-aggregated material.

Figure 1 Pictures of SRD gels from aggregated and non-aggregated samples



The analysis of the images of SRD gels shows that there is no evident difference in the appearance of the rings generated with both aggregated and non-aggregated material.

Question 8

Q-Pan Antigen Drug Product - EMEA/H/C/1201/aggregate report

It could be foreseen that product towards the end of its shelf-life might contain more aggregates than that seen so far with product transported to and from Rixensart. This might have a more significant effect for this multidose product (e.g. failure of uniformity of content for mixed product for each vaccine dose or change in antigen-adjuvant interaction). This should be fully discussed with supporting evidence.

The company is currently evaluating the feasibility of the implementation of a physicochemical method to monitor the presence of aggregation. This assay would allow to assess the quality of the product towards the end of its shelf-life. The definition of a specification at release and during stability studies is also considered in the scope of this project. The target for completion of these activities would be by end of December 2009.

With respect to the effect of the presence of aggregates in this multidose presentation, GSK has conducted a dose uniformity study with a Arepanrix H1N1 vaccine lot that contains aggregates. The experimental design of this study was similar to the dose uniformity study reported in m3.2.P.2. Pharmaceutical Development (AS03-adjuvanted Quebec H1N1 influenza vaccine).

Clinical lot of antigen DFPLA304A and AS03 adjuvant lot number AA03A209C were used in this study. Using a syringe, the entire content of the AS03 adjuvant vial was removed and injected into the antigen vial to produce approximately 6 ml of final vaccine (approximately 7.5 µg HA/ml). The reconstituted vaccine was then hand shaken briefly. Ten 0.5 ml doses were then withdrawn using a syringe and the HA content was determined in each dose. The same operator conducted all the tests.

The following acceptance criterion was applied following guidance from the Ph. Eur monograph 2.9.40 - Uniformity of dosage units. The requirements for dosage uniformity are met if the acceptance value of the first 10 dosage units is less than or equal to 15.

Calculation of acceptance value (AV) is done using the following formula as described in the Ph. Eur:

$$AV = | M - X | + ks$$

Where :

M = Reference value (case 2 where $T > 101.5$, $M = X$)

X = Mean of individual contents of the dosage units, expressed as a percentage of the label claim

k = Acceptability constant (for $n = 10$ dosage units, $k = 2.4$)

s = Sample standard deviation

The results presented in Table 1 show that the content in each dose is close to the content claimed on the label (4.3(g/dose vs. 3.75(g/dose). The relative standard deviation across doses was 2.12%.

CONFIDENTIAL

Uniformity of dosage units acceptance value (AV) was 0.2 and therefore the criterion of the test (less than or equal to 15) has been met, and uniformity of dosage has been demonstrated.

This confirms that the presence of aggregates has no effect on the uniformity of content in the Arepanrix H1N1 multidose presentation.

CONFIDENTIAL

Table 1 Uniformity of dose of H1N1 adjuvanted vaccine following extemporaneously mixing

Test performed	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4	Dose 5	Dose 6	Dose 7	Dose 8	Dose 9	Dose 10	Mean (n=10)	SD	RS D	AV (15)
HA content ($\mu\text{g/mL}$)	8.6	8.4	8.6	8.9	8.4	8.6	8.4	8.6	8.9	8.6	8.6	0.18	2.09	N/Ap
HA content (μg)*	4.3	4.2	4.3	4.45	4.2	4.3	4.2	4.3	4.45	4.3	4.3	0.09	2.12	0.2

* Results expressed as content per delivered dose

Question 9

Q-Pan Antigen Drug Product - EMEA/H/C/1201/aggregate report

The possibility of microbial (or other) contamination should be excluded for the H1N1v samples.

Microbial (or other contamination) was excluded during the investigation on the presence of aggregates in Arepanrix H1N1 antigen final container:

- The final step in the drug substance purification process is a sterile filtration. Filters are integrity tested. All batches of Quebec H1N1 drug substance are tested for sterility per Ph. Eur. 2.6.1. No growth was observed in any of the 199 H1N1 drug substance batches produced from July to October 2009.
- Quebec H1N1 drug product final bulks are formulated and filled under a Class A environment. All lots of Quebec H1N1 drug product final bulk and final container are tested for sterility per Ph. Eur. 2.6.1. No growth was observed in any of the 59 H1N1 drug product lots produced from September to October 2009.

A comprehensively analysis of total protein, HA content and SDS-PAGE gels was presented in Questions 6. This study demonstrates that the white aggregates that have been observed in clinical and commercial lots of A/California/7/2009 adjuvanted H1N1 antigen formulation are constituted of the same components as those found in the antigen suspension (hemagglutinin and proteins).

Question 11

Q-Pan Antigen Drug Product - EMEA/H/C/1201/aggregate report

In what proportion of batches of Arepanrix have aggregates been observed?

In the affected batches what proportion of vials contain aggregates?

Presence of white aggregates has been observed in all clinical and commercial lots of A/California/7/2009 antigen vials of Arepanrix H1N1.

Arepanrix H1N1, likewise *Fluviral* seasonal influenza vaccine, is a suspension that is known to contain aggregates that may sediment. The extent of aggregation or sedimentation may vary, from lot to lot and from strain to strain. This feature is inherent to the nature of the vaccine, which is a suspension of split, inactivated virus particles and proteins.

Cycle RR#7.4 - Major Objection

Question 1

The presence of aggregates containing up to 30% of the protein and 50% of HA is a serious quality observation which may impact the safety and efficacy of the vaccine. The company should address this satisfactorily before a positive opinion can be given. (Arises from Q6 & Q7 RR#7.4)

- **The Applicant should address this satisfactorily before a positive opinion can be given. It should be clear that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts (in the mixed solution administered to the patient) as the commercial lots. It has been demonstrated that transporting does not contribute to aggregation, but it is likely that aggregation increases over time. Therefore, the level of aggregation at the time of clinical studies would have been lower than currently found in the same clinical batches.**
- **The issue can be resolved by demonstrating that aggregates re-dissolve upon mixing with the adjuvant as previously suggested. Alternatively, it could be demonstrated that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts (in the mixed solution administered to the patient). In the latter kinetics of aggregates formation should be taken into account: aggregate formation may be rapid making it likely aggregates had formed in clinical batches at time of administration. On the other hand, if aggregate formation is slow the clinical material was not aggregated. Also, variability between vials and batches should be taken into account.**

Clinical batches were used in clinical trials approximately between 30 days to 60 days after their manufacturing. The kinetics of aggregate formation in the H1N1 antigen alone or in combination with the AS03 adjuvant were studied using H1N1 antigen lots of different ages spanning that period. This study indicated that the H1N1 antigen aggregate profile is not significantly affected between 22 and 61 days after manufacturing; although a potential trend for a limited increase in the aggregation profile over time could not be excluded. In contrast, when mixed with the adjuvant, no impact on the antigen content as measured by SRD was observed over time. These data suggests that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts, both in the antigen alone and in the mixed solution administered to the patient. Details regarding the kinetics experiments are provided hereafter.

1. KINETICS OF AGGREGATES FORMATION

1.1. Principle

Given that kinetics experiments starting from fresh lots would take too much time prior having the results, the kinetics of aggregates formation was studied using H1N1 antigen lots of different ages spanning the 22 to 61 days period, within which the clinical material was administered (30-60 days). The aggregation profiles of these lots at different ages were studied through a number of methods as summarized in the Table 1.

Results were plotted as a function of the age of each lot to evaluate the evolution of the aggregation over time.

Table 1 Analyses and method

Materials	Analyses	Method
H1N1 antigen	Particle size and polydispersity profiles	██████████ instrument
	Percentage of total protein content in aggregates	H1N1 samples were centrifuged and the supernatant fractions were collected. The supernatant fractions as well as the samples prior to centrifugation were tested for total protein (by Lowry) and HA content (by HPLC). The difference between the total protein or HA contents found in the whole suspension before centrifugation and the values observed in the supernatant fractions correspond to the amount of materials present in the aggregates. The quantity of total protein or HA in the aggregate is expressed as a percentage relative to the quantity of total protein or HA present in the whole suspension before centrifugation
	Percentage of HA content in aggregates	
AS03-adjuvanted H1N1 vaccine	HA content in the mixed vaccine	Standard SRD method

1.2. Materials and Method

1.2.1. Materials

Three commercial lots (AFLPA323B, AFLPA324BA and AFLPA328AA) and the clinical lot DFLPA304A were used. Some vials of these lots were subjected to transportation. Hence some commercial lot vials were transported by truck during 20 hours; vials of the clinical lot were shipped by plane from GSK Ste-Foy (Canada) manufacturing site to GSK Belgium and back to Canada. The manufacturing dates for these lots were as follows: 30 Sep 09 (AFLPA323B), 02 Oct 09 (AFLPA324BA) and 04 Oct 09 (AFLPA328AA) and 13 Sep 09 (DFLPA304A). Lot ages were calculated from the manufacturing date to the testing date.

1.2.2. Methods

The protein content was determined using the standard Lowry method. The HA content determination in AS03-adjuvanted H1N1 vaccine is described in details in m3.2.P.3.5. Pharmaceutical Development (AS03-Adjuvanted Quebec H1N1 Influenza Vaccine) of the initial file. All other methods are briefly described below.

1.2.2.1. HA content by HPLC

This analytical method determines the hemagglutinin content based on the measurement of the HA1 subunit after separation of the proteins in a mixture by hydrophobic interaction chromatography. The quantification is obtained by comparing the area of the HA1 subunit peak at 214nm in the samples against the area generated with a reference antigen preparation.

Zorbax Poroshell 300SB-C3 Narrow-Bore column, 75 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å; and Zorbax 300SB-C3 Narrow-Bore Guard Column, 12.5 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å are used as stationary phase. Samples are pre-treated with Dithiotreitol (DTT) and boiled for 15 minutes at 95°C prior to being analysed. A linear gradient from 23% to 95% acetonitrile, 0.1% trifluoroacetic acid w/v is the mobile phase used for the elution.

1.2.2.2. Particle Size with [REDACTED] Instrument

[REDACTED] Instruments' Zetasizer uses light scattering techniques to measure hydrodynamic size of proteins and nanoparticles. This technique is based on the principle that the intensity of light scattered is proportional to the sixth power of the diameter ($I \propto d^6$) for small molecules and particles.

The instrument offers an analytical range from approximately 0.6 to 6000 nm. It does not take into account particles larger than 6000 nm.

1.2.2.3. Pellet and Supernatant Preparation

For each lot, the volume of 4 vials was pooled in a 50 ml Falcon and mixed to ensure homogeneity. Samples were collected for analysis of the whole suspension by Lowry or by HPLC. From the pooled material, 9 ml were centrifuged (6 x 1.5 ml in eppendorf tubes) at 13 000 rpm (16,060 g) for 30 min. From each eppendorf tube, 1.4 ml of supernatant was collected and transferred to a fresh tube. Samples of the supernatant fraction were collected for analysis by Lowry or HPLC.

The speed of the centrifuge was selected with the aim to separate all potential aggregates in suspension, whether visible or sub-visible, from the soluble fraction of the H1N1 antigen drug product. This speed is not believed to be fast enough to allow pelleting soluble proteins (which require ultracentrifugation forces).

CONFIDENTIAL

1.3. Results

1.3.1. Evolution of the Aggregation Profiles of the H1N1 Antigen over Time

Results of the particle size and polydispersity analyses as well as the determination of percentage of the total protein and total HA content in aggregates are presented in Table 2. These parameters were plotted as a function of the time and are presented in Figure 1 (Particle size), Figure 2 (Polydispersity Index), Figure 3 (Total proteins in aggregates) and Figure 4 (Total HA content in aggregates).

Table 2 Particle size, Polydispersity Index, Total Proteins and Total HA in Aggregates as a Function of Time

Lot Number	Lot Age (days)	Particle Size	Polydispersity Index	Total Proteins in Aggregates (%) ¹	Total HA in Aggregates (%) ¹
AFLPA328AA	22	133	0.1483	31.4	48.5
AFLPA328AA (T)	22	142	0.2265	25.9	47.9
AFLPA324AB	24	136	0.2094	27.7	43.1
AFLPA324AB (T)	24	139	0.1948	28.9	46.8
AFLPA323B	27	135	0.1736	26.3	51.1
AFLPA323B (T)	27	136	0.1583	29.3	49.6
DFLPA304A	31	203 ²	0.2660	ND	ND
DFLPA304A (T)	31	155	0.2900	ND	ND
AFLPA328AA	39	137	0.2289	17.6	48.4
AFLPA324AB	41	135	0.2197	32.6	48.6
AFLPA323B	44	163	0.2657	26.4	49.4
DFLPA304A	61	150	0.2401	18.9	58.2

Note:

(T) identifies vials that were transported

1. The total proteins or HA in aggregates is expressed as a percentage relative to the total amount of proteins or HA found in the whole suspension prior to centrifugation
2. Outlier value. No explanation to date for this value

Figure 1 Average Particle Size over Time

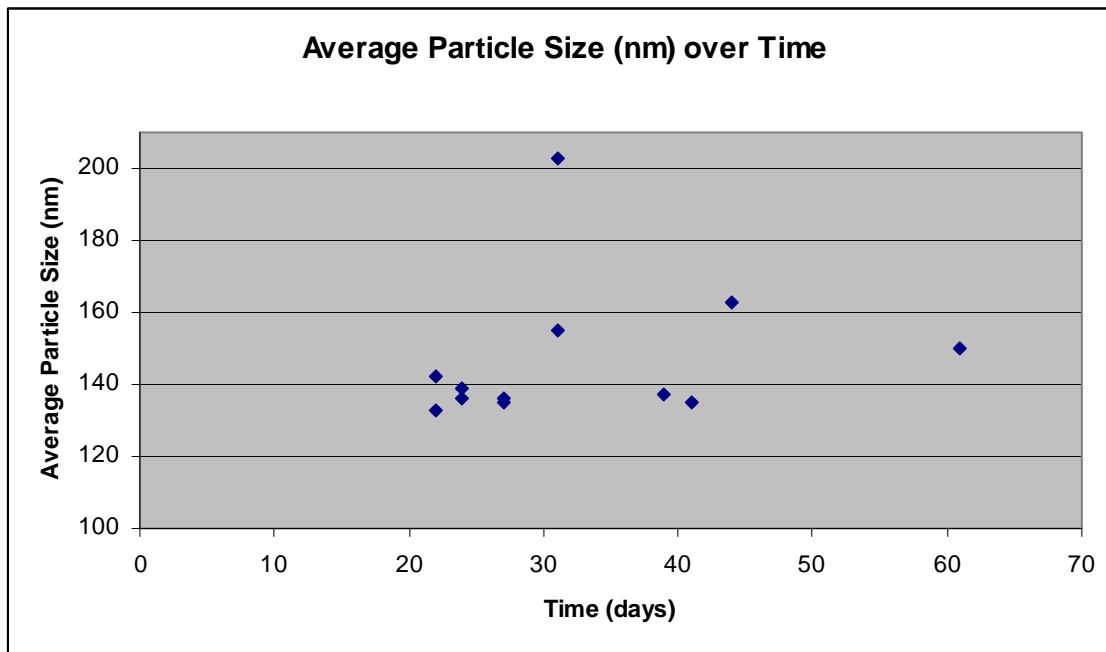


Figure 2 Polydispersity Index over Time

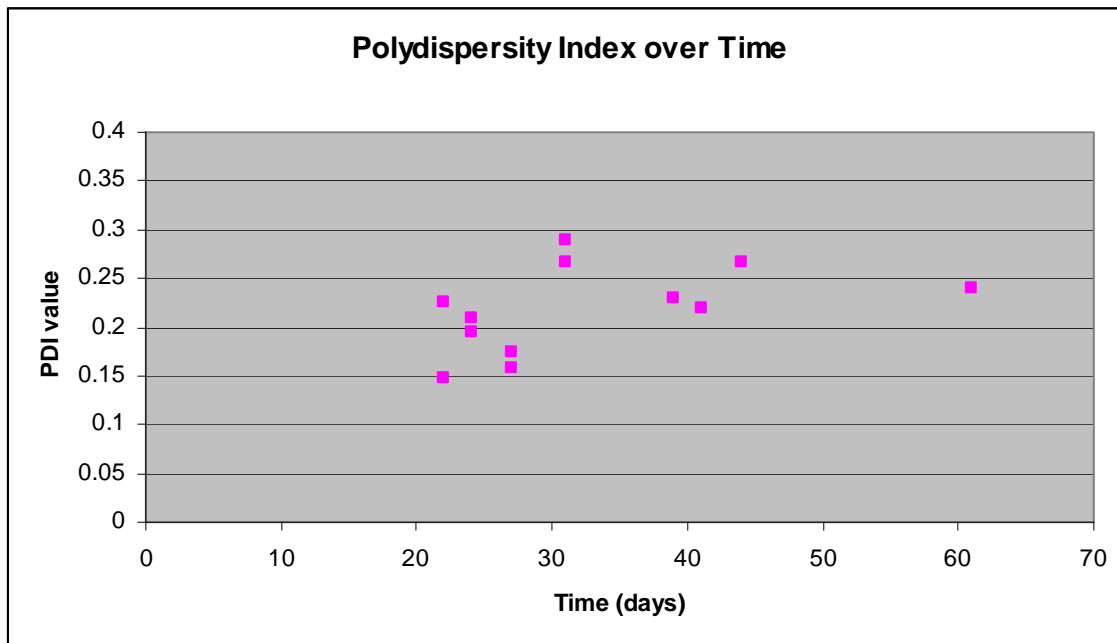


Figure 3 Percentage of Total Protein Content in Aggregates over Time

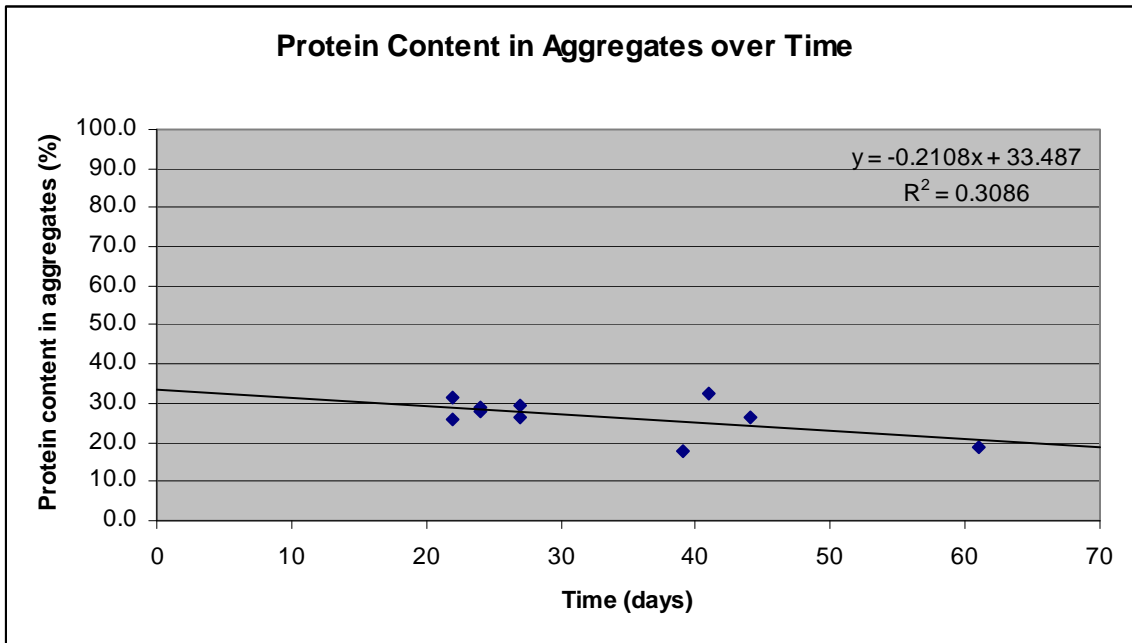
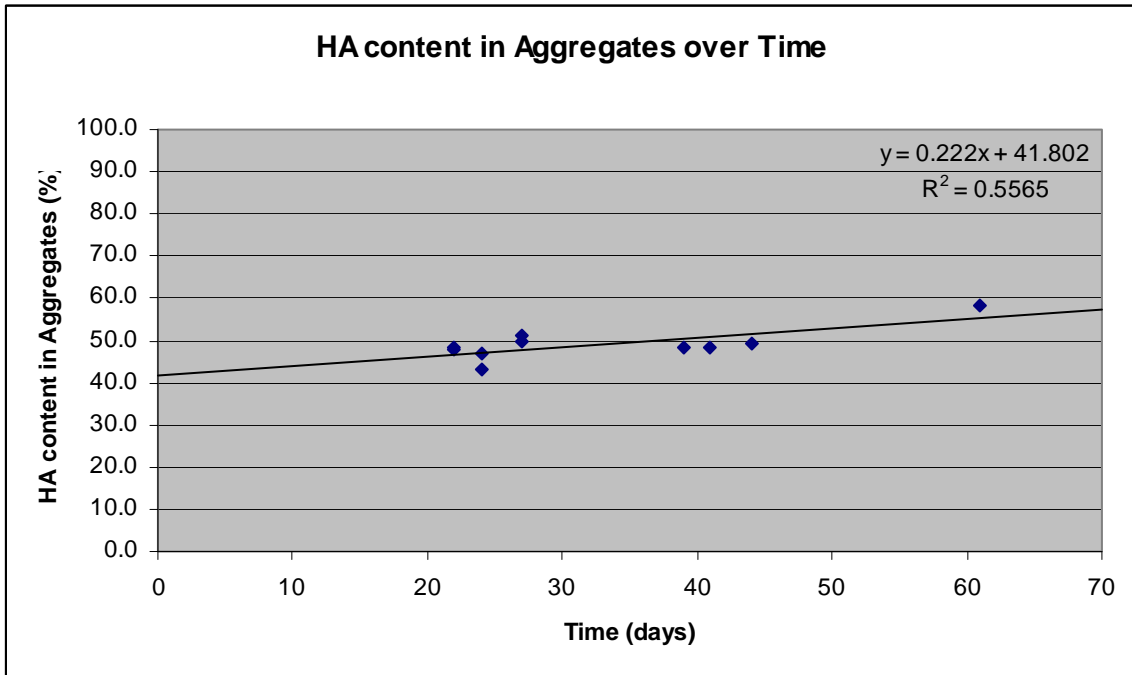


Figure 4 Percentage of Total HA Content in Aggregates over Time



CONFIDENTIAL

1.3.2. Evolution of the AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine Potency over Time

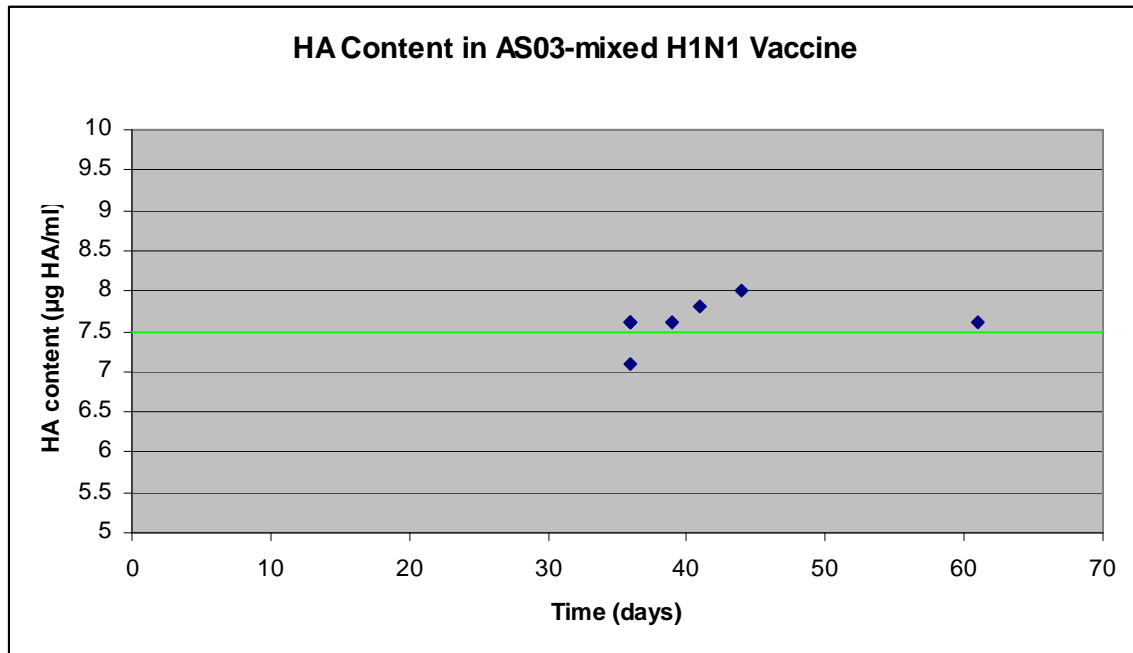
The evolution of the HA content of AS03-adjuvanted H1N1 vaccine lots over time is presented in Table 3 and is plotted in Figure 5.

Table 3 HA content by SRD in AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine as a Function of Time

Antigen Lot Number	Lot Age (days)	HA content by SRD ($\mu\text{g HA/ml}$)
DFLPA304A	36	7.6
DFLPA304A (24h)	36	7.1
DFLPA304A (T)	36	7.6
DFLPA304A (T) (24H)	36	7.6
AFLPA328AA	39	7.6
AFLPA324AB	41	7.8
AFLPA323B	44	8.0
DFLPA304A	61	7.6

Note: (T) identifies vials that were transported; (24H) identifies vials that were tested after 24 hours storage at 25°C after reconstitution.

Figure 5 HA content by SRD in AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine as a Function of Time



1.4. Discussion and Conclusions

The impact of time on the H1N1 antigen alone or in combination with the AS03-adjuvant was evaluated using a number of analytical tools.

Aggregation profile of the H1N1 antigen over time.

With respect to particle size and polydispersity index, the values observed over time were relatively broadly distributed. The particle size and polydispersity index were generally in the 130-150 nm range and 0.15-0.20 range, similar to *FluLaval/Fluviral* seasonal vaccine historical values (152.1±14.9nm, PDI of 0.18) and to the Arepanrix H5N1 values (136±15nm, PDI of 0.15). No clear modification of the particle size and polydispersity profiles were observed over time

Some limited effects were observed when looking at the evolution of the total proteins and total HA content present in the aggregates over time. The percentage of total protein in the aggregates tended to decrease over time at a rate of 0.21% per day whereas the percentage of HA content in the aggregates tended to increase over time at a rate of 0.22 % per day. These modifications would potentially correspond in the aggregates to a decrease of the total protein content of maximum 6.4% and to an increase of the HA content of maximum 6.6% between day 30 and day 60, i.e. the time at which clinical lots were used in the clinical trials.

With respect to clinical trials, the limited extent of the HA content increase of the aggregates, whether real or simply related to product and/or testing variability, is in any cases well within the variability of the assays used to monitor subject immune responses and are likely to have limited impact, if any, on the clinical trials outcome.

Evolution of the adjuvanted H1N1 vaccine potency over time

Table shows that there is no modification of the expected HA content of the adjuvanted H1N1 vaccine over the 61 days time course of the experiment. Values were ranging from 7.1 to 8.0 µg HA/ml i.e. around the target value of 7.5 µg HA/ml.

This observation clearly demonstrates that the presence of aggregates in the H1N1 antigen has had no impact on the potency of the adjuvanted vaccine over the course of the clinical trials.

Conclusions

This study indicated that the H1N1 antigen aggregate profile is not significantly affected between 22 and 61 days after manufacturing; although a potential trend for a limited increase in the aggregation profile over time could not be excluded. In contrast, when mixed with the adjuvant, no impact on the antigen content as measured by SRD was observed over time. These data suggests that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts, both in the antigen alone and in the mixed solution administered to the patient.

CONFIDENTIAL



**AS03-adjuvanted Quebec H1N1 Pandemic Vaccine
(Arepanrix H1N1)**

Status Aggregate Investigations

The contents of this document are **CONFIDENTIAL** and the **PROPRIETARY PROPERTY** of GlaxoSmithKline Biologicals.

Copying, disclosure or use of this documentation or any part thereof is prohibited without the written consent of GlaxoSmithKline Biologicals.

Date: 07 December 2009

1. EXECUTIVE SUMMARY

Several technical investigations have been carried out regarding the endogeneous protein aggregates observed in the A/California/7/2009 H1N1 antigen vials used with the Arepanrix H1N1 vaccine. Details can be found in the two reports provided in annex to this document. The present document summarizes the current results and conclusions.

Two main conclusions can be made from the current technical data available:

1. The level of Hemagglutinin (HA) content observed in the aggregates appears to be constant across the H1N1 antigen lots tested to date as demonstrated by two different techniques (around 25-30 % by filtration and around 45-50% by centrifugation). Independent of the technique used, the level does not appear to be impacted by transportation (by truck and by air), to vary over time (up to 74 days) and to be influenced by the lot manufacturing history (e.g. manufacturing in different filling sites).
2. Addition of the AS03 adjuvant reduces the level of HA present in the aggregate. When filtering (0.22 μm) AS03-adjuvanted H1N1 vaccine lots, more than 90 % of the Hemagglutinin is recovered in the vaccine filtrate, demonstrating that only a limited fraction of the antigen is present under aggregated form in the adjuvanted vaccine.

These data show that the presence of aggregates in the H1N1 antigen has limited impact, if any, on the potency of the Arepanrix vaccine lots, given the high HA content recovery upon mixing of the antigen with the AS03 adjuvant.

This conclusion is further supported by the preliminary results from the Q-Pan H1N1-001 clinical trial, which showed in adults that the AS03-adjuvanted H1N1 vaccine largely meet the 3 CHMP criteria for immunogenicity after one administration of either 3.75 μg HA (the targeted formulation) or 1.9 μg HA antigen dose.

Based on the above technical data which demonstrate that the aggregates have limited impact on the adjuvanted vaccine potency and given the preliminary clinical results in adults that shows that the AS03-adjuvanted H1N1 vaccine is immunogenic, even at half the targeted antigen dose, the Company is confident that the presence of aggregates in the H1N1 antigen has no impact on the consistency and immunogenicity of the Arepanrix vaccine.

Summary results for the technical investigations and for study Q-Pan H1N1-001 are presented in section 2 and section 3 respectively

2. SUMMARY TECHNICAL INVESTIGATIONS ON H1N1 AGGREGATE LEVEL

Several investigations were conducted regarding the level of aggregates in the H1N1 vaccine. These were carried out either at the level of the H1N1 antigen alone or on the actual vaccine after mixing of the H1N1 antigen with the AS03 adjuvant. The results can be summarized as follow.

The level of aggregates in H1N1 antigen lots or in the AS03-adjuvanted vaccine lots was studied using two different techniques, both based on the same principle: removing the aggregate from the antigen first, then quantifying the residual HA or total protein content before and after treatment, thus allowing determination of the aggregate content by calculation:

1. Centrifugation (16,060 g for 30 minutes). The HA content by HPLC and the total protein content by Lowry were determined in the sample supernatant and before centrifugation. This technique aimed at separating as much as possible all aggregates, irrespective of their size
2. Filtration on 0.22 μ filter. The HA content by SRD was determined before and after filtration. This technique aimed at separating aggregates above the filter cut-off.

Different types of lots were tested: either transported or not, at different ages and having different manufacturing history (e.g. filling conducted GSK-Ste-Foy, Canada or at DSM-Greenville, USA).

Details about the investigations can be found in the two documents entitled “*Factors Impacting the Aggregates in the H1N1 Antigen Lots and in the Adjuvanted H1N1 Vaccine Lots, December 7, 2009*” and “*Kinetics of Aggregate Formation*” provided in annex to this briefing document.

A brief overview of GSK current plans regarding monitoring of aggregates is presented at the end of this section.

Investigations on the H1N1 antigen alone

The investigations regarding H1N1 antigen alone showed that the level of HA or total protein in the aggregate is constant across lots:

- Centrifugation experiments conducted on 3 antigen lots showed that the aggregates consistently contain ~ 30% of the total proteins and ~ 45-50% of the HA overall content. These levels were not modified upon transportation (~20 hours truck transportation) and were not significantly affected over time (lots were tested at various ages, ranging from 21 to 61 days).
- Filtration experiments conducted on 3 antigen lots showed that the aggregates consistently contain ~ 25-30% of the HA overall content. These levels were not affected by transportation (~10-15 hours truck transportation) and they were not significantly affected over time (lots were tested at various ages, ranging from 27 to

CONFIDENTIAL

74 days). The levels were also the same despite different filling sites were used for their filling (GSK-Ste-Foy, Canada and DSM-Greenville, USA).

Larger amounts of HA were observed using the centrifugation method vs. the filtration method. This is likely due to the fact that the centrifugation method is aimed at collecting as much as possible aggregates irrespective of their particle sizes, whereas the filtration method only separate aggregates above the cut-off of the filter.

Although the two method yields to different numbers in terms of HA content in the H1N1 antigen lots, both methods consistently show that the same level is observed in all the lot tested in the same series, supporting the consistency of the antigen quality. In addition, both methods show that the HA content level appears to be the same, irrespective whether the lots were transported or not (~20 hours truck transportation), of their age (lots were tested up to 74 days of age) and irrespective of their manufacturing history (Lots from 2 different filling sites were tested).

All these elements indicate that the manufacturing of the H1N1 antigen lots yields to products of consistent quality, for which the level of aggregates does not significantly change over a period of at least 74 days.

Investigations on the AS03-adjuvanted vaccine

The investigations on the AS03-adjuvanted vaccine showed that mixing of the AS03 adjuvant with the H1N1 antigen result in a large reduction of the level of aggregation in the adjuvanted vaccine.

Three adjuvanted vaccine lots were filtered on 0.22µm filter to remove potential aggregated materials. Upon testing by SRD, more than 90 % of the initial HA content was consistently recovered in the filtrate. The same level was observed for transported materials (~10-15 hours truck or air transportation), for materials aged from 27 to 74 days and irrespective of the filling sites used for the antigen manufacture (GSK-Ste-Foy, Canada and DSM-Greenville, USA).

The uniformity of dosage was demonstrated for two lots of adjuvanted vaccine, manufactured with H1N1 antigen lot that have been transported (by truck or by air). Ten 0.5 ml dose have been withdrawn, all with the expected similar HA content (by SRD). This observation further provides indirect evidence that the level of aggregates in the mixed vaccine is indeed reduced.

At this stage of the investigation, it can only be hypothesized that the reduction of aggregates in the adjuvanted vaccine is the result from either aggregate dissolution or aggregate size reduction below the filter cut-off. More investigations will be needed to further understand the actual mechanism.

Overall conclusion

Overall, the experiments conducted on adjuvanted vaccine lots where aggregates have been removed by filtration, shows that the presence of aggregate in the H1N1 antigen lots

CONFIDENTIAL

has limited impact, if any on the adjuvanted vaccine potency given the high HA content recovery consistently observed in all lot tested upon mixing with the AS03 adjuvant.

3. SUMMARY IMMUNOGENICITY RESULTS OF Q-PAN H1N1-001 STUDY

The Company has available preliminary immunogenicity results post-dose 1 from Q-Pan-001 study and believes it is of importance to share these with EMEA.

Study Q-Pan H1N1-001 is a phase I/II, observer-blind, randomized, multi-centre dose ranging trial to evaluate the safety and immunogenicity of a two-dose series of monovalent A/California/7/2009 (H1N1)v-like vaccine manufactured in Québec, Canada administered with and without AS03 adjuvant in adults aged 18 years and older. The study design is shown below in Figure 1.

Figure 1 Q-Pan H1N1-001 study design

Group	Dose 1 (Day 0)	Dose 2 (Day 21)	Subjects
A	A/Calif 3.75 µg + AS03 _A	A/Calif 3.75 µg + AS03 _A	210
B1	A/Calif 1.9 µg + AS03 _B	A/Calif 1.9 µg + AS03 _B	105
B2	A/Calif 1.9 µg + AS03 _B	Saline placebo	105
C	A/Calif 3.75 µg + AS03 _A	Saline placebo	210
D	A/Calif 15 µg	Saline placebo	210
E1	A/Calif 7.5 µg	A/Calif 7.5 µg	105
E2	A/Calif 7.5 µg	Saline placebo	105
F	A/Calif 3.75 µg	A/Calif 3.75 µg	210
		Total	1,260

This study was designed to evaluate adjuvanted and non-adjuvanted dosing regimens in adults ≥18 years old, and was randomized according to a 2:1:1:6 ratio for the following age strata: 18-40, 41-51, 52-64, ≥65 yrs. Primary objective was to show attainment of CBER criteria for group A at Day 21 and Day 42. The study is being conducted in Canada and the US.

Preliminary immunogenicity data are available in 299 subjects of a total of 1340 enrolled.

Groups were pooled for immunogenicity analysis as follows:

Group	Dose 1 (Day 0)	18-60	>60	Subjects
A + C	A/Calif 3.75 µg + AS03A	38	64	102
B1 + B2	A/Calif 1.9 µg + AS03B	13	36	49
D	A/Calif 15 µg	18	31	49
E1 + E2	A/Calif 7.5 µg	20	29	49
F	A/Calif 3.75 µg	22	28	50
	Total	111	188	299

CONFIDENTIAL

The results are shown in the tables below. Table 1 shows the immune response in adults 18-60 years old and Table 2 shows the immune response in adults > 60 years old.

The immune response observed after administration of 3.75 microgram HA/AS03B was in line with the preliminary results obtained in study D-Pan H1N1-017 (Q-Pan arm results), and in line with data obtained so far with D-Pan H1N1 vaccine.

Interestingly, after one dose of 1.9 μ HA/AS03_B the immune response remained high and the 3 CHMP criteria were widely exceeded. In adults 18-60 years old a SCR of 97.4 %, a SPR of 97.4 % and a SCF of 40.2 was observed. In adults > 60 years of age receiving the full-dose Arepanrix vaccine, SCR, SPR and SCF raised up to 73.4%, 92.2% and 8.3, respectively, well exceeding the CHMP criteria set for elderly subjects, but also those set for young adults. Of note, the half-dose vaccine, when administered to subjects aged >60 years, also elicited an immune response that exceeded the CHMP criteria set for both age strata.

A similar observation can be made with the plain antigen formulation. Reducing the antigen content from 15 μ g to 7.5 μ g still leads to the induction of a high immune response in subjects aged 18-60 years, with attainment of the 3 CHMP criteria. In the older age group, however, a trend to a decrease in the immune response is observed when halving the antigen dose of the plain formulation, and the seroprotection rate criterion is not attained. These results should however be interpreted taking into account the small sample size from which results are available to date.

The Company believes that these results are of importance in the context of the discussion on the potential impact of aggregates on the immunogenicity of the vaccine. One of the points of discussion has been whether presence of aggregates could result in heterogeneity of HA content per dose (taken from the 10 dose vial of mixed vaccine). The preliminary data presented and discussed earlier in this document indicate that aggregates are solubilised following mixture with the emulsion, and therefore the concern of heterogeneity would be lifted. Still, until further confirmed, the immunogenicity data obtained in Q-Pan H1N1-001 are reassuring, as they indicate that even if a subject would receive a lower quantity of HA due to presence of aggregates this will not negatively impact their capacity to build an adequate immune response.

Of note, safety results obtained at Day 7 showed that reactogenicity profile was similar to previously observed reactogenicity profiles of D-Pan H1N1, Q-Pan H5N1 and D-Pan H5N1 vaccines.

CONFIDENTIAL

Table 1 Study Q-Pan-001: preliminary immunogenicity results (subjects 18-60 years old)

	3.75µg +AS03 _A n=38	1.9µg + AS03 _B n=13	15 µg plain n=18	7.5 µg plain n=20	3.75 µg plain n=22
GMTs (95% CI)	509.7 (308.3-842.7)	375.4 (167.4-841.9)	235.3 (141.4-391.7)	298.6 (187.7-475.0)	99.6 (40.8-243.6)
SCR (95% CI)	97.4% (84.3-100.0)	92.3% (59.9-99.9)	94.4% (69.4-99.9)	95.0% (72.1-99.9)	59.1% (33.6-81.4)
SPR (95% CI)	97.4% (84.3-100)	100% (71.4-100)	100% (78.4-100)	100% (80.3-100)	68.2% (42.2-87.9)
SCF (95% CI)	40.2 (23.0-70.4)	25.9 (7.8-86.2)	20.2 (11.3-36.2)	27.9 (13.1-59.2)	11.3 (4.9-26.0)

Table 2 Study Q-Pan-001: preliminary immunogenicity results (subjects >60 years old)

	3.75µg +AS03 _A n=64	1.9µg + AS03 _B n=36	15 µg plain n=31	7.5 µg plain n=29	3.75 µg plain n=28
GMTs (95% CI)	142 (106.2-190.0)	110.8 (68.0-180.5)	113.1 (60.2-212.5)	45.1 (24.3-83.5)	39.4 (18.3-84.7)
SCR (95% CI)	73.4% (59.2-84.9)	75.0% (55.4-89.2)	59.4% (38.3-78.2)	37.9% (18.8-60.3)	25% (9.3-47.6)
SPR (95% CI)	92.2% (81.2-97.8)	83.3% (64.9-94.5)	78.1% (57.5-91.9)	55.2% (33.3-75.7)	42.9% (22.4-65.3)
SCF (95% CI)	8.3 (5.9-11.7)	11.2 (6.3-20.0)	9.4 (5.3-16.7)	4.0 (2.3-6.8)	3.0 (1.8-5.2)

CONFIDENTIAL



**AS03-adjuvanted Quebec H1N1 Pandemic Vaccine
(Arepanrix H1N1)**

Kinetics of Aggregates Formation

The contents of this document are **CONFIDENTIAL** and the **PROPRIETARY PROPERTY** of GlaxoSmithKline Biologicals.

Copying, disclosure or use of this documentation or any part thereof is prohibited without the written consent of GlaxoSmithKline Biologicals.

Date: 20 November 2009

CONFIDENTIAL

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
1. INTRODUCTION.....	3
2. KINETICS OF AGGREGATES FORMATION.....	4
2.1. Principle.....	4
2.2. Materials and Method.....	4
2.2.1. Materials	4
2.2.2. Methods	5
2.2.2.1. HA content by HPLC	5
2.2.2.2. Particle Size with [REDACTED] Instrument	5
2.2.2.3. Pellet and Supernatant Preparation	5
2.3. Results	6
2.3.1. Evolution of the Aggregation Profiles of the H1N1 Antigen over Time	6
2.3.2. Evolution of the AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine Potency over Time	9
2.4. Discussion and Conclusions	10

1. INTRODUCTION

Clinical batches were used in clinical trials approximately between 30 days to 60 days after their manufacturing. The kinetics of aggregate formation in the H1N1 antigen alone or in combination with the AS03 adjuvant were studied using H1N1 antigen lots of different ages spanning that period. This study indicated that the H1N1 antigen aggregate profile is not significantly affected between 22 and 61 days after manufacturing; although a potential trend for a limited increase in the aggregation profile over time could not be excluded. In contrast, when mixed with the adjuvant, no impact on the antigen content as measured by SRD was observed over time. These data suggests that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts, both in the antigen alone and in the mixed solution administered to the patient.

Details regarding the kinetics experiments are provided in this document.

2. KINETICS OF AGGREGATES FORMATION

2.1. Principle

Given that kinetics experiments starting from fresh lots would take too much time prior having the results, the kinetics of aggregates formation was studied using H1N1 antigen lots of different ages spanning the 22 to 61 days period, within which the clinical material was administered (30-60 days). The aggregation profiles of these lots at different ages were studied through a number of methods as summarized in the Table 1.

Results were plotted as a function of the age of each lot to evaluate the evolution of the aggregation over time.

Table 1 Analyses and method

Materials	Analyses	Method
H1N1 antigen	Particle size and polydispersity profiles	██████████ instrument
	Percentage of total protein content in aggregates	H1N1 samples were centrifuged and the supernatant fractions were collected. The supernatant fractions as well as the samples prior to centrifugation were tested for total protein (by Lowry) and HA content (by HPLC). The difference between the total protein or HA contents found in the whole suspension before centrifugation and the values observed in the supernatant fractions correspond to the amount of materials present in the aggregates. The quantity of total protein or HA in the aggregate is expressed as a percentage relative to the quantity of total protein or HA present in the whole suspension before centrifugation
	Percentage of HA content in aggregates	
AS03-adjuvanted H1N1 vaccine	HA content in the mixed vaccine	Standard SRD method

2.2. Materials and Method

2.2.1. Materials

Three commercial lots (AFLPA323B, AFLPA324BA and AFLPA328AA) and the clinical lot DFLPA304A were used. Some vials of these lots were subjected to transportation. Hence some commercial lot vials were transported by truck during 20 hours; vials of the clinical lot were shipped by plane from GSK Ste-Foy (Canada) manufacturing site to GSK Belgium and back to Canada. The manufacturing dates for these lots were as follows: 30 Sep 09 (AFLPA323B), 02 Oct 09 (AFLPA324BA) and 04

CONFIDENTIAL

Oct 09 (AFLPA328AA) and 13 Sep 09 (DFLPA304A). Lot ages were calculated from the manufacturing date to the testing date.

2.2.2. Methods

The protein content was determined using the standard Lowry method. The HA content determination in AS03-adjuvanted H1N1 vaccine is described in details in m3.2.P.3.5. Pharmaceutical Development (AS03-Adjuvanted Quebec H1N1 Influenza Vaccine) of the initial file. All other methods are briefly described below.

2.2.2.1. HA content by HPLC

This analytical method determines the hemagglutinin content based on the measurement of the HA1 subunit after separation of the proteins in a mixture by hydrophobic interaction chromatography. The quantification is obtained by comparing the area of the HA1 subunit peak at 214nm in the samples against the area generated with a reference antigen preparation.

Zorbax Poroshell 300SB-C3 Narrow-Bore column, 75 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å; and Zorbax 300SB-C3 Narrow-Bore Guard Column, 12.5 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å are used as stationary phase. Samples are pre-treated with Dithiotreitol (DTT) and boiled for 15 minutes at 95°C prior to being analysed. A linear gradient from 23% to 95% acetonitrile, 0.1% trifluoroacetic acid w/v is the mobile phase used for the elution.

2.2.2.2. Particle Size with [REDACTED] Instrument

[REDACTED] Instruments' Zetasizer uses light scattering techniques to measure hydrodynamic size of proteins and nanoparticles. This technique is based on the principle that the intensity of light scattered is proportional to the sixth power of the diameter ($I \propto d^6$) for small molecules and particles.

The instrument offers an analytical range from approximately 0.6 to 6000 nm. It does not take into account particles larger than 6000 nm.

2.2.2.3. Pellet and Supernatant Preparation

For each lot, the volume of 4 vials was pooled in a 50 ml Falcon and mixed to ensure homogeneity. Samples were collected for analysis of the whole suspension by Lowry or by HPLC. From the pooled material, 9 ml were centrifuged (6 x 1.5 ml in eppendorf tubes) at 13 000 rpm (16,060 g) for 30 min. From each eppendorf tube, 1.4 ml of supernatant was collected and transferred to a fresh tube. Samples of the supernatant fraction were collected for analysis by Lowry or HPLC.

The speed of the centrifuge was selected with the aim to separate all potential aggregates in suspension, whether visible or sub-visible, from the soluble fraction of the H1N1 antigen drug product. This speed is not believed to be fast enough to allow pelleting soluble proteins (which require ultracentrifugation forces).

CONFIDENTIAL

2.3. Results

2.3.1. Evolution of the Aggregation Profiles of the H1N1 Antigen over Time

Results of the particle size and polydispersity analyses as well as the determination of percentage of the total protein and total HA content in aggregates are presented in Table 2. These parameters were plotted as a function of the time and are presented in Figure 1 (Particle size), Figure 2 (Polydispersity Index), Figure 3 (Total proteins in aggregates) and Figure 4 (Total HA content in aggregates).

Table 2 Particle size, Polydispersity Index, Total Proteins and Total HA in Aggregates as a Function of Time

Lot Number	Lot Age (days)	Particle Size	Polydispersity Index	Total Proteins in Aggregates (%) ¹	Total HA in Aggregates (%) ¹
AFLPA328AA	22	133	0.1483	31.4	48.5
AFLPA328AA (T)	22	142	0.2265	25.9	47.9
AFLPA324AB	24	136	0.2094	27.7	43.1
AFLPA324AB (T)	24	139	0.1948	28.9	46.8
AFLPA323B	27	135	0.1736	26.3	51.1
AFLPA323B (T)	27	136	0.1583	29.3	49.6
DFLPA304A	31	203 ²	0.2660	ND	ND
DFLPA304A (T)	31	155	0.2900	ND	ND
AFLPA328AA	39	137	0.2289	17.6	48.4
AFLPA324AB	41	135	0.2197	32.6	48.6
AFLPA323B	44	163	0.2657	26.4	49.4
DFLPA304A	61	150	0.2401	18.9	58.2

Note:

(T) identifies vials that were transported

1. The total proteins or HA in aggregates is expressed as a percentage relative to the total amount of proteins or HA found in the whole suspension prior to centrifugation
2. Outlier value. No explanation to date for this value

Figure 1 Average Particle Size over Time

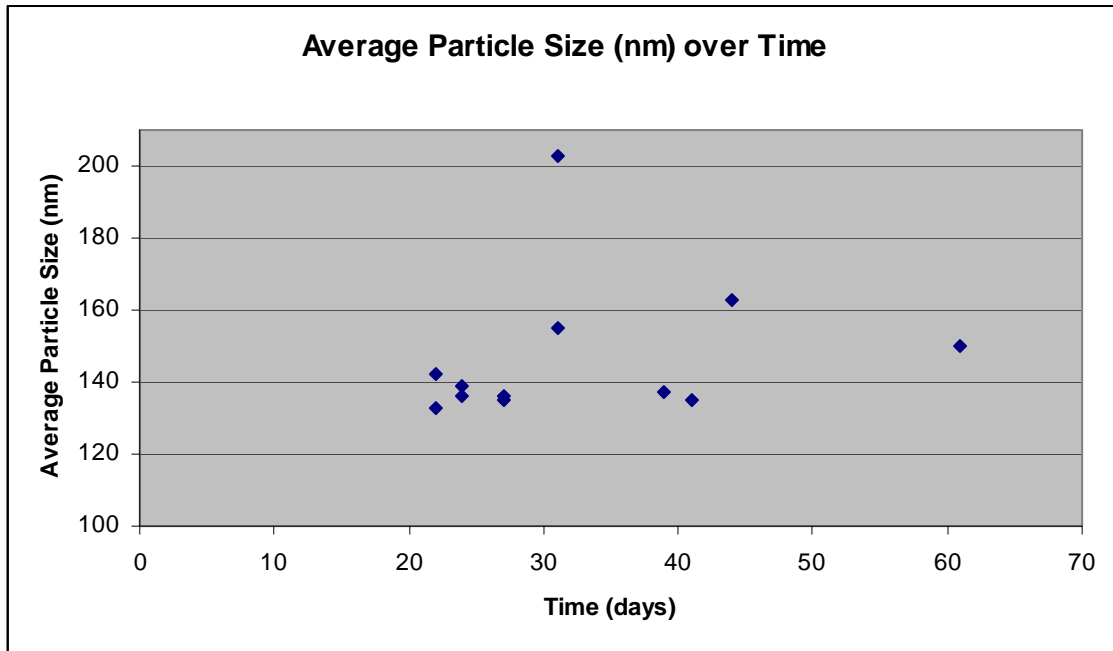


Figure 2 Polydispersity Index over Time

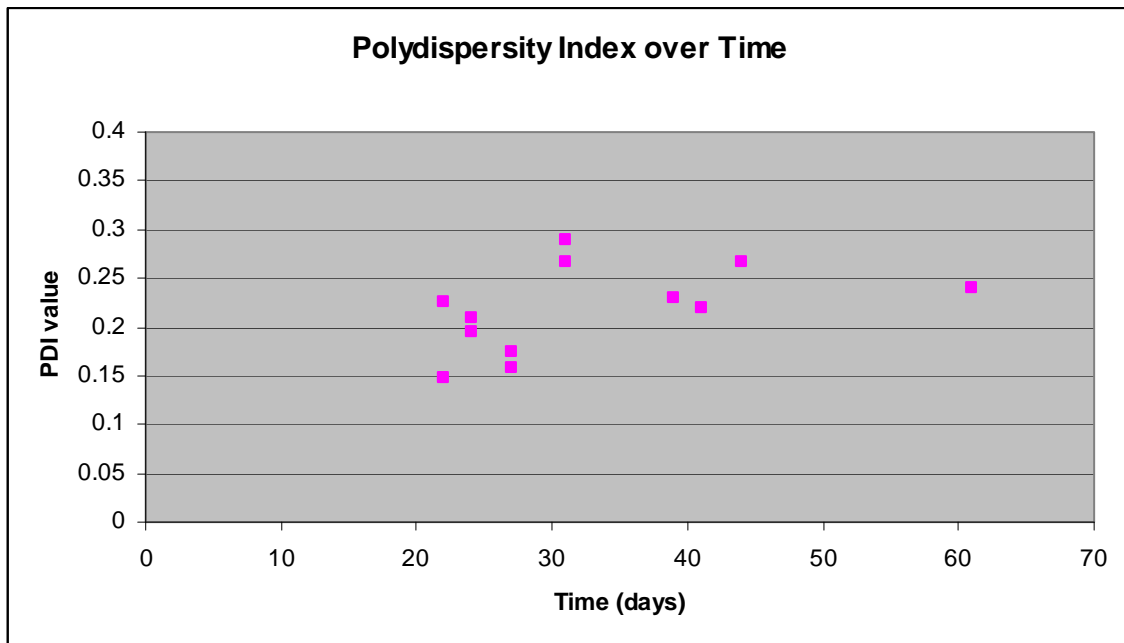


Figure 3 Percentage of Total Protein Content in Aggregates over Time

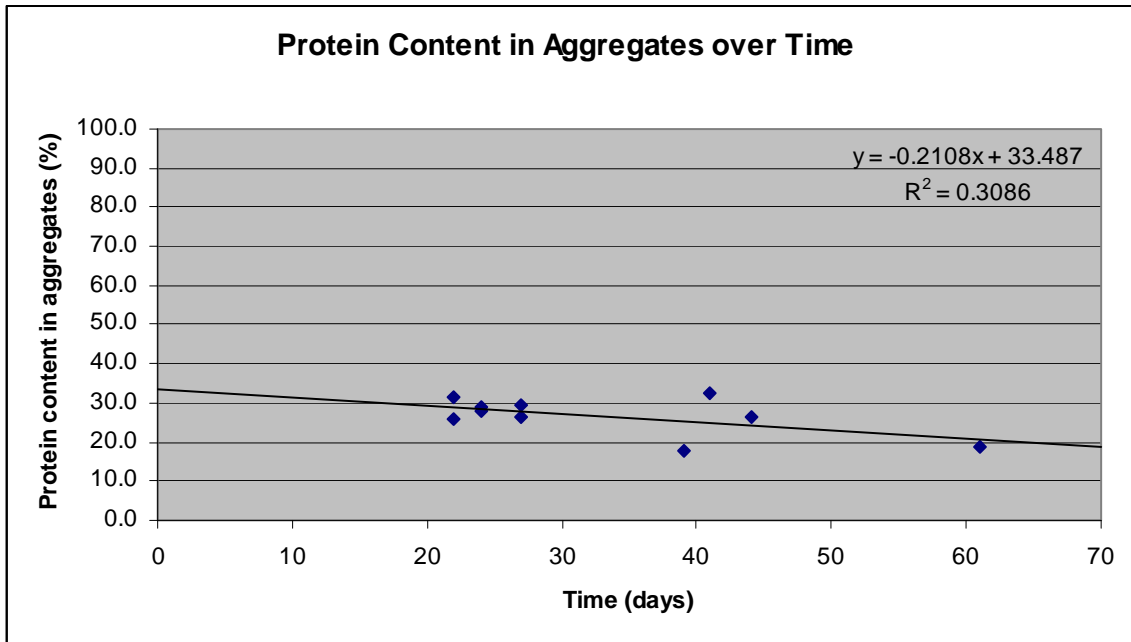
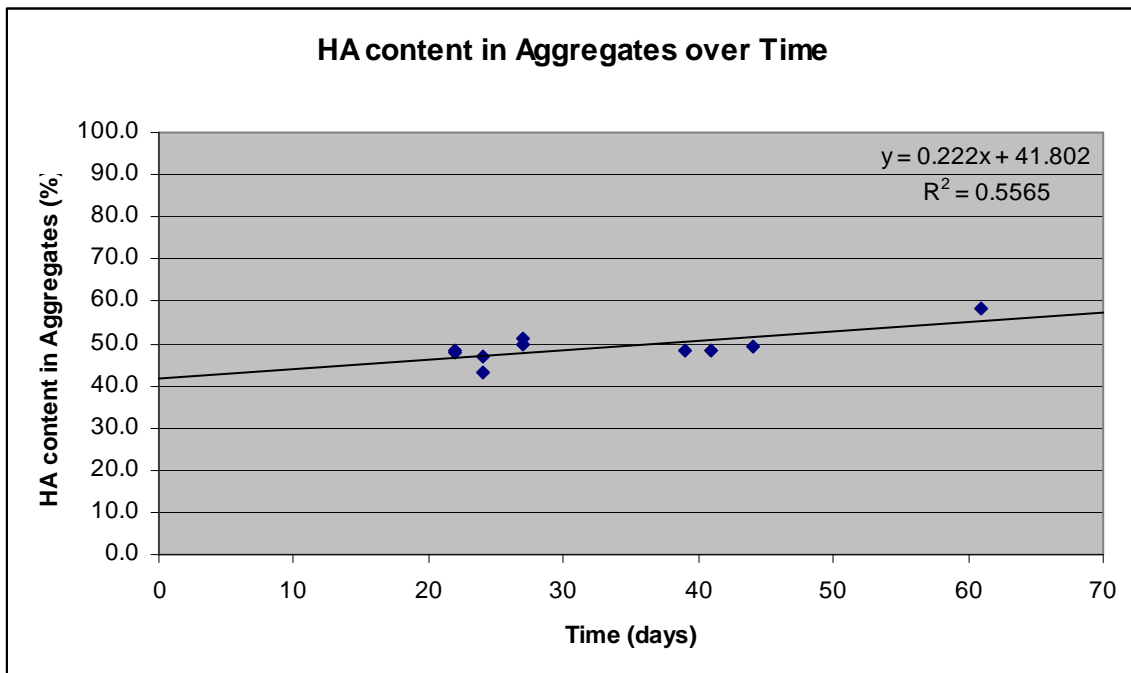


Figure 4 Percentage of Total HA Content in Aggregates over Time



2.3.2. Evolution of the AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine Potency over Time

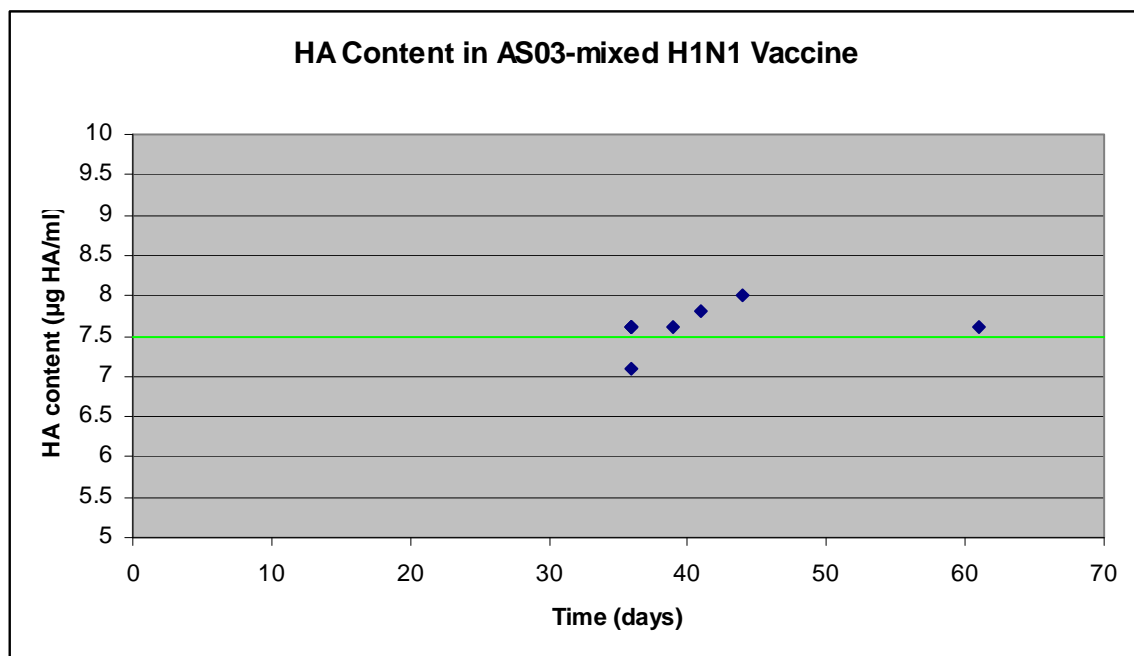
The evolution of the HA content of AS03-adjuvanted H1N1 vaccine lots over time is presented in Table 3 and is plotted in Figure 5.

Table 3 HA content by SRD in AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine as a Function of Time

Antigen Lot Number	Lot Age (days)	HA content by SRD (µg HA/ml)
DFLPA304A	36	7.6
DFLPA304A (24h)	36	7.1
DFLPA304A (T)	36	7.6
DFLPA304A (T) (24H)	36	7.6
AFLPA328AA	39	7.6
AFLPA324AB	41	7.8
AFLPA323B	44	8.0
DFLPA304A	61	7.6

Note: (T) identifies vials that were transported; (24H) identifies vials that were tested after 24 hours storage at 25°C after reconstitution.

Figure 5 HA content by SRD in AS03-Adjuvanted H1N1 Vaccine as a Function of Time



2.4. Discussion and Conclusions

The impact of time on the H1N1 antigen alone or in combination with the AS03-adjuvant was evaluated using a number of analytical tools.

Aggregation profile of the H1N1 antigen over time.

With respect to particle size and polydispersity index, the values observed over time were relatively broadly distributed. The particle size and polydispersity index were generally in the 130-150 nm range and 0.15-0.20 range, similar to *FluLaval/Fluviral* seasonal vaccine historical values (152.1±14.9nm, PDI of 0.18) and to the Arepanrix H5N1 values (136±15nm, PDI of 0.15). No clear modification of the particle size and polydispersity profiles were observed over time

Some limited effects were observed when looking at the evolution of the total proteins and total HA content present in the aggregates over time. The percentage of total protein in the aggregates tended to decrease over time at a rate of 0.21% per day whereas the percentage of HA content in the aggregates tended to increase over time at a rate of 0.22 % per day. These modifications would potentially correspond in the aggregates to a decrease of the total protein content of maximum 6.4% and to an increase of the HA content of maximum 6.6% between day 30 and day 60, i.e. the time at which clinical lots were used in the clinical trials.

With respect to clinical trials, the limited extent of the HA content increase of the aggregates, whether real or simply related to product and/or testing variability, is in any cases well within the variability of the assays used to monitor subject immune responses and are likely to have limited impact, if any, on the clinical trials outcome.

Evolution of the adjuvanted H1N1 vaccine potency over time

Table 3 shows that there is no modification of the expected HA content of the adjuvanted H1N1 vaccine over the 61 days time course of the experiment. Values were ranging from 7.1 to 8.0 µg HA/ml i.e. around the target value of 7.5 µg HA/ml.

This observation clearly demonstrates that the presence of aggregates in the H1N1 antigen has had no impact on the potency of the adjuvanted vaccine over the course of the clinical trials.

Conclusions

This study indicated that the H1N1 antigen aggregate profile is not significantly affected between 22 and 61 days after manufacturing; although a potential trend for a limited increase in the aggregation profile over time could not be excluded. In contrast, when mixed with the adjuvant, no impact on the antigen content as measured by SRD was observed over time. These data suggests that the clinical batches at the time of the clinical studies contained similar aggregated-HA amounts, both in the antigen alone and in the mixed solution administered to the patient.



**APPENDIX 2 /AS03-adjuvanted Quebec H1N1 Pandemic
Vaccine
(Arepanrix H1N1)**

**Factors Impacting the Aggregates in the H1N1 Antigen Lots
and in the Adjuvanted H1N1 Vaccine Lots**

The contents of this document are **CONFIDENTIAL** and the **PROPRIETARY PROPERTY** of GlaxoSmithKline Biologicals.

Copying, disclosure or use of this documentation or any part thereof is prohibited without the written consent of GlaxoSmithKline Biologicals.

Date: 07 December 2009

TABLE OF CONTENTS

	PAGE
1. INTRODUCTION	- 3 -
2. MATERIALS AND METHODS.....	- 4 -
2.1. Materials.	- 4 -
2.2. Methods	- 5 -
3. RESULTS AND DISCUSSION	- 7 -
3.1. Determination of the HA content in aggregates (by centrifugation)	- 7 -
3.2. Determination of the HA content in aggregates (by filtration)	- 9 -
3.3. HA Content and Uniformity of doses in AS03-adjuvanted Vaccine Lots	- 11 -
3.3.1. HA content by SRD in Adjuvanted Vaccine Lot.....	- 11 -
3.3.2. Uniformity of Dose	- 12 -
4. OVERALL CONCLUSION	14

1. INTRODUCTION

This document presents an overview of the investigations conducted by GSK regarding factors potentially impacting the aggregation level in H1N1 antigen lots and in the adjuvanted H1N1 vaccine lots were investigated. The following factors were studied: transportation (by air or by truck), aging (a range of lots at different age were tested) and manufacturing history (i.e. production at different manufacturing sites).

Three sets of experiments were conducted to evaluate factors potentially influencing the aggregation level of the Arepanrix vaccine:

- Evaluation of aggregates HA content in H1N1 antigen lots by centrifugation.
- Evaluation of aggregates HA content in H1N1 antigen lots and in adjuvanted H1N1 vaccine lots by filtration
- HA content and dose uniformity evaluation of adjuvanted H1N1 vaccine lots

Results of these experiments show the following:

1. The level of Hemagglutinin (HA) content observed in the aggregates appears to be constant across the H1N1 antigen lot tested to date as demonstrated by two different techniques (around 25-30 % by filtration and around 45-50% by centrifugation). Independent of the technique used, the level does not appear to be impacted by transportation (by truck and by air), to vary over time (up to 74 days) and to be influenced by the lot manufacturing history (e.g. manufacturing in different filling sites).
2. Addition of the AS03 adjuvant reduces the level of HA present in the aggregate. When filtering (0.22 µm) AS03-adjuvanted H1N1 vaccine lots, more than 90 % of the Hemagglutinin is recovered in the vaccine filtrate, demonstrating that only a limited fraction of the antigen is present under aggregated form in the adjuvanted vaccine.

These studies showed that transportation, aging (up to 74 days) or the manufacturing history (e.g. filling of the antigen at different sites) has limited impact if any, on the AS03-adjuvanted Arepanrix vaccine potency. It also provided first evidence that the AS03 adjuvant is able to reduce the amount of aggregate in the final mixed vaccine.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials.

H1N1 Antigen Lots. Vials from one clinical lot (DFLPA304A) and from commercial lots (AFLPA327A, AFLPA323BB, AFLPA324BA and AFLPA328AA) were used in the study. Lots DFLPA304A, AFLPA323BB, AFLPA324BA and AFLPA328AA were manufactured and filled at GSK Ste-Foy (Canada) whereas lot AFLPA327A was filled at DSM Greenville (USA). Their manufacturing dates were Sep 15, 2009 (DFLPA304A), Sep 30, 2009 (AFLPA323BB), Oct 02, 09 (AFLPA324BA), Oct 04, 09 (AFLPA328AA) and Nov 1, 2009 (AFLPA327A). The transportation history of the vials used in the study was as follow: (1) Japan vials (n=5): vials from lot DFLPA304A were shipped by air to Japan and back to GSK Ste-Foy, Canada, (2) vials from lot DFLPA304A from GSK Ste-Foy retention (no transportation), (3) vials from lot DFLPA304A that were shipped by air to GSK, Rixensart, Belgium and back to GSK-Ste-Foy, Canada, (4) vials from lot AFLPA323BB, AFLPA324BA and AFLPA328AA from GSK Ste-Foy retention (no transportation), (5) vials from lot AFLPA323BB, AFLPA324BA and AFLPA328AA that were shipped to GSK-Mississauga, Canada and back to GSK-Ste-Foy, Canada (~ 20 hours by truck) and (6) vials from lot AFLPA327A, which were manufactured at DSM Greenville (USA) and shipped to GSK Ste-Foy (Canada) (~10-15 hours by truck).

Adjuvanted vaccine lots were reconstituted by mixing in a 1:1 ratio the adjuvant with the antigen.

Sample preparation by centrifugation. For each lot analyses, the volume of 4 vials was pooled in 50mL Falcon tubes and mixed to ensure homogeneity. Samples were collected for analysis of the whole suspension by SRD. From the pooled material, 9mL were centrifuged (6 x 1.5mL in Eppendorf tubes) at 13,000 rpm (16,060 g) for 30 min. From each Eppendorf tube, 1.4mL of supernatant was collected and transferred to a fresh tube. Samples of the supernatant fraction were collected for analyses by SRD.

2.2. Methods

Determination of the HA and total protein content in aggregates by centrifugation. A quantitative analysis of the amount of antigen and total protein in the H1N1 antigen lots before and after transportation, in either soluble or whole suspension was conducted. Two methods were used for the HA content determination: (1) High Performance Liquid Chromatography (HPLC), which measures the total amount of HA antigen, irrespective of its configuration; and (2) the standard Single Radial Immunodiffusion (SRID), which assess the amount of HA antigen using specific anti-H1N1 antibodies. Total protein content was determined using the standard Lowry method. Attempts were made to evaluate the amount of total protein and HA content present in the aggregates. Samples of vaccine materials were centrifuged and the supernatant fractions were collected. The supernatant fractions as well as the samples prior to centrifugation were tested for total protein and HA content. The difference between the total protein or HA contents found in the whole suspension before centrifugation and the values observed in the supernatant fractions correspond to the amount of materials present in the aggregates.

Determination of the HA content in aggregates by filtration. The aggregation level in the AS03-adjuvanted vaccine and in the antigen alone was evaluated by filtration. Each test sample was filtered through a 0.22µm filter in order to remove aggregated materials. The HA content before and after filtration as assayed by SRD was measured to assess the amount of HA in the aggregated materials. A percentage of HA recovery was determined for each material tested. This percentage corresponds to the amount of antigen recovered in the filtrate as compared to the initial amount prior to filtration. It thus gives an estimate of the amount of antigen present in the aggregates. The impact of both transportation and the age of the lots on the recovery percentages were investigated. These analyses were conducted on the AS03-adjuvanted mixed vaccine, which is ultimately the product injected to subjects as well on the antigen alone.

Uniformity of doses in adjuvanted vaccine. The test used to indicate antigen uniformity was HA content by SRD assay. Using a syringe, the entire content of a multi-dose vial containing the AS03 adjuvant was removed and injected into the antigen vial to produce approximately 6.25 ml of final vaccine (approximately 7.5 µg HA/ml). The reconstituted vaccine was then hand shaken briefly. Ten doses of 0.5 ml were then withdrawn from the reconstituted vials and each was tested for HA content by SRD. Calculation of acceptance value (AV) demonstrating dose uniformity was done as

described in the Ph. Eur Monograph 2.9.40 using the following formula:

$$AV = | M - X | + ks$$

Where :M = Reference value (case 2, when T>101.5 and if X<98.5, then M=98.5, if X≥98.5, then M=X); X = Mean of individual contents of the dosage units, expressed as a percentage of the label claim; k = Acceptability constant (for n=10 dosage units, k=2.4) and s = Sample standard deviation

HA content by SRD. The SRD testing assays used to test the antigen or the AS03-adjuvanted vaccine are the same as those used for antigen release or for AS03-adjuvanted characterization. Both are described in the Arepanrix file and are validated.

HA content by HPLC. This analytical method determines the hemagglutinin content based the measurement of the HA1 subunit after separation of the proteins in a mixture by hydrophobic interaction chromatography. The quantification is obtained by comparing the area of the HA1 subunit peak at 214nm in the samples against the area generated with a reference antigen preparation. Zorbax Poroshell 300SB-C3 Narrow-Bore column, 75 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å; and Zorbax 300SB-C3 Narrow-Bore Guard Column, 12.5 mm x 2.1 mm ID, 5µm, 300Å are used as stationary phase. Samples are pre-treated with Dithiotreitol (DTT) and boiled for 15 minutes at 95°C prior to being analyzed. A linear gradient from 23 to 95% acetonitrile, 0.1% trifluoroacetic acid w/v is the mobile phase used for the elution.

Total Protein Content. The Lowry standard method was used for total protein content measurement.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Determination of the HA content in aggregates (by centrifugation)

The total protein and HA contents were determined in Lots AFLPA323B, AFLPA324BA and AFLPA328AA, whether transported or not (~20 hours by truck). In addition, the composition of the aggregates in terms of protein and HA content was also assessed. Lot samples were centrifuged to separate the aggregates from the soluble part of the antigen suspension. The amount of total protein and HA content in the aggregates was calculated by comparing the amount of materials in the antigen suspension before and after centrifugation of the aggregates.

Table 1 and Table 2 respectively present testing results for total protein content by Lowry and for HA content by HPLC in the whole suspension prior centrifugation, in the soluble fraction (supernatant) and in the aggregates (pellet, by calculation).

Table 1 Total Protein content (µg/ml) by Lowry

Lot number	Transportation	Whole suspension (µg/ml)	Soluble fraction (Supernatant) (µg/ml)	Aggregate (by calculation) (µg/ml) ¹	Aggregate /whole suspension Ratio (%) ²
AFLPA323B	No	49.8	36.7	13.1	26.3
	Yes	54.0	38.2	15.8	29.3
AFLPA324BA	No	44.8	32.4	12.4	27.7
	Yes	47.0	33.4	13.6	28.9
AFLPA328AA	No	52.3	35.9	16.4	31.4
	Yes	52.1	38.6	13.5	25.9
Average (SD)	No	49.0 (3.8)	35.0 (2.3)	14.0 (2.1)	28.5 (2.6)
	Yes	51.0 (3.6)	36.7 (2.9)	14.3 (1.3)	28.0 (1.9)

1. Aggregate content = whole suspension content – soluble fraction content

2. Aggregate/whole suspension ratio = (aggregate content/whole suspension content) x 100

Table 1 shows that the aggregates contain around 28 % of the total proteins present in the whole antigen suspension. The same percentage is observed before and after transportation.

Table 2 HA content ($\mu\text{g HA/ml}$) by HPLC

Lot number	Transportation	Whole suspension ($\mu\text{g/ml}$)	Soluble fraction (Supernatant) ($\mu\text{g/ml}$)	Aggregate (by calculation) ($\mu\text{g/ml}$) ¹	Aggregate /whole suspension Ratio (%) ²
AFLPA323B	No	13.7	6.7	7.0	51.1
	Yes	13.5	6.8	6.7	49.6
AFLPA324BA	No	11.6	6.6	5.0	43.1
	Yes	10.9	5.8	5.1	46.8
AFLPA328AA	No	13.0	6.7	6.3	48.5
	Yes	14.0	7.3	6.7	47.9
Average (SD)	No	12.8 (1.1)	6.7 (0.1)	6.1 (1.0)	47.6 (4.1)
	Yes	12.8 (1.7)	6.6 (0.8)	6.2 (0.9)	48.1 (1.4)

1. Aggregate content = whole suspension content – soluble fraction content

2. Aggregate/whole suspension ratio = (aggregate content/whole suspension content) x 100

Table 2 shows that the aggregates contain around 48% of the HA present in the whole antigen suspension (as determined by HPLC). The same percentage is observed before and after transportation.

Attempts were also made to determine the HA content in the aggregates by SRD. However, in all the commercial lots tested (before and after transportation), values in the supernatant were all below 10 $\mu\text{g HA/ml}$, which is the limit of validated range of the assay, preventing an accurate calculation of the HA content by SRD in the aggregates. Given that the antigen is formulated at 15 $\mu\text{g HA/ml}$, this would suggest that a minimum 30 % of the overall HA as measured by SRD is present in the aggregates. This is in line with the HA content by HPLC measurements as described above.

The results confirmed that the aggregates indeed are composed of proteins and H1N1 hemagglutinin antigen, which respectively represent ~ 30% of the total proteins and ~ 45-50% of the HA content of the whole antigen suspension. The analyses also show that under the experimental conditions (centrifugation at 16,060g and ~20 hours truck transportation), these percentages are not affected by the transportation.

With respect to the antigen content in the whole suspension, the analysis of the total HA content by HPLC shows that the same amount of HA is found irrespective whether the materials is transported or not.

3.2. Determination of the HA content in aggregates (by filtration)

The HA content testing results before and after filtration for adjuvanted vaccine lots and for antigen lots are presented in Table 3 and in Table 4, respectively.

Table 3 AS03-adjuvanted vaccine: HA content before and after 0.22µm filtration

Sample ID	Materials	HA Content (µg/mL)		Recovery (%) ³	Lot Age ⁴ (Days)
		before filtration (SD)	after filtration (SD)		
DFLPA304A ¹	Clinical lot: vials sent to Japan and returned to Canada	7.3	6.8	93.2	74
DFLPA304A ¹	Clinical lot: vials from Ste-Foy retention (no transportation)	9.4	8.6	91.5	74
AFLPA327A ²	Commercial lot: vials filled at DSM (US) and transported to Canada	9.1	8.3	91.2	59
AFLPA323BB ¹	Commercial lot: vials from Ste-Foy retention (no transportation)	7.6	7.6	100.0	27

1. Filled at GSK – Sainte-Foy
2. Filled at DSM
3. Recovery percentage = (HA content after filtration/ HA content before filtration)x 100
4. Age of the lot at time of testing

Table 4 Antigen Alone: HA content before and after 0.22µm filtration

Sample ID	Materials	HA Content (µg/mL)		Recovery (%) ³	Lot Age ⁴ (Days)
		before filtration (SD)	after filtration (SD)		
DFLPA304A ¹	Clinical lot: vials from Ste-Foy retention (no transportation)	14.9 (1.415)	11.8 (2.057)	79.2	74
AFLPA327A ²	Commercial lot: vials filled at DSM (US) and transported to Canada	20.7 (1.926)	15.6 (1.510)	75.4	59
AFLPA323BB ¹	Commercial lot: vials from Ste-Foy retention (no transportation)	13.6 (1.510)	10 (1.381)	73.5	27

1. Filled at GSK – Sainte-Foy

2. Filled at DSM
3. Recovery percentage = (HA content after filtration/ HA content before filtration)x 100
4. Age of the lot at time of testing

Analysis of AS03-Adjuvanted Vaccine lots

The HA recovery values after filtration were consistently similar for all vials (between 90 to 100%), irrespective whether the lots were transported or not and irrespective of their age (age range: 27 to 74 days). These results clearly demonstrate that the transportation of the antigen component of the Arepanrix vaccine has limited effect, if any, on the potency of the final reconstituted vaccine. It also gives an indication of the stability of the vaccine response over a time (up to 74 days). Finally, no differences are seen irrespective of the antigen filling site as well. Hence overall, these data demonstrate the product quality of the adjuvanted vaccine.

The consistent high recovery values after filtration (above 90%) observed with all four materials also indicate that only a limited amount of aggregates are present in the vaccine following mixing of the antigen with the adjuvant. Hence upon mixing with the adjuvant, the aggregation in the reconstituted vaccine represent less than 10 % of the overall HA content. This extent is expected to have no clinical impact on the vaccine immunogenicity.

Although further investigations on the adjuvant effect on aggregation is needed, it could be hypothesized that the presence of detergent in the adjuvant might re-dissolve or reduce the size of the aggregates to such an extent that they are below 0.22 µ in size (cut-off of the filter).

Analysis of Antigen Drug Product Lots

Similar and consistent percentages of HA recovery ranging from 73.5 % to 79.2% were observed for the three antigen lots studied. These values are lower than those observed in the corresponding AS03-adjuvanted vaccine lots (> 90%), indicating that 20 to 25 % of the total HA of antigen vial is present as aggregates.

However, like for the AS03-adjuvanted vaccine, the HA recovery values in the antigen lots remain similar irrespective whether the lots were transported or not and irrespective of their age (age range: 27 to 74 days). These results collected with the antigen confirm the results observed with the AS03-adjuvanted vaccine i.e. that the transportation does not appear to have an impact on the aggregation level of the antigen component of the

Arepanrix vaccine. It also gives an indication of the stability of the antigen over a time (up to 74 days). Finally, no differences are seen irrespective of the antigen filling site as well. Hence overall, these data demonstrate that despite the fact that aggregates are observed in the H1N1 antigen product, these are consistently present at the same level in all three antigen lot demonstrating the ability of the manufacturing process to consistently yielding product of the same quality.

3.3. HA Content and Uniformity of doses in AS03-adjuvanted Vaccine Lots

3.3.1. HA content by SRD in Adjuvanted Vaccine Lot

Results of the SRD testing of the clinical lot mixed with AS03 are presented in Table 5. Data on the H1N1 antigen lot prior to mixing is also shown

Table 5 HA content: DFLPA304A Clinical Lot, Before and After Transportation, Prior and After Mixing with AS03 Adjuvant

Test material	HA content (SRD) ¹ (µg HA/ml)	HA content (SRD) ¹ (µg HA/ml)
Antigen	DFLPA304A (no transportation)	DFLPA304A (after transportation ⁵)
Prior to mixing – Final Container	16.4 (14.9-17.9) ² (100%) ⁴	14.7 (13.5-15.9) ³ (90%) ⁴
Antigen +Adjuvant	DFLPA304 (no transportation) + AS03	DFLPA304 (after transportation) + AS03
Following immediate mixing	7.6	7.6
24 hours at 30°C after mixing	7.1	7.6

1. Testing performed with CBER antigen reagent and NIBSC antibodies reagent
2. Testing done at release (Sep 15, 2009)
3. Re-test done on Oct 19, 2009
4. Recovery = (SRD value/initial SRD value)*100; initial SRD value (non-transported)
5. The Clinical lot was packaged in GSK-Rixensart clinical plant and sent back to GSK-Ste-Foy, Canada plant for testing (air transportation)

The analysis of HA content by SRD that makes use of specific anti-H1N1 antibodies show that there is limited impact (maximum 10%) in the HA content between the H1N1 antigen lot transported vs. non-transported.

The SRD analysis of the reconstituted AS03-adjuvanted vaccine show that the HA content in the adjuvanted H1N1 antigen formulation before or after transportation is reaching the expected range of HA value resulting from a 1:1 dilution of the antigen. Specifically, the resulting HA content values in the adjuvanted H1N1 vaccine were in the same range irrespective whether the antigen vials were transported or not, indicating that the potential observed HA content drop at the level of the antigen vial is not reflected in the AS03-mixed solutions. This would suggest that the presence of aggregates in antigen vials has no impact when the antigen is mixed with the adjuvant.

3.3.2. Uniformity of Dose

The uniformity of doses was evaluated using a vial from clinical lot DFLPA304A that was sent to Japan and returned to Canada and a vial from the Commercial lot AFLPA327A that was filled in DSM-Greenville (USA) and sent back to Canada.

Analysis of dose uniformity was conducted according to the Ph. Eur monograph 2.9.40 - Uniformity of dosage units, which stipulate that the requirements for dosage uniformity are met when the acceptance value of the first 10 dosage units is less than or equal to 15.

The results of the dose uniformity evaluation are presented in Table 6. They show that the content in each dose is homogenous for each of the 10 dose, and this for the two lots tested. The relative standard deviation across doses was 1.5% (Japan transported lot) and 5.2% (DSM lot).

Uniformity of dosage units acceptance value (AV) was 6.6 (Japan-transported lot) and 0.6 (DSM lot). Therefore the criterion of the test (less than or equal to 15) has been met, and uniformity of dosage has been demonstrated for both the Japan-transported lot or the DSM lot.

This confirms that transportation of antigen vials has no effect on the uniformity of content in the adjuvanted H1N1 multidose presentation.

Together with the percentage of HA recovery observed in the same reconstituted lots (over 90%), these data are indicative that there is limited if any residual aggregates in the AS03-adjuvanted vaccine.

CONFIDENTIAL

Table 6 Uniformity of dose of H1N1 adjuvanted vaccine following extemporaneously mixing

Test performed	Lot number (Antigen)	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4	Dose 5	Dose 6	Dose 7	Dose 8	Dose 9	Dose 10	Mean (n=10)	SD	RSD	AV ≤ 15
HA concentrat. (µg/mL)	DFLPA304A (Japan) ¹	6.8	7.0	7.0	6.8	6.8	7.0	6.8	7.0	7.0	6.8	6.9	0.11	1.5	N/Ap
HA content (µg)*		3.40	3.50	3.50	3.40	3.40	3.50	3.40	3.50	3.50	3.40	3.45	0.05	1.5	6.6
HA concentrat. (µg/mL)	AFLPA327A (DSM) ²	9.3	10.0	9.6	9.6	8.7	10.3	9.7	9.7	9.3	10.4	9.7	0.5	5.2	N/Ap
HA content (µg)*		4.65	5	4.8	4.8	4.35	5.15	4.85	4.85	4.65	5.2	4.8	0.3	5.2	0.6

* Results expressed as content per delivered dose

1. Clinical lot vial filled at GSK – Sainte-Foy (Canada), shipped to Japan and returned to GSK -Ste-Foy (Canada)
2. Commercial lot vial filled at DSM – Greenville (US), shipped to GSK Ste-Foy (Canada)

4. OVERALL CONCLUSION

Factors potentially impacting the level of aggregates in H1N1 antigen lots and in adjuvanted H1N1 vaccine lots were investigated.

Investigations on the H1N1 antigen alone

The investigations regarding H1N1 antigen alone showed that the level of HA or total protein in the aggregates is constant across lots:

- Centrifugation experiments conducted on 3 antigen lots showed that the aggregates consistently contain ~ 30% of the total proteins and ~ 45-50% of the HA overall content. These levels were not modified upon transportation (~20 hours truck transportation).
- Filtration experiments conducted on 3 antigen lots showed that the aggregates consistently contain ~ 25-30% of the HA overall content. These levels were not affected by transportation (~10-15 hours truck transportation) and they were not significantly affected over time (lots were tested at various ages, ranging from 27 to 74 days). The levels were also the same despite different filling sites were used for their filling (GSK-Ste-Foy, Canada and DSM-Greenville, USA).

Larger amount of HA was observed using the centrifugation method vs. the filtration method. This is likely due to the fact that the centrifugation method is aimed at collecting as much as possible aggregates irrespective of their particle sizes, whereas the filtration method only separate aggregates above the cut-off of the filter.

Although the two method yields to different numbers in terms of HA content in the H1N1 antigen lots, both methods consistently show that the same level is observed in all the lot tested in the same series, supporting the consistency of the antigen quality. In addition, both methods show that the HA content level appears to be the same, irrespective whether the lots were transported or not (~20 hours truck transportation), of their age (lots were tested to 74 days of age) and irrespective of their manufacturing history (Lots from 2 different filling sites were tested).

All these elements indicate that the manufacturing of the H1N1 antigen lots yields to products of consistent quality, for which the level of aggregates does not significantly change over a period of at least 74 days.

Investigations on the AS03-adjuvanted vaccine

The investigations on the AS03-adjuvanted vaccine showed that mixing of the AS03 adjuvant with the H1N1 antigen result in a large reduction of the level of aggregate in the adjuvanted vaccine.

Three adjuvanted vaccine lots were filtered on 0.22µm filter to remove aggregated materials. Upon testing by SRD, more than 90 % of the initial HA content was consistently recovered in the filtrate. The same level was observed for transported materials (~10-15 hours truck or air transportation), for materials aged from 27 to 74 days

CONFIDENTIAL

and irrespective of the filling sites used for the antigen manufacture (GSK-Ste-Foy, Canada and DSM-Greenville, USA).

The uniformity of dosage was demonstrated for two lots of adjuvanted vaccine, manufactured with H1N1 antigen lot that have been transported (by truck or by air). Ten 0.5 ml dose have been withdrawn, all with the expected similar HA content (by SRD). This observation further provides indirect evidence that the level of aggregates in the mixed vaccine is indeed reduced.

At this stage of the investigation, it can only be hypothesized that the reduction of aggregates in the adjuvanted vaccine is to result from either aggregate dissolution or aggregate size reduction below the filter cut-off. More investigations will be needed to further understand the actual mechanism.

Overall conclusion

Overall, the experiments conducted on adjuvanted vaccine lots where aggregates have been removed by filtration, shows that the presence of aggregate in the H1N1 antigen lots has limited impact, if any on the adjuvanted vaccine potency given the high HA content recovery consistently observed in all lot tested upon mixing with the AS03 adjuvant.

Arepanrix H1N1 Pandemic vaccine

QC preliminary data on retained samples
Dec 10, 2009



Confidential – slide 1

Investigation strategy

- Five lots are used for investigation purpose (Combo)
 - A80CA007A: antigen AFLPA313AA
 - Adverse Event reporting rate higher than usually seen in the seasonal vaccine
 - A80CA005A: antigen AFLPA312AA
 - Adverse Event reporting rate lower than 007
 - A80CA009A: antigen AFLPA319BA* and/or AFLPA319BB
 - A80CA013A considered as a Control lot: antigen AFLPA325AA
 - Adverse Event reporting rate almost nil
 - A80CA014A considered as a Control lot: antigen AFLPA304CA
 - Adverse Event reporting rate very low



*EM analyses conducted by Dr G. DeSerres and Dr. Ward

Confidential – slide 2

Investigation testing plan

Materials	Tests	Retain Samples		Field Samples	
		Testing	Status	Testing	Status
H1N1 Antigen	Western Blot	X	Complete	X	Stand-by
	Particle size by DLS	X	Complete	X	Stand-by
	Particle count by FMI	X	Complete	X	Stand-by
	Phospholipid content	on monovalent bulk		Not Planned	
	SDS-PAGE (silver)	X	Complete	X	Stand-by
	HA content by SRD	X	Complete	X	Stand-by
	HA content by HPLC	X	Complete	X	Stand-by
	Electron Microscopy	X	Ongoing	To be Confirmed	Stand-by
	Particle size by SLS	X	Ongoing	To be confirmed	Stand-by
	GST	X	Ongoing	X	Stand-by
AS03 Adjuvant	α -tocopherol content	X	Ongoing	X	Stand-by
	Squalene content	X	Ongoing	X	Stand-by
	α -tocopherol quinone content	X	Ongoing	X	Stand-by
	Endotoxin content	X	Ongoing	X	Stand-by
	GST	Not Planned		X	Stand-by



Confidential – slide 3

Investigation testing plan

Materials	Tests	Retain Samples		Field Samples	
		Testing	Status	Testing	Status
Adjuvanted H1N1 Vaccine	GST	X	Ongoing	X	Stand-by
	HA content by SRD	X	Complete	X	Stand-by
	HA content by HPLC	X	Complete	X	Stand-by

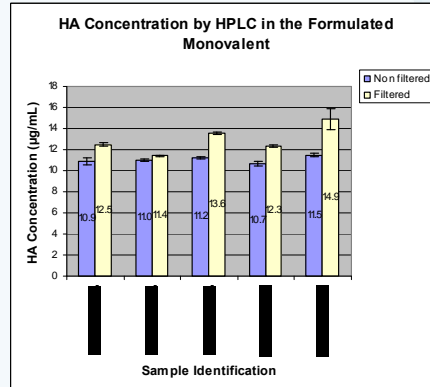
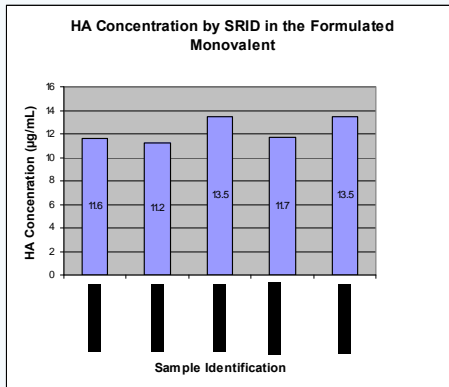


Confidential – slide 4

Preliminary results

HA Concentration

- All investigated antigen lots show similar HA content by SRID and similar HA content by HPLC before and after filtration

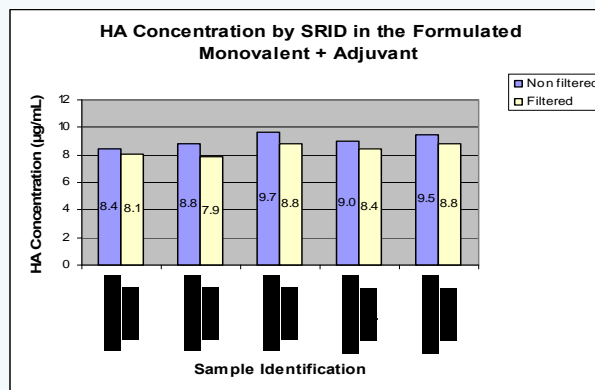


Confidential – slide 5

Preliminary results

HA Concentration

- All investigated combo lots (antigen + adjuvant) show similar HA content by SRID before and after filtration (0,22µm)

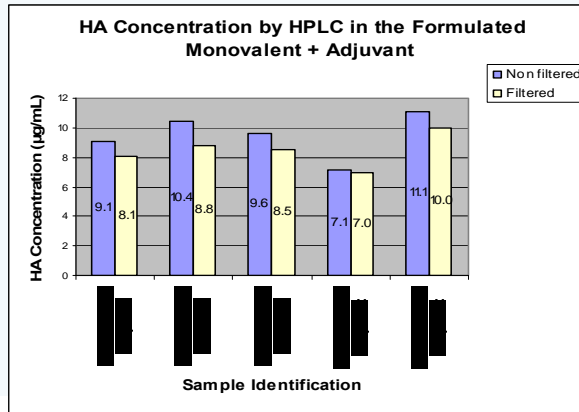


Confidential – slide 6

Preliminary results

HA Concentration

- All investigated combo lots (antigen + adjuvant) show similar HA content by HPLC before and after filtration (0,22um)



Preliminary results

Recovery after filtration

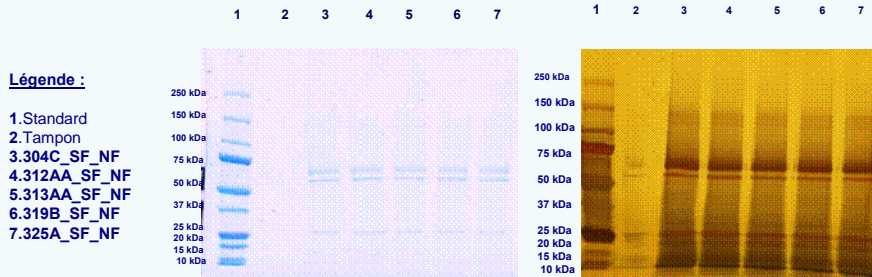
- The HA recovery after filtration of the antigen alone or mixed with adjuvant is overall similar for all lots, although lot 313AA (combo 007) may be on the lower end of the values

Lot Identification	% Recovery After Filtration on 0.2 micron		
	Antigen alone by HPLC	Antigen + Adjuvant by HPLC	Antigen + Adjuvant by SRID
AFLPA319BA	115	89	96
AFLPA313AA	104	85	90
AFLPA312AA	121	89	91
AFLPA325AA	115	99	93
AFLPA304CA	130	90	93

Preliminary results

Protein profile SDS-Page

- Similar Protein profile in all antigen final containers lots investigated



Confidential – slide 9

Preliminary results

Particle sizing

- Particle sizing was done by two different methods :
 - Dynamic Light Scattering (DLS): detection range = 0.6 – 6000 nm
 - Flow Microscopy Imaging (FMI): detection range > 2000 nm

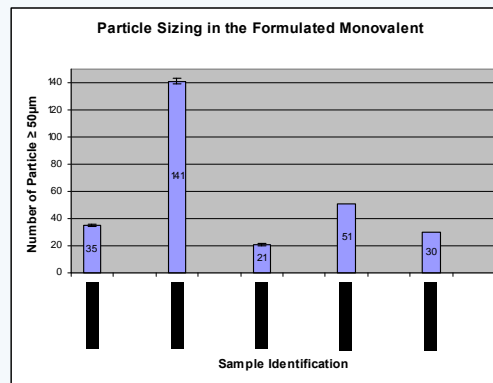
Lot Identification	Particle sizing					
	DLS		FMI			
	Z ave (nm)	Polydispersity (PDI)	Total	Mean (µm)	Max	≥ 50µm
AFLPA319BA	134	0.1502	9346	5.9	178.00	35
AFLPA313AA	139	0.2390	14081	7.0	269.75	141
AFLPA312AA	135	0.1567	7494	5.1	121.00	21
AFLPA325AA	138	0.1714	5365	7.1	592.25	51
AFLPA304CA	132	0.1602	11437	5.6	230.25	30



Confidential – slide 10

Preliminary results

Particle sizing



Preliminary results

Particle sizing

- Dynamic Light Scattering (DLS):
 - No significant difference in average particle size but higher polydispersity index (PDI) in lot 313 suggesting more heterogeneity in particle distribution
- Flow Microscopy Imaging (FMI):
 - Mean average particle size similar in all lots (5.6 – 7.1 μm)
 - Lot 313 shows 3 to 4.5 fold higher counts of visible particles ($> 50 \mu\text{m}$) compared to control lots 325AA and 304CA
 - The max particle size in control lot 325AA is 2-fold larger than in lot 313

Preliminary results

Conclusion

- The investigated lots show similar HA content in antigen alone or mixed with adjuvant, before and after 0.22 µm filtration
 - HA recovery after filtration (SRD) in adjuvanted vaccine is at least 90% showing presence of aggregates in antigen lots has limited impact on vaccine potency
- The investigated lots show similar protein profile by SDS-Page
- Particle size analyses show:
 - All antigen lots have similar average particle size by both DLS and FMI methods
 - Retention sample of antigen lot AFLPA313AA (combo 007) presents 3 to 4.5-fold higher counts of visible particles (> 50 µm) compared to control lot AFLPA325AA (combo 013) and to lot AFLPA304CA (combo 014)
 - FMI test on will be conducted on additional lots (15 lots overall) to accumulate further history of particle size variability



Confidential – slide 13

Manufacturing and QC investigations

- Technical data compilation of the 5 investigated antigen lots was conducted:
 - Review included:
 - Quality attributes
 - Total protein content
 - Ratio HA content/total protein content.
 - Endotoxin level
 - Ovalbumin content
 - DOC concentration
 - Manufacturing attributes
 - Raw materials
 - Holding times
 - Splitting efficiency
 - Results: All antigen lots presented similar quality and manufacturing profiles



Confidential – slide 14

Conclusions

- Only one lot of Arepanrix (lot A80CA007A) appears to have a signal regarding increased reporting rate of anaphylaxis
- QA manufacturing investigation of lot A80CA007A (both antigen and adjuvant): nothing unexpected to report
- Technical data compilation on antigen: nothing unexpected from lot to lot
- Antigen analytical investigation on retained sample:
 - The only element needing more investigation is the amount of visible aggregates ($> 50 \mu\text{m}$) in the antigen lot 313AA used in combo 007A
- Awaiting samples coming from the field for further analyses



アレパンリックス（H1N1）筋注における黒色微粒子に関するまとめ

2009年12月17日

黒色微粒子について

カナダで流通している Arepanrix H1N1 について、バイアル中に黒色の微粒子が混入していると医療機関から4件報告がありました。このうち1件について原因を調査いたしましたので以下に示します。なお、他の1件についてはロット番号が不明であるため調査できず、その他の2件（ロット番号：A80CA003A および A80CA011A）については現在調査中ですが、まもなく結果が得られる予定です。[11月12日付の照会（カナダ死亡例に関する照会）4に対する回答]。一方、カナダにおいてアナフィラキシー反応の問題から調査が完了するまで使用せず保管しておくように当局に要請した A80CA007A のロットに関しては黒色の微粒子は認められておりません。

1. 黒色微粒子の調査

Arepanrix H1N1（ロット番号：A80CA009A（AFLPA319BB））について、接種後にアナフィラキシー反応および ORS（Ocular Respiratory Syndrome）の発現が顕著であり、その接種したワクチンにおいて抗原製剤とアジュバント製剤の混合後のいくつかのバイアル内に黒色の微粒子を認めた、と医療機関から報告を受けたことから、その返送サンプルおよび保管検体ならびに製造記録書等の文書について、製造元であるケベック工場にて調査を実施した。なお、その医療機関では調製後のワクチンの分注に 20G の注射針を使用していた。科学的な検討の結果、ワクチンの混合には 23G および接種には 23～25G の注射針が推奨されており、さらに、冷蔵保存により減少したストッパーの弾性を回復させるために、混合時および接種時における注射針のストッパーへの穿刺の前は、少なくとも 15 分間はバイアルを室温で放置することが推奨されている。

各種文書から、ワクチン製品および使用したストッパーは規格に適合し、製造工程において逸脱がなかったことを確認した。また、製造元の保管検体には黒色の微粒子が存在しないことを確認した。さらに、返送サンプルに残っていた黒色の微粒子を FT-IR により測定したところ、ポリシロキサン様の微粒子であることがわかった。

以上のことから、検体中の黒色の微粒子はコアリングで生じたものであることを確認した。なお、当該ロットがアナフィラキシー反応および ORS の発現が顕著であったとされることの原因については確証が得られなかった。

[平成 21 年 11 月 24 日提出 報告書 “Plainte Technique #1500028133, # du lot: A80CA009A (AFLPA319BB) Particulate matter”]、[12 月 11 日付の照会に対する回答] および

[平成 21 年 12 月 15 日提出 報告書 “Presence of coring particles in the vial after reconstitution of Pandemrix”]

2. ストッパーの組成

Arepanrix H1N1 の抗原製剤およびアジュバント製剤のバイアルに使用するストッパーは、いずれも塩素化ブチルゴムを主成分としており、天然ゴムは含有していない [11 月 18 日付の照会 7 に対する回答]。また、ストッパーは欧州薬局方 (3.2.9. Rubber closures for containers for aqueous parenteral preparations, for powders and for freeze-dried powders) に適合している [11 月 18 日付の照会 6 に対する回答]。

3. 提出資料一覧（黒色微粒子について）

- 2.1 黒色微粒子に関するまとめ（本資料）
- 2.2 Presence of coring particles in the vial after reconstitution of Pandemrix™

別添

“Plainte Technique #1500028133, # du lot: A80CA009A (AFLPA319BB) Particulate matter” 和文

不溶性微粒子報告書

Technical Complaint No.1500028133

ロット番号：A80CA009A (AFLPA319BB)

製造場所：Ste-Foy 工場、ケベック、カナダ (GSK Biologicals 社)

苦情受理日：2009年11月10日

検体受領日：2009年11月13日

1. 苦情内容：

Arepanrix の A80CA009A のロットを接種した後の、アナフィラキシー反応および ORS (Ocular Respiratory Syndrome) の発現が顕著であった。また、同ロットの抗原製剤について、ワクチン調製後のいくつかのバイアル中に、黒色の微粒子を認めた (20G の注射針を使用)。

2. 返送された検体の目視検査

合計 7 バイアルが 2009 年 11 月 13 日に返送された (カートン、添付文書およびフリップオフキャップはなかった)。7 バイアルすべてのストッパーは少なくとも 1 回穿刺されており、バイアルの破損は認められなかった。バイアル中の残量は、1.5~5mL であった。また、どの検体もアジュバント製剤と混合済みであった。7 バイアルのうち 6 バイアルで、浮遊した黒色の微粒子が認められた。

3. ドキュメントのレビュー

品質保証部門により以下の書類を確認した。

3.1. 逸脱管理文書

逸脱はない (英仏版レポートの 7~10 ページ)。

3.2. 規格外試験結果 (OOS) の調査

OOS はない (英仏版レポートの 7~10 ページ)。

3.3. 警報およびアクションレポート

製造工程において警報基準値を超えた報告はない (英仏版レポートの 7~10 ページ)。

3.4. 単価抗原バルク (原液) の製造記録書

以下の製造記録書を確認したところ、原液の製造工程において、今回の調査に関わる問題はなかった (英仏版レポートの 72~79 ページ (原液~製剤))。

	抗原製剤	単価抗原バルク (ろ過後)	単価抗原バルク
ロット番号	AFLPA319	1B9377CL	1M9096CL

3.5. 抗原製剤の製造記録書

以下の製造記録書を確認したところ、製剤化および二次／三次包装の工程において、今回の調査に関わる問題はなかった（英仏版レポートの 72～79 ページ（原液～製剤））。
充てん工程においては、104 バイアルが排除された（限界値は 73 バイアル）のでアクションレポートが作成された（英仏版レポートの 80～87 ページ（原液～製剤））。

	三次包装品	二次包装品	充てん品	抗原製剤
ロット番号	A80CA009A	AFLPA319BB	AFLPA319B	AFLPA319

3.6. AQLの検証

ロット番号 AFLPA319B について AQL の検証を行った結果、微粒子の存在は認められなかった。

3.7. ストッパー

ストッパー（ロット番号：C000003976）は、品質管理部門から規格のとおりに出荷された（英仏版レポートの 58～70 ページ）。

3.8. 品質試験

3.8.1. 保有サンプル

目視検査を実施したところ、92 バイアル中 91 バイアルに微粒子は認められなかったが、1 バイアルに 1 個の微粒子を認めた。セルロース様の微粒子であることを確認した。このような微粒子の由来は既知であり、安全性についての重大な懸念はない（英仏版レポートの 49～57 ページ）。

3.8.2. 返送された検体

微粒子をストッパーの内側および製剤から認めた。微粒子とストッパーの FT-IR スペクトルを比較した結果、この微粒子はストッパーに由来することが判明した（英仏版レポートの 12～48 ページ）。

3.9. 技術的な苦情に関するデータベース

ロット番号 AFLPA319B についての苦情が 1 件、他に 3 件がデータベースに登録されている。

3.10. 輸送

Arepanrix の A80CA009A のロットはケベックやブリティッシュコロンビアに出荷されており、GSK Biologicals 社の Ste-Foy 工場にバイアルの在庫はない（英仏版レポートの 89 ページ）。

4. 結論

Arepanrix の A80CA009A のロットに関するすべての書類について再調査し、規格および SOP に準拠していることを確認した。小分製品の保有サンプルは、品質試験規格に適合した。また、AQL にも適合した。

返送されたバイアルの微粒子は、注射針でストッパーが削られるコアリングにより生じたものであり、FT-IR の結果からポリシロキサン様の微粒子であることが分かった。ポリシロキ

サンはストッパーの重要な成分である。また、ストッパーはゲージの大きい注射針により穴が開けられていた。

GSK Biologicals 社の Ste-Foy 工場は、本検討の結果、検体中の微粒子がコアリングで生じたものであることを確認した。コアリングにより、バイアル中に微粒子を発生させるもつとも可能性の高い原因は、アジュバント製剤と抗原の混合時や接種時に大きい注射針を使用することであると考えられる。

今回の調査の結果、黒い微粒子については GSK Biologicals 社の Ste-Foy 工場内の管理に起因する問題ではないことが明らかになったが、Arepanrix の A80CA009A のロットを接種した後の、アナフィラキシー反応および ORS (Ocular Respiratory Syndrome) の発現が顕著であったことの原因については確証が得られなかった。

その他

製品情報シート (英仏版レポートの 95~120 ページ)

Arepanrix H1N1

AS03 アジュバント含有パンデミックインフルエンザワクチン (H1N1)

バージョン 1 (2009 年 10 月 21 日承認)

2009 年 10 月 13 日付けの仮命令により、カナダ保健省はヒトでの限定的な臨床試験結果に基づいて、Arepanrix H1N1 ワクチンの販売を承認した。本承認は、ワクチンに関して公表された品質、接種可能性、免疫原性をカナダ保健省が評価した結果に基づくものである。現在のパンデミックの脅威や人への健康リスクを考慮し、Arepanrix H1N1 ワクチンのリスク・ベネフィットの分析結果は、公式にパンデミックが宣言された状況下において、2009 年の H1N1 インフルエンザ株に対する能動免疫法を許容するものであると判断した。

Arepanrix H1N1 ワクチンの販売に関して、カナダ保健省はワクチン販売後のすべてのコミットメントについて了承するようスポンサーに依頼した。カナダ保健省とカナダ公衆衛生局は継続して、これらのコミットメントの進捗、品質、非臨床や臨床データの更新情報を監視していく。

製品情報シートは必要に応じて更新する予定である。

本製品に関する最新情報については、以下のカナダ保健省のウェブサイトを参照。

<http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/legislation/interimorders-arretesurgence/index-eng.php>

カナダ保健省のすべての勧告を考慮すること。

目次

- 1.0 剤型
- 2.0 成分・分量
- 3.0 臨床データ
 - 効能・効果
 - 用法・用量
 - 禁忌
 - 注意と予防措置
 - 相互作用
 - 車の運転や機械の操作に与える影響
 - 副反応
 - 過量接種
- 4.0 薬理学的特性
 - 薬力学的特性
 - 薬物動態学的特性
 - 前臨床（安全性）データ
- 5.0 製剤学的データ
 - 添加剤のリスト
 - 配合変化
 - 有効期間
 - 保管に関する特別な注意
 - 容器の本質と容量
 - 取扱い上の説明

接種者のための情報

上記の情報については以下のカナダ保健省のウェブサイトを参照。

<http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/legislation/interimorders-arretesurgence/prodinfo-vaccin-eng.php>

MEDICAL BACKGROUNDER
Proposed intended use: Internal Use
FOR VERBAL REACTIVE RESPONSE TO ENQUIRIES ONLY
NOT FOR EXTERNAL DISTRIBUTION

Presence of coring particles in the vial after reconstitution of *Pandemrix*TM

November 27, 2009

1. Background

*Pandemrix*TM consists of two containers:

- 1 multidose vial (type I glass) of at least 2.5 ml containing the antigen (a minimum of 10 x 0.25 ml doses) with a stopper (butyl rubber).
- 1 multidose vial (type I glass) of at least 2.5 ml containing the adjuvant (a minimum of 10 x 0.25 ml doses) with a stopper (butyl rubber).

The vaccine is mixed by withdrawing the content of the vial containing the adjuvant by means of a syringe and by adding it to the vial containing the antigen

GSK Biologicals has received complaints describing the presence of particles or coring from the rubber stopper after reconstitution of the vaccine.

2. Manufacturing Investigation

Based on the information currently available to GSK Biologicals, it appears that the observed particles are due to the coring of the rubber stoppers, i.e., small pieces of stopper material are shearing off as a result of the repeated needle insertions through the stopper.

The multidose stoppers used by GSK Biologicals fulfill the requirements of the fragmentation test set forth in monograph 3.2.9. of the current European Pharmacopoeia edition. The test specification incorporates some tolerance for the generation of fragments recognizing that, under normal conditions, some level of stopper coring may be observed even with stoppers that fully meet the compendial requirements.

The complaints received by GSK Biologicals suggest however that the number of fragments observed might be larger than expected and investigations at the manufacturing site have been launched in an effort to identify the root cause of this possible discrepancy.

After investigation, it appears that abnormal level of stopper coring may be due to the piercing of cold stoppers and/or the usage of needles with larger borings.

Because of the effect of temperature on the elasticity of the rubber closure material, coring is more likely to occur when reconstitution is performed immediately after removal of the vaccine from the refrigerator when the stoppers are still cold. It is therefore recommended that the vaccine is kept at room temperature for at least 15 minutes before reconstituting the vaccine.

The incidence of stopper coring may increase in case of usage of needs with larger borings or inadequate needle insertion technique. GSK Biologicals provide under section 4 below an updated recommendation on the needles to be used for the reconstitution of *Pandemrix*TM vaccine.

GlaxoSmithKline Biologicals investigated and results are now available (see document in appendix below)

3. Impact Assessment

Both the adjuvant and antigen rubber closure systems are made of elastomeric materials that have been determined to be safe for the immediate packaging of injections according to the specific requirements of the FDA guidance "Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics" issued in May 1999.

For each stopper, a comprehensive safety evaluation was carried out including the characterization tests on elastomers according to USP <381>, biological reactivity tests according to USP <87> or <88>, extractable and leachable study with, where appropriate, a toxicological evaluation of the safety of extracted substances.

In addition, all elastomeric materials are certified TSE/BSE free and are also free of natural rubber latex known to have the potential to cause allergic reactions in predisposed individuals.

A review of the MSDS (Material Safety Data Sheet) for butyl rubber addresses toxicities associated with inhalation, ingestion, skin or eye exposure, but does not address toxicities associated with intramuscular injection.

A review of the literature was performed and limited information was found to describe the impact of intramuscular injection of rubber stopper material.

A study performed in 1950 in animals found that plugs of neoprene or synthetic rubber produced a relatively mild reaction when injected into guinea pigs. Injections were given intramuscularly, and in guinea pig, the fragments of polymer migrated into popliteal space after being injected into the gluteal muscle.¹ The authors reporting the results indicate it unlikely that such plugs would produce much damage unless one were injected directly into blood vessel, or unless one became the nidus for an infection.

Intramuscular injection of particulate foreign material such as may occur with coring of a rubber stopper would be expected to result in development of a granulomatous inflammatory process at the injection site. GSK has not received any adverse event reports of granulomatous inflammation associated with lots reported to contain black or gray particles.

Based on currently available data, GlaxoSmithKline has not identified any safety-related events related to the presence of the particles.

4. Recommendation regarding needles and syringes required. Instruction for mixing and administration of the vaccine to the patient?

Per 10 doses of vaccine

- 1 syringe (5mL) + 1 needle 23G (32mm) to transfer the adjuvant into the antigen vial
- 10 syringes (1 ml) + 10 needle(s) 23G to 25G (32mm) to withdraw the 0.5mL dose or 10 syringes (1 ml) + 1 needle 23G to 25G (32mm) in case of multiple syringes being prepared consecutively and one needle used for withdrawal.
- 10 needles 23 G or 25G (32mm) for vaccine injection in patients.

GlaxoSmithKline Biologicals is currently proposing an update of the SmPC Section 6.6 “Special precautions for disposal and other handling” to stress the importance of allowing vials to reach room temperature before mixing.

Instruction for mixing and administration of the vaccine

- 1) Before mixing the two components, the emulsion (adjuvant) and suspension (antigen) should **be allowed to reach room temperature; each vial should be shaken and inspected visually for any foreign particulate matter and/or abnormal physical appearance. In the event of either being observed, discard the vaccine.**
- 2) The vaccine is mixed by withdrawing the entire contents of the vial containing the adjuvant by means of a syringe and by adding it to the vial containing the antigen.
- 3) After the addition of the adjuvant to the antigen, the mixture should be well shaken. The mixed vaccine is a whitish emulsion. In the event of other variation being observed, discard the vaccine.
- 4) The volume of the *Pandemrix*TM vial after mixing is at least 5 ml. The vaccine should be administered in accordance with the recommended posology (see section 4.2).
- 5) The vial should be shaken prior to each administration.
- 6) Each vaccine dose of 0.5 ml (full dose) or 0.25 ml (half dose) is withdrawn into a syringe for injection and administered intramuscularly.
- 7) After mixing, use the vaccine within 24 hours. The mixed vaccine can either be stored in a refrigerator (2°C - 8°C) or at room temperature not exceeding 25°C. **If the mixed vaccine is stored in a refrigerator, it should be allowed to reach room temperature before each withdrawal.**

Any unused product or waste material should be disposed of in accordance with local requirements.

5. Conclusion

Based on all the above elements and investigation available in appendix, the following recommendations can be suggested to minimize the risk of coring

- 1) The usage of needles with large borings (i.e. larger than 20 G) should be avoided. An in-use study showed that needles of 23G/32mm are suitable for the reconstitution of the vaccine and the drawing-up of vaccine doses. Accordingly, GSK recommends
 - The use of a 5-mL syringe equipped with a 23G needle for the withdrawal of the adjuvant and the subsequent addition into the vial containing the antigen. The vial containing the adjuvant should be maintained in downright position to facilitate the withdrawal of the full content.
 - The use of 1-mL syringes equipped with a needle gauge not larger than 23G for the withdrawal of the vaccine doses.
- 2) Careful insertion technique as described in the paper of Roth referenced below has been reported to help reduce the incidence of coring.²
- 3) In case of multiple syringes being prepared consecutively over a short period of time, one single needle can be used for the consecutive withdrawals.

- 4) Although the influence of temperature was not clearly shown in the study, it is a best practice to ensure vial closures are brought back to room temperature before needle insertion so that they are at their full elasticity. This can be done by keeping the vials at room temperature for at least 15 minutes before reconstituting the vaccine.

¹ Maghat T.B. and J. T. McClellan. 1950. Reaction to accidentally injected rubber plugs. *Amer. J. Clin. Pathol.* 20:829-833

² Roth, J.V. How to Enter a Medication Vial without Coring. *Anesth.Analg.* 2007;104:1615.

³ Nicol, G. Preventing rubber stopper coring. *Anaesthesia*, 2002; 57:207.

APPENDIX:

Rubber coring particles after reconstitution: investigation report (27 Nov 2009 - 5 pages)

Analytical report

Date: 27/11/2009

Rubber coring particles after reconstitution: investigation report.

1. Introduction

This investigation was prompted by complaints relating to the observation of presence of cores of closure material in the reconstituted H1N1 flu pandemic vaccine. Coring is reported to occur because small pieces of stopper material are sheared off as a result of the repeated needle insertions through the stopper.

The purpose of this investigation was threefold

1. Assess if the test routinely performed at GSK Biologicals on incoming lots of vial rubber stoppers is meaningful for the prediction of coring.
2. Evaluate the extent of coring under various experimental setups designed to mimic real situations.
3. Identify possible ways to minimize the risk of coring.

2. Fragmentation test

2.a. Principle

The rubber stoppers used by GSK Biologicals fulfil the requirements of the fragmentation test set forth in monograph 3.2.9 of the current European Pharmacopoeia edition. This test defines the maximum level of coring acceptable for closures intended to be pierced by a hypodermic needle. In this test, 12 units per stopper lot are each pierced four times, each time at a different site, with a 0.8 mm (21G) hypodermic needle. The test is passed if the total number of fragments visible to the naked eye does not exceed 5. The full description of the test can be found below.

Fragmentation. For closures intended to be pierced by a hypodermic needle, carry out the following test. If the closures are to be used for aqueous preparations, place in 12 clean vials a volume of *water R* corresponding to the nominal volume minus 4 ml, close the vials with the closures to be examined, secure with a cap and allow to stand for 16 h. If the closures are to be used with dry preparations, close 12 clean vials with the closures to be examined. Using a lubricated long-bevel⁽¹⁾ (bevel angle $12 \pm 2^\circ$) hypodermic needle with an external diameter of 0.8 mm fitted to a clean syringe, inject into the vial 1 ml of *water R* and remove 1 ml of air; carry out this operation 4 times for each closure, piercing each time at a different site. Use a new needle for each closure and check that the needle is not blunted during the test. Pass the liquid in the vials through a filter having approximately 0.5 μm pores. Count the fragments of rubber visible to the naked eye. The total number of fragments does not exceed 5. This limit is based on the assumption that fragments with a diameter equal to or greater than 50 μm are visible to the naked eye; in cases of doubt or dispute, the fragments are examined with a microscope to verify their nature and size.

2.b. Historical data

The table below summarizes the fragmentation test results obtained for the lots of rubber stopper used both for the AS03 adjuvant vial (West PH21/50 grey 12-mm stopper) and the H1N1 antigen vial (Stelmi 6340GS grey 19-mm stopper).

As it can be seen from the table, all the lots of closure used complied with the requirements of PE 3.2.9.

EP 3.2.9 Fragmentation test results	
Lot #	# visible fragments
Stopper 12mm West PH21/50 Grey	
6330950201	2
6330950301	0
6346100101	2
6355920101	0
6355920201	0
6355920301	0
6418890101	0
6418890201	0
6451871801	0
6451871901	1
6480750501	0
6505160101	0
6505160201	0
6543150101	0
6543150201	0
1000007385	0
Stopper 19mm Stelmi 6340GS Grey	
6346090201	0
6355900201	0
6388010201	0
6543140101	0
6543140102	1
6580250101	0
1000000883	0
1000000887	0
1000007508	0
1000008492	0
1000009434	0
1000009096	0
1000009434	0
1000009839	0

2.c. Influence of temperature and of needle bevel

Because of the effect of temperature on the elasticity of the rubber closure material, coring is known to be more likely to occur when the needle is inserted in a cold stopper.

According to the needle supplier (Terumo, Belgium), the risk of coring can be reduced by using needles with a shorter bevel.

To assess the possible influence of these two parameters, the PE 3.2.9 fragmentation test was repeated on one lot of each closure type under the following setups:

- at room temperature (RT) and immediately after removal from the refrigerator (4°C)
- using 21G needles with regular bevel (21G/R, 12° angle) and short bevel (21G/S, 18.5° angle)

The results are summarized in the table below. As it can be seen from the table, the level of fragmentation remained comparable and within specifications in all setups suggesting that temperature and needle bevel length may not always have a clear influence on the risk of coring

Rubber stopper formulation	Temperature	# visible fragments	
		21G/R	21G/S
Stopper 12mm West PH21/50 Grey	4°C	0	2
	Room Temp.	0	0
Stopper 19mm Stelmi 6340GS Grey	4°C	2	1
	Room Temp.	0	0

3. In-use study

It is recognized that the use of the reconstituted H1N1 vaccine requires a larger number of closure punctures than what is simulated in the PE 3.2.9.fragmentation test since up to 20 needle insertions can be performed in case of administration of 0.25 mL paediatric doses (21 insertions taking into account the initial puncture for vaccine reconstitution).

Another difference with the PE 3.2.9.fragmentation test is that, under real-world circumstances, a new needle is used for each puncture. Finally, puncturing may be performed with needles with different borings than 21G. Larger gauge needles may increase the risk of coring.

To assess the influence of all these differentiating factors on the risk of coring, an in-use study was performed to mimic the administration setting of adult (0.5 mL) and paediatric (0.25 mL) doses of reconstituted vaccine using 1-mL syringes equipped with different gauge needles. In each setting, five different vials of reconstituted vaccine were tested and initial reconstitution was performed with 5-mL syringes attached to 21G needles. The results are shown in the table hereafter.

As can be seen from the table, all the settings gave comparable results with only very low levels of coring suggesting that multiple punctures with gauge needles in the range 25G to 20G should not notably increase the risk of coring the 19mm Stelmi 6340GS stopper.

In addition, the number of fragments observed in this in-use study was similar to what was noted with the PE 3.2.9. fragmentation test indicating that the compendial test provides a good predictive model for the real situation of coring.

Needle gauge	# punctures per vial	Volume per withdrawal	Vial ID	# visible fragments
20G/38mm/S	1(21G) + 10	0.5ml	1	None
			2	None
			3	1
			4	None
			5	None
21G/38mm/S	1(21G) + 10	0.5ml	1	None
			2	None
			3	None
			4	1
			5	None
23G/32mm/R	1(21G) + 10	0.5ml	1	None
			2	None
			3	None
			4	None
			5	None
25G/25mm/R	1(21G) + 10	0.5ml	1	None
			2	None
			3	None
			4	None
			5	1
23G/32mm/R	1(21G) + 20	0.25ml	1	None
			2	None
			3	None
			4	None
			5	None
25G/25mm/R	1(21G) + 20	0.25ml	1	None
			2	None
			3	None
			4	None
			5	None

R = regular bevel (angle 12°) / S = short bevel (angle 18.5°)

4. Conclusion and recommendations

The stoppers used by GSK Biologicals fulfil the requirements of the fragmentation test set forth in monograph 3.2.9. of the current European Pharmacopoeia edition. The test specification incorporates some tolerance for the generation of fragments recognizing that, under normal conditions, some level of stopper coring may be observed even with stoppers that fully meet the compendial requirements.

The data discussed in this report suggest that

1. Coring may happen in real situations but is most likely a low-frequency event
2. The following factors may have only limited effect on the risk of coring: the temperature of the stopper at the time of insertion, the length of the needle bevel and the gauge of the needle as long as it remains in the range 25G to 20G.
3. The PE 3.2.9. fragmentation test appears to provide a realistic predictive model for the situation of coring.

In addition to the laboratory investigation, a review of the literature was performed and retrieved the following additional information:

1. Smaller gauge needles may reduce the risk of coring (“How to Enter a Medication Vial without Coring” by J.V. Roth, *Anesth.Analg.* 2007, 104, 1615).
2. There is a longstanding recommended technique of needle insertion into a medication vial that reduces the risk of coring (“How to Enter a Medication Vial without Coring” by J.V. Roth, *Anesth.Analg.* 2007, 104, 1615).
3. Stopper coring can be prevented by the use of “vial access cannula” replacing needles for withdrawing medication from vials. (“Preventing rubber stopper coring” by G.Nicol, *Anaesthesia*, 2002, 57, 207).

Based on all the above elements, the following recommendations can be suggested to minimize the risk of coring

1. The usage of needles with large borings (i.e. larger than 20 G) should be avoided. An in-use study showed that needles of 23G/32mm are suitable for the reconstitution of the vaccine and the drawing-up of vaccine doses. Accordingly, GSK recommends
 - The use of a 5-mL syringe equipped with a 23G needle for the withdrawal of the adjuvant and the subsequent addition into the vial containing the antigen. The vial containing the adjuvant should be maintained in downright position to facilitate the withdrawal of the full content.
 - The use of 1-mL syringes equipped with a needle gauge not larger than 23G for the withdrawal of the vaccine doses.
 2. Careful insertion technique as described in the paper of Roth referenced above has been reported to help reduce the incidence of coring.
 3. In case of multiple syringes being prepared consecutively over a short period of time, one single needle can be used for the consecutive withdrawals.
 4. Although the influence of temperature was not clearly shown in the study, it is a best practice to ensure vial closures are brought back to room temperature before needle insertion so that they are at their full elasticity. This can be done by keeping the vials at room temperature for at least 15 minutes before reconstituting the vaccine.
-

カナダにおける Arepanrix 接種後のアナフィラキシーについて

1. 背景

カナダ公衆衛生局（Public health agency of Canada; PHAC）による市販後の有害事象報告の予備的な分析において、Arepanrix のロット番号 A80CA007A では他のロットと比較し高い有害事象の発現頻度が示されました。ロット番号 A80CA007A においては、接種後のアナフィラキシーの報告率が通常予想される報告率を上回っており、また、原因については調査中ですが、1 例に死亡例（10 ヶ月齢小児）がみとめられました。

カナダ公衆衛生局（PHAC）による分析内容およびその結果に基づくカナダ当局および GSK における対応を以下に示します。

なお、ロット番号 A80CA007A については、172,000 接種分がブリティッシュコロンビア州、アルバータ州、サスカチュワン州およびマニトバ州、さらにカナダ連邦警察およびカナダ国防省に流通しています。

2. Arepanrix 接種後のアナフィラキシーに関するカナダ公衆衛生局（PHAC）の分析内容

2.1. 概要

- 検討対象期間
カナダにおける Arepanrix の接種開始以降 2009 年 11 月 13 日までの期間
- Arepanrix の流通数
全ロット合計： 7,445,500 接種分
ロット番号 A80CA007A： 172,000 接種分
- PHACにおいて特定されたアナフィラキシー症例：
全ロット合計： 55 例（Brighton Collaboration case definition¹ Level 1-5）
22 例（Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3）
ロット番号 A80CA007A： 11 例（Brighton Collaboration case definition Level 1-5）
6 例（Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3）

2.2. 箱 (shoebox) のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

箱 (shoebox) のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率を表 1 に示します。

表 1 に示したとおり、全ロット合計のアナフィラキシーの報告率は、Brighton Collaboration case definition Level 1-5 で 0.74 例/100,000 回接種、Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3 で 0.30 例/100,000 回接種でした。

一方、ロット番号 A80CA007A におけるアナフィラキシーの報告率は、Brighton Collaboration case definition Level 1-5 で 6.40 例/100,000 回接種、Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3 で 3.49 例/100,000 回接種であり、ロット全体と比較しアナフィラキシーの報告率が高いという結果でした。

表 1： 箱 (shoebox) のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

	Doses distributed	Anaphylaxis reporting rate/100,000 doses				No. Reports by level				
		Level 1,2	Level 1,2,3	Level 1-4	Level 1-5	1	2	3	4	5
SHOEBOX										
All Lots	7,445,500	0.21(16)	0.30(22)	0.63(47)	0.74(55)	1	15	6	25	8
No lot	NA							1*	4**	
A80CA002A	485,500	ON			0.20					1
A80CA003A	494,000	AB,ON,NB,NS,PEI			0.20	0.61			1	2
A80CA005A	711,000	All but NB,NS,PEI	0.14	0.42	1.68	2.11	1	2	9	3
A80CA007A	172,000	BC,AB,SK,MB,ON,PEI	2.32	3.49	5.24	6.40	1	3	2	3
A80CA009A	653,500	BC,QC	1.07	1.07	1.38	1.38		7	2	
A80CA010A	194,000	ON,NB,NS,NL		0.52	1.03	1.03		1	1	
A80CA011A	403,000	QC	0.25	0.25	0.25	0.25	1			
A80CA013A	768,000	BC,AB,ON,QC,NB,NS,NL,PEI			0.26	0.26				2
A80CA014A	441,000	BC,SK,MB,NS	0.23	0.23	0.45	0.45	1		1	
A80CA016A	623,000	SK,ON,QC, 'PCIRN'	0.32	0.32	0.32	0.32	2			
A80CA017A	209,500	QC	0.95	0.95	0.95	0.95	2			
A80CA006A*	196,000	113000 doses to QC; 83425 administered; ON			0 reports					
A80CA008A	67,500	AB			susp. anap					
A80CA012A	742,000	ON								
A80CA018A	75,500	BC, NB								
A80CA019A	182,500	AB, MB, ON,QC,NS,NL,PEI								
A80CA001A	15,500	AB,MB,ON,								

shoebox lots 20a,21b,22a,24a,26a,29a,30a31a,35a,40a,41a—distributed Wk 5/6; no reports received yet

2.3. アジュバントのロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

アジュバントのロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率を表 2 に示します。

箱（shoebox）のロット番号 A80CA007A に分配されたアジュバントでは他のロットと比較しアナフィラキシーの報告率が高いですが、箱（shoebox）のロット番号 A80CA007A を除くとアナフィラキシーの報告率は低下しました。

表 2： アジュバントのロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

Adjuvant	Correspondin g shoebox	Doses distrib	Anaphylaxis reporting rate/100,000 doses			No. Reports by level				
			Level 1,2	Level 1,2,3	Suspected anaphylaxis (levels 1-5)	1	2	3	4	5
AA03A242AA	1A,2A,3A	995000	0	0	0.40	0	0	0	1	3
AA3BA043AA	12A, 14A, 21B	1183000	0.08	0.08	0.17	0	1	0	1	0
AA3BA027AA*	5A, 6A, 7A, 8A	1146500	0.44	0.78	2.27	1	4	4	12	5
	5A,6A,8A (remove 7A)	974500	0.10	0.31	1.54	0	1	2	9	3
AA03A202AA**	9A,10A	847500	0.82	0.94	1.30	0	7	1	3	0
	10A(remove 9A)	194000	0	0.52	1.03			1	1	
AA3A042AA	11A	403000	0.25	0.25	0.25	0	1	0	0	0
AA3BA042AA	13A	768000	0	0	0.26	0	0	0	2	0
AA3BA044AA	17A, 19A, 31A	392000	0.51	0.51	0.51	0	2	0	0	0
AA3BA046BA	16A, 18A	698500	0.29	0.29	0.29	0	2	0	0	0
	24A,26A,30A,	648000	0	0	0	0	0	0	0	0
AA03A061AA	40A									

* Adjuvant for shoebox lots 5A, 6A, 7A, 8A **Adjuvant for shoebox lots 9A and 10A

2.4. 抗原のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

抗原のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率を表 3 に示します。

箱 (shoebox) のロット番号 A80CA007A に分配された抗原では他のロットと比較しアナフィラキシーの報告率が高い結果でした。なお、表 1 に記載されたとおり、箱 (shoebox) のロット番号 A80CA029A からは検討時点においてアナフィラキシーが報告されていないことより、本抗原ロットでアナフィラキシーの報告率が高かったのは、箱 (shoebox) のロット番号 A80CA007A に起因するものと考えられます。

表 3： 抗原のロット番号ごとのアナフィラキシーの報告率

Antigen	Corresponding shoebox	Doses distributed	Anaphylaxis reporting rate/100,000 doses			No. Reports by level				
			Level 1,2	Level 1,2,3	Suspected anaphylaxis (levels 1-5)	1	2	3	4	5
304	1A, 14A	456500	0.22	0.22	0.44	0	1	0	1	0
307	2A,3A	979500			0.41	0	0	0	1	3
312	5A,6A	907000	0.11	0.33	1.65	0	1	2	9	3
313	7A,29A	172000	2.32	3.49	6.40	1	3	2	3	2
319	8A,9A	721000	0.97	0.97	1.25	0	7	0	2	0
323	10A,11A,30A	597000	0.17	0.28	0.42	0	1	1	1	0
324	12A,19A	924500	0	0	0	0	0	0	0	0
325	13A,18A,31A	843500	0	0	0.24	0	0	0	2	0
328	16A,17A	643950	0.62	0.62	0.62	0	4	0	0	0

Dist lots excluded from total because shipped later in campaign, no reports yet received

2.5. 一価抗原バルクごとのアナフィラキシーの報告率

一価抗原バルクごとのアナフィラキシーの報告率を表4に示します。

箱 (shoebox) のロット番号 A80CA007A に分配された抗原バルクでは他のロットと比較しアナフィラキシーの報告率が高いですが、箱 (shoebox) のロット番号 A80CA007A を除くとアナフィラキシーの報告率は低下しました。

表4： 一価抗原バルクごとのアナフィラキシーの報告率

Monovalent Bulk Lot	Shoebox	Total doses distributed	Reporting rate/ 100,000 doses dist			No. Reports by level				
			1,2	1,2,3	All 1-5	1	2	3	4	5
1B9362CL	2A,3A	485550	0	0	0.82				1	3
1B9363CL	1A,2A,3A,14A	942000	0.1	0.1	0.64		1		2	3
1B9364CL	2A,3A	485500	0	0	0.82				1	3
1B9368CL	13A, 18A, 31A	843500	0	0	0					
1B9369CL	1A(13%),2A(15%),3A(15%) 7A(4%),14A(1%), 29A(4%)	501000	1.0	1.40	3.39	1	4	2	5	5
	1A,2A,3A,14A (remove 7A)	329000	0.30	0.30	1.82	0	1	0	2	3
1B9370CL	5A, 6A	907000	0.11	0.33	1.65		1	2	9	3
1B9371CL	5A(70%), 6A(70%),7A(96%),29A(96%)	1079000	0.46	0.83	2.41	1	4	4	12	5
	5A, 6A (remove 7A)	907000	0.11	0.33	1.65	0	1	2	9	3
1B9372CL	10A,11A, 30A,	597000	0.17	0.34	0.50		1	1	1	
1B9377CL	8A,9A	721000	0.97	0.97	1.25	0	7	0	2	0
1B9380CL	10A,11A,12A,19A, 30A, 35A,	1521500	0.06	0.13	0.20		1	1	1	
1B9390CL	16A, 17A	832500	0.48	0.48	0.48		4			
1B9391CL	16A, 17A	832500	0.48	0.48	0.48		4			

Dist lots excluded from total because shipped later in campaign, no reports yet received

2.6. アナフィラキシーの報告率

- ロット全体におけるアナフィラキシーの報告率は、
0.74 例/100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1-5) 、
0.30 例/100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3) でした。
- ロット番号 A80CA007A におけるアナフィラキシーの報告率は、
6.40 例/100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1-5) 、
3.49 例/100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3) であり、
ロット全体の報告率と比較し高い結果でした。

3. Arepanrix接種後に報告されたアナフィラキシー症例について

2009年11月27日時点でGSKにおいてロット番号A80CA007Aの症例を7例入手しており、これら症例の一覧およびCIOMSフォームを別添いたします。このうち事象名としてアナフィラキシーが報告された症例は4例であり、いずれもカナダ当局に直接報告された症例でした。今回PHACで検討された当該ロットのアナフィラキシー症例はいずれもカナダ当局に直接報告された症例であり、残りの症例についても追加の症例情報を入手した際にはすみやかに報告いたします。

4. ワクチン接種後に通常予想されるアナフィラキシーの報告率について

過去に実施した大規模な予防接種プログラムの経験より、ある程度の例数のアナフィラキシーを含む有害事象が報告されることが予想されます。Brighton Collaboration case definitionによると、MMRやインフルエンザワクチン等の接種後のアナフィラキシーを検討した結果に基づき、ワクチン接種後のアナフィラキシーの報告率は一般的に0.1~1例/100,000回接種と報告されています。

5. カナダ当局およびGSKにおける対応

カナダ公衆衛生局（PHAC）による予備的な分析において、ロット番号A80CA007A接種後のアナフィラキシーの報告率が、予想を上回ったことについて、GSKはカナダ当局（Health Canada および PHAC）と協力して調査中です。

Arepanrixの流通数は、他のロット番号では大部分が500,000人分以上であるのに対し、ロット番号A80CA007Aでは172,000人分のみであったため、アナフィラキシーが偶発的にロットの流通初期に数例発現した場合、アナフィラキシーの報告率が高くみえる可能性も考えられます。

しかしながら、カナダ当局（Health Canada）と相談した結果、GSKは自主的にロット番号A80CA007Aの使用中止を決定し、カナダ当局（Health Canada および PHAC）およびGSKによる調査が完了するまでは、当該ロット（ロット番号A80CA007A）を使用せず保管しておくよう、2009年11月18日にカナダ各地の保険当局に対して通知を行いました。

6. まとめ

ロット番号 A80CA007A におけるアナフィラキシーの報告率は、6.40 例／100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1-5) 、3.49 例／100,000 回接種 (Brighton Collaboration case definition Level 1,2,3) であり、ロット全体の報告率と比較し高い結果でした。

ロット番号 A80CA007A においてアナフィラキシーの報告率が予想を上回った原因について GSK はカナダ当局 (Health Canada および PHAC) と協力して調査中ですが、11 月 13 日時点において、Arepanrix のロット全体におけるアナフィラキシーの報告率は 1 例／100,000 回接種 未満であり、この報告率は他のワクチンにおいて通常みられるアナフィラキシーの報告率を上回るものではありませんでした。したがって、ロット番号 A80CA007A 以外については現時点でアナフィラキシーに関して一般的なワクチン接種を上回るリスクは認められていないと考えます。

なお、カナダ当局 (Canadian Regulatory および PHAC) においても、現時点までにみられたアナフィラキシーのリスクと比較しワクチン接種によるベネフィットは依然として高いと考えられることから、Arepanrix の接種を継続することを決定しております。

ⁱ Vaccine. 2007 Aug 1;25(31):5675-84..

カナダにおける Arepanrix 接種後のアナフィラキシーについて（追加情報）

カナダにおける Arepanrix 接種後のアナフィラキシーに関するカナダ公衆衛生局（PHAC）の分析内容、および GSK において入手しているロット番号 A80CA007A の症例一覧（アナフィラキシー以外の症例も含む）につきましては、11月27日付で報告させて頂きましたが、12月16日時点の追加情報につき報告いたします。

- 2009年12月16日時点で入手している箱（shoebox）のロット番号 A80CA007A の症例の一覧（別添1）。
- ロット番号 A80CA007A の症例とは確定できませんが、抗原のロット番号のみが AFLPA313AA と判明しており、ロット番号 A80CA007A に該当する可能性のある症例の一覧（別添2）。
- 今回提出させていただく別添1および2は、11月27日付で提出させていただいたリストと同様、ロット番号 A80CA007A に関連して入手したすべての症例の一覧であり、アナフィラキシー以外の症例も含んでおります。
- 別添1（ロット番号 A80CA007A）の症例のうち、事象名としてアナフィラキシーが報告された症例は8例であり、別添2（抗原ロット番号 AFLPA313AA）の症例のうち、事象名としてアナフィラキシーが報告された症例はありませんでした。
- PHACで分析されたロット番号 A80CA007A からのアナフィラキシーの症例は、Brighton Collaboration case definition Level 1-3 で6例と把握しておりますが、GSK Biological 社においても PHAC における分析内容の詳細を PHAC より提供されておらず、今回別添1に示したロット番号 A80CA007A の症例のうちどの症例が PHAC で分析された症例か特定することは困難な状況です。

(別添1) ロット番号A80CA007Aにおける症例 (2009年12月16日時点)

No.	GSK管理番号	MFR No.	Lot No.	性別	年齢	副反応名	重篤性	副作用発現日	転帰	接種日から発現までの時間	接種日	情報源詳細
1	K200917162	A0817931A	A80CA007A,AFLPA313AA,AA3BA027AA	女	22歳	アナフィラキシー 日常生活動作障害者 頻呼吸 悪心 意識消失 嘔下困難 呼吸困難 胸部絞扼感 咽喉絞扼感 顔面蒼白 下肢筋力低下 喉のつまり感	重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤	2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29 2009/10/29	不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明	22分	2009/10/29	規制当局
2	K200917164	A0817935A	A80CA007A,AA3BA027AA,AFLPA313AA	男	9歳	アナフィラキシー 全身性麻疹 全身紅斑 血管浮腫 血管浮腫 頻脈 咽喉絞扼感 上気道性喘鳴 乾性咳嗽 頻呼吸 喘鳴 チアノーゼ 呼吸困難 嘔声	重篤(準重) 非重篤 非重篤 重篤(準重) 重篤(準重) 非重篤 非重篤 重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤	2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27 2009/10/27	不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明	2分	2009/10/27	規制当局
3	K200917165	A0817936A	A80CA007A,AFLPA313AA,AA3BA027AA	女	34歳	アナフィラキシー 咽喉絞扼感 咽喉絞扼感 呼吸困難 舌びりびり感	重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤	2009/10/26 2009/10/26 2009/10/26 2009/10/26 2009/10/26	回復 回復 回復 回復 回復	5分	2009/10/26	規制当局
4	K200917255	A0817932A	A80CA007A,AA3BA027AA,AFLPA313AA	女	44歳	アナフィラキシー 全身紅斑 血管浮腫 咽喉絞扼感 チアノーゼ 悪心 嘔吐 レッチング	重篤(準重) 非重篤 重篤(準重) 非重篤 重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤	2009/10/ 2009/10/ 2009/10/ 2009/10/ 2009/10/ 2009/10/ 2009/10/ 2009/10/	未回復 未回復 未回復 未回復 未回復 未回復 未回復 未回復	8分	2009/10/	規制当局
5	K200916793	A0817955A	A80CA007A,AFLPA313AA,AA3BA027AA		10ヵ月齢	咳嗽 チアノーゼ 原因不明の死亡	非重篤 重篤(死亡/準重) 重篤(死亡/準重)	2009/11/13 2009/11/13 2009/11/13	死亡 死亡 死亡	3時間	2009/11/13	規制当局

No.	GSK管理番号	MFR No.	Lot No.	性別	年齢	副反応名	重篤性	副作用発現日	転帰	接種日から発現までの時間	接種日	情報源詳細
6	K200917166	A0817938A	A80CA007A	女		血管浮腫 血管浮腫 血管浮腫 容積脈波低下 口周囲のしびれ感 口内ビリビリ感 咽喉そう痒	重篤(準重) 重篤(準重) 重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤		未回復 未回復 未回復 未回復 未回復 未回復 未回復	不明		規制当局
7	K200917257	A0817937A	A80CA007A,AA3BA027AA,AFLPA313AA		34歳	発作 失神 意識消失 上気道性喘鳴 浮動性めまい 蒼白 振戦 口内ビリビリ感 胸部絞扼感 嘔吐 呼吸困難 胸痛 咽喉乾燥 咽頭不快感 レッチング	重篤(入院) 重篤(入院) 重篤(入院) 重篤(入院) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤	2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2	不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明 不明	不明	2009/11/2	規制当局
8	K200917163	A0817934A	A80CA007A,AA3BA027AA,AFLPA313AA	女	26歳	アナフィラキシー 浮動性めまい 運動性低下 顔面腫脹 発汗 熱感 浮動性めまい感 ビリビリ感 異様感 循環虚脱 呼吸困難 冷感 戦慄 呼吸停止 嘔吐 胸痛	重篤(入院) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 重篤(入院) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 重篤(入院) 非重篤 非重篤 非重篤	2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4 2009/11/4	回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復	5分	2009/11/4	規制当局
9	K200917801	A0827074A	A80CA007A	女	成人	失神	重篤(準重)	2009/11/	不明	1ヵ月以内	2009/11/10	医師
10	K200918079	A0827075A	A80CA007A	女	成人	アナフィラキシー	重篤(準重)	2009/11/12	不明	10分	2009/11/12	医師
11	K200917161	A0817930A	AFLPA313AA,A80CA007A,AA3BA027AA	女	23歳	アナフィラキシー 悪心 潮紅 咽喉絞扼感 胸部絞扼感 発疹	重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤	2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/2 2009/11/3	不明 不明 不明 不明 不明 不明	5分	2009/11/2	規制当局

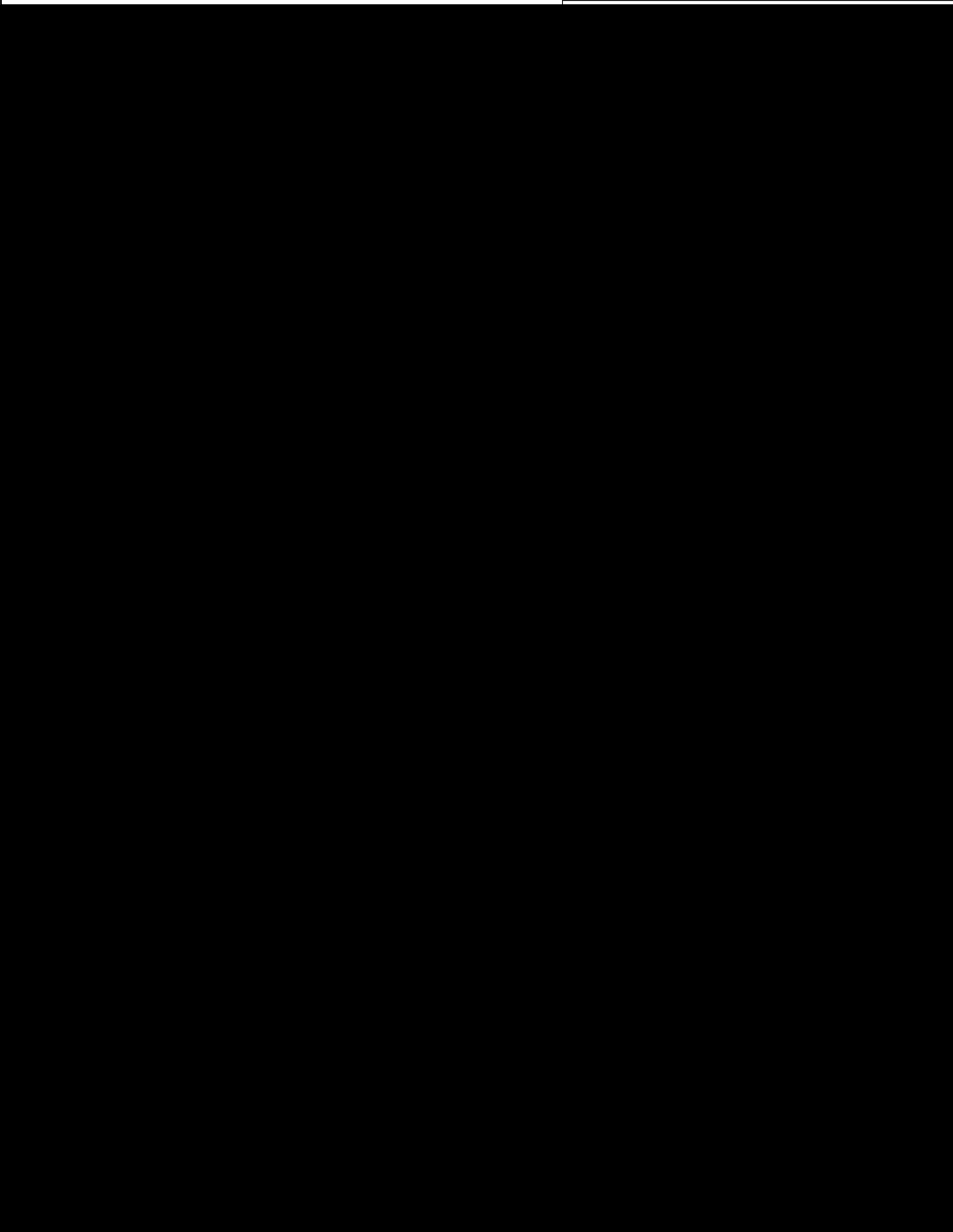
No.	GSK管理番号	MFR No.	Lot No.	性別	年齢	副反応名	重篤性	副作用発現日	転帰	接種日から発現までの時間	接種日	情報源詳細
12	K200917256	A0817933A	AFLPA313AA,A80CA007A,AA3BA027AA	女	55歳	アナフィラキシー 顔面のしびれ感 舌のしびれ感 顔面浮腫 舌浮腫 金属味 意識低下 低血圧 咽喉絞扼感	重篤(準重) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 重篤(準重) 非重篤 非重篤	2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24 2009/10/24	回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復 回復	10分	2009/10/24	規制当局
13	K200917924	A0825658A	A80CA007A	男	51歳	喘息増悪 呼吸困難 咳嗽 発熱 血糖増加 不調感 上気道感染	重篤(障害) 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤 非重篤	2009/10/28 2009/10/28 2009/10/28 2009/10/28 2009/10/28 2009/10/28 2009/10/28	未回復 未回復 未回復 軽快 未回復 未回復 未回復	(消費者によると)直後 (医師によると)20時間	2009/10/27	消費者、医師
14	K200917925	A0825659A	A80CA007A	男	6歳	喘息増悪 発熱 不明確な障害	重篤(準重) 非重篤 非重篤	2009/10/28 2009/10/29 2009//	回復 回復 回復	直後	2009/10/28	消費者、医師

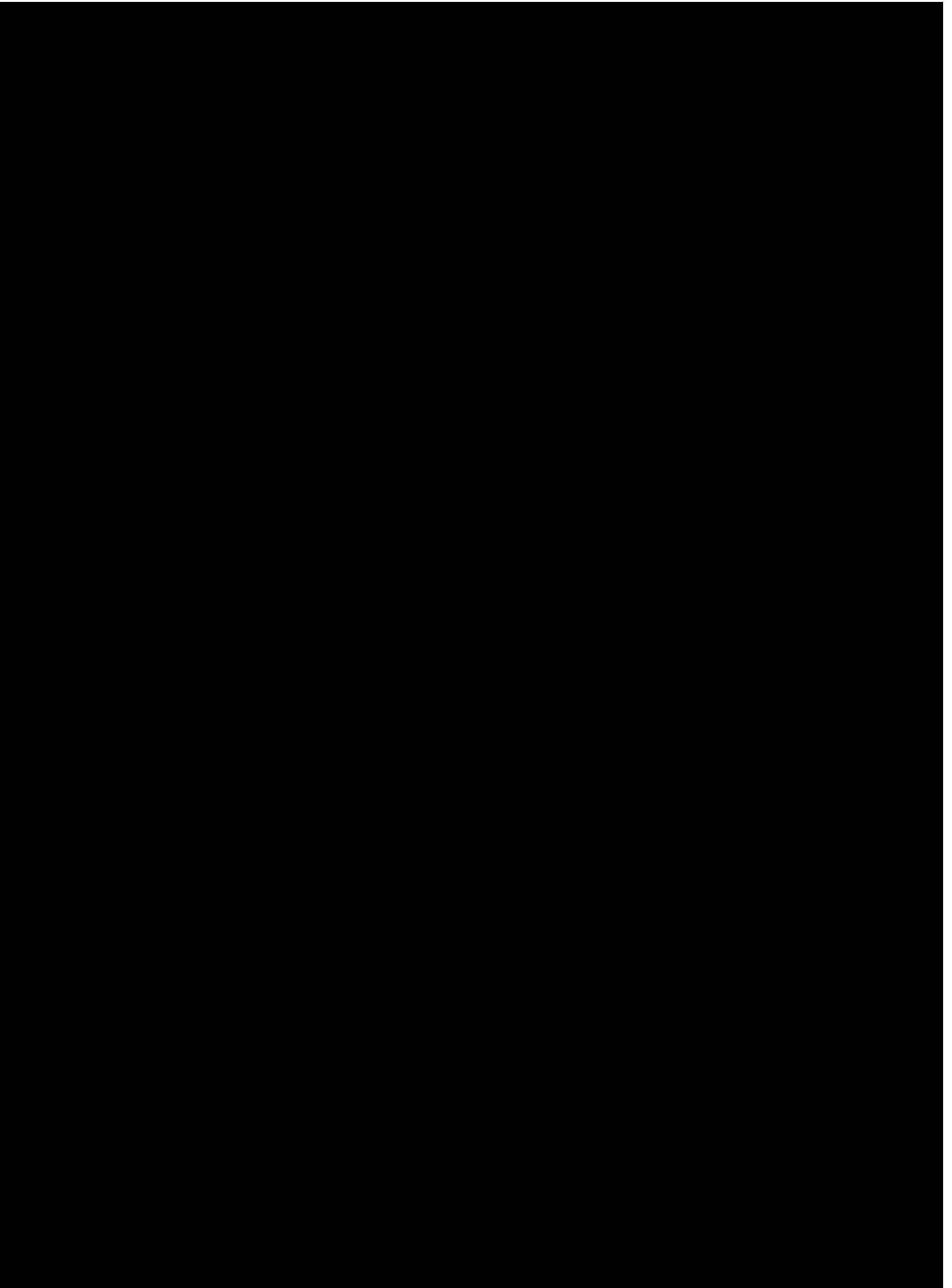
(別添2) <参考> 抗原のロット番号のみがAFLPA313AAと判明しており、箱 (shoebox) のロット番号がA80CA007Aに該当する可能性のある症例 (2009年12月16日時点)

No.	GSK管理番号	MFR No.	Lot No.	性別	年齢	副反応名	重篤性	副作用発現日	転帰	接種日から発現までの時間	接種日	情報源詳細
1	K200917176	A0817954A	AFLPA313AA	女	22歳	アレルギー反応 咽喉腫脹	重篤(準重) 非重篤	2009/11/3 2009/11/3	不明 不明	不明	2009/11/3	規制当局

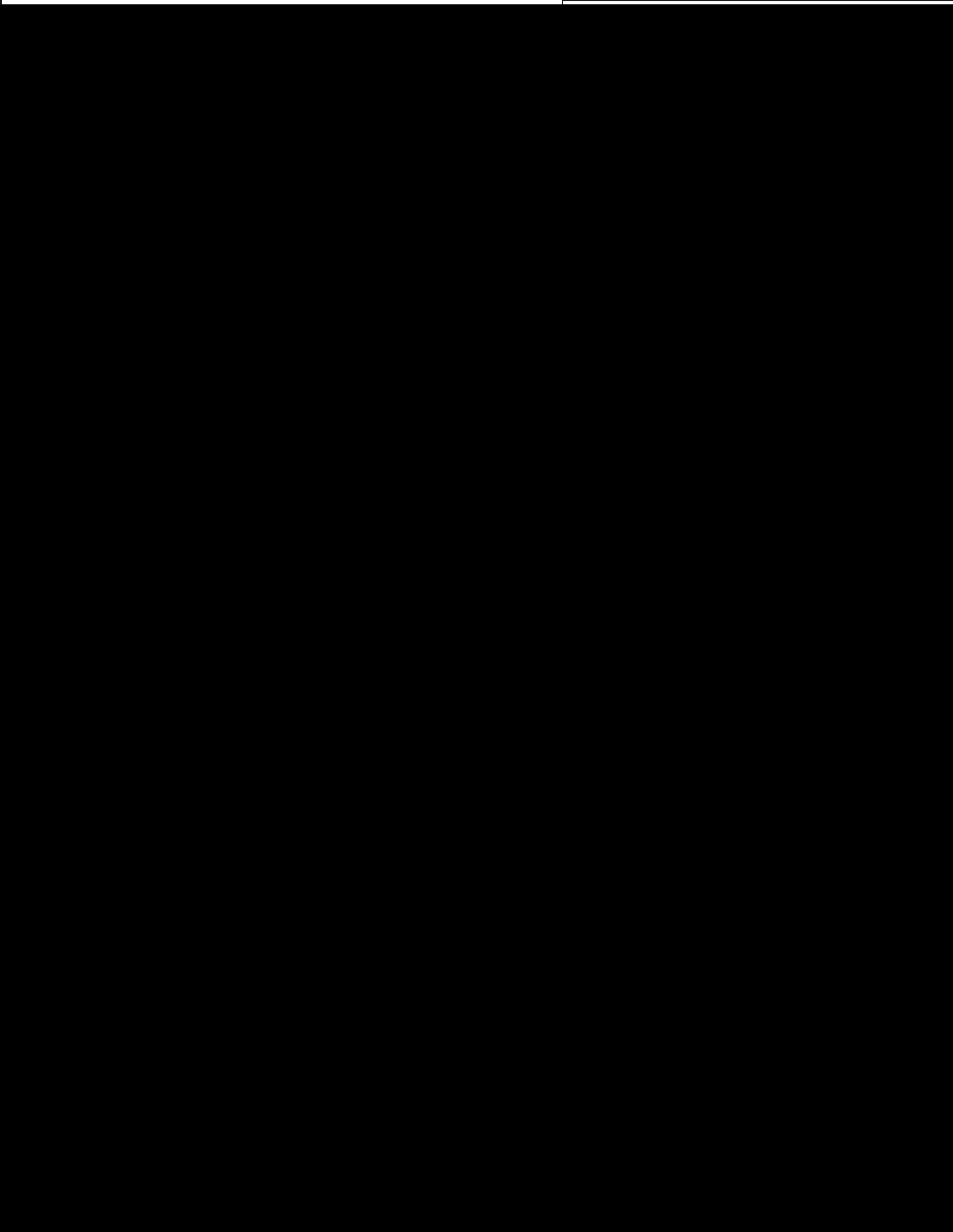
<参考> アジュバントのロット番号のみがAA3BA027AAと判明しており、箱 (shoebox) のロット番号がA80CA007Aに該当する可能性のある症例 (2009年12月16日時点)
該当なし

INTERNATIONAL EVENT REPORT



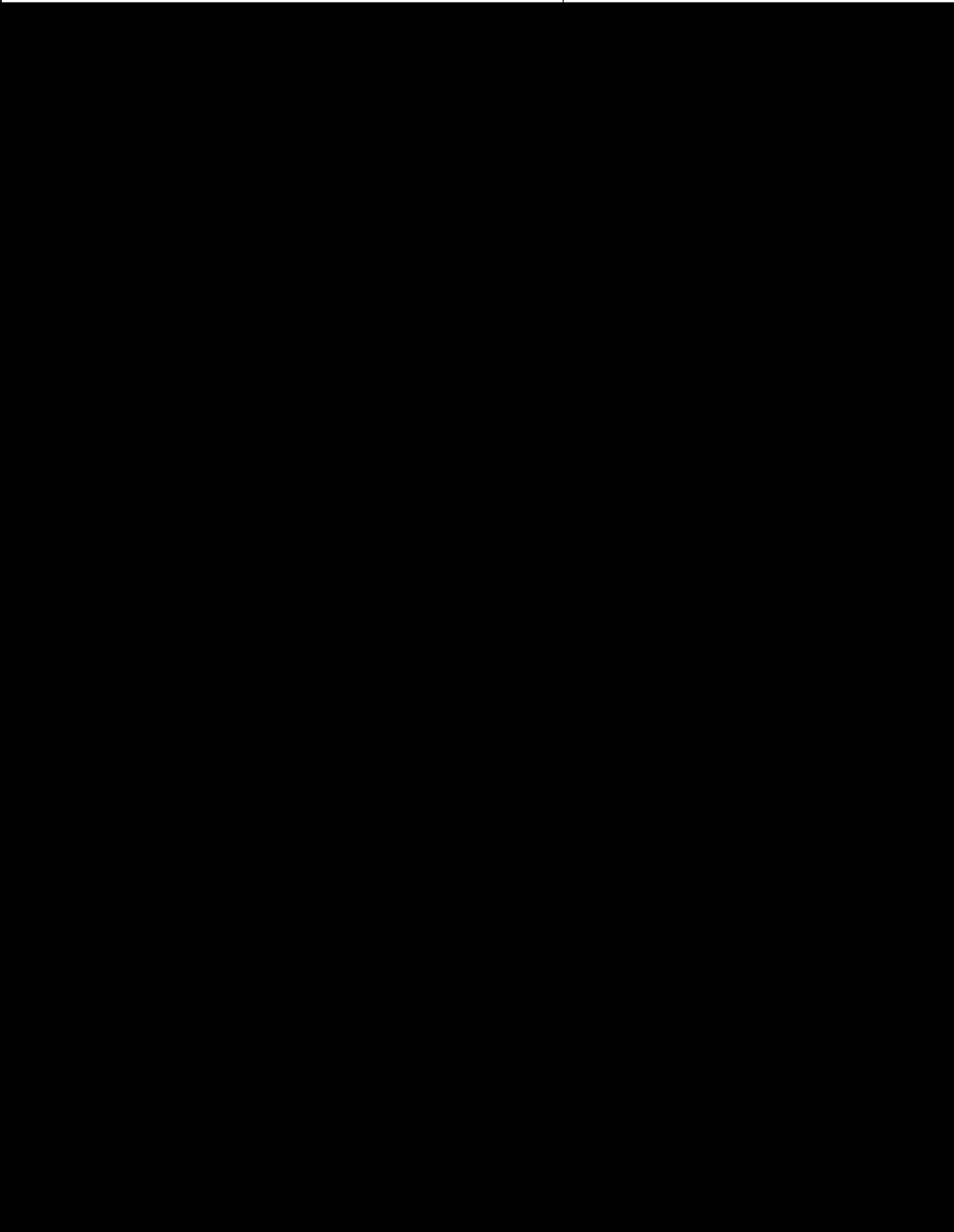


INTERNATIONAL EVENT REPORT



[The following text is completely obscured by a large black redaction box.]

INTERNATIONAL EVENT REPORT

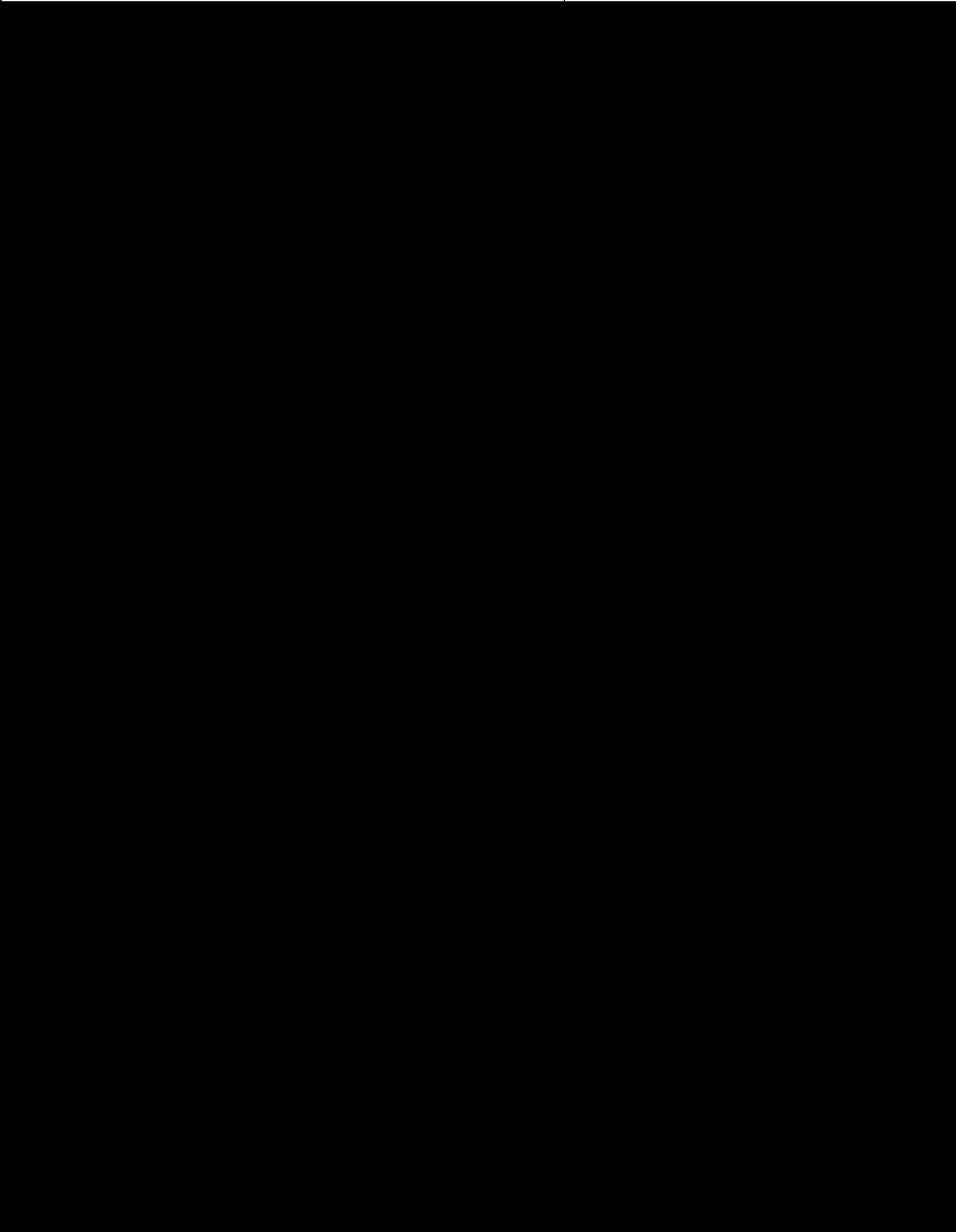


The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry, no matter how small, should be recorded to ensure the integrity of the financial data. This includes not only sales and purchases but also expenses and income. The document provides a detailed list of items that should be tracked, such as inventory levels, supplier payments, and customer orders. It also outlines the procedures for recording these transactions, including the use of specific forms and the assignment of responsibilities to different staff members.

The second part of the document focuses on the analysis of the recorded data. It describes various methods for identifying trends and anomalies in the financial performance. This includes comparing current data with historical trends, as well as benchmarking against industry standards. The document also discusses the importance of regular reviews and reports to management, highlighting the need for transparency and accountability. It provides examples of how to present this information in a clear and concise manner, using charts and graphs to illustrate key findings.

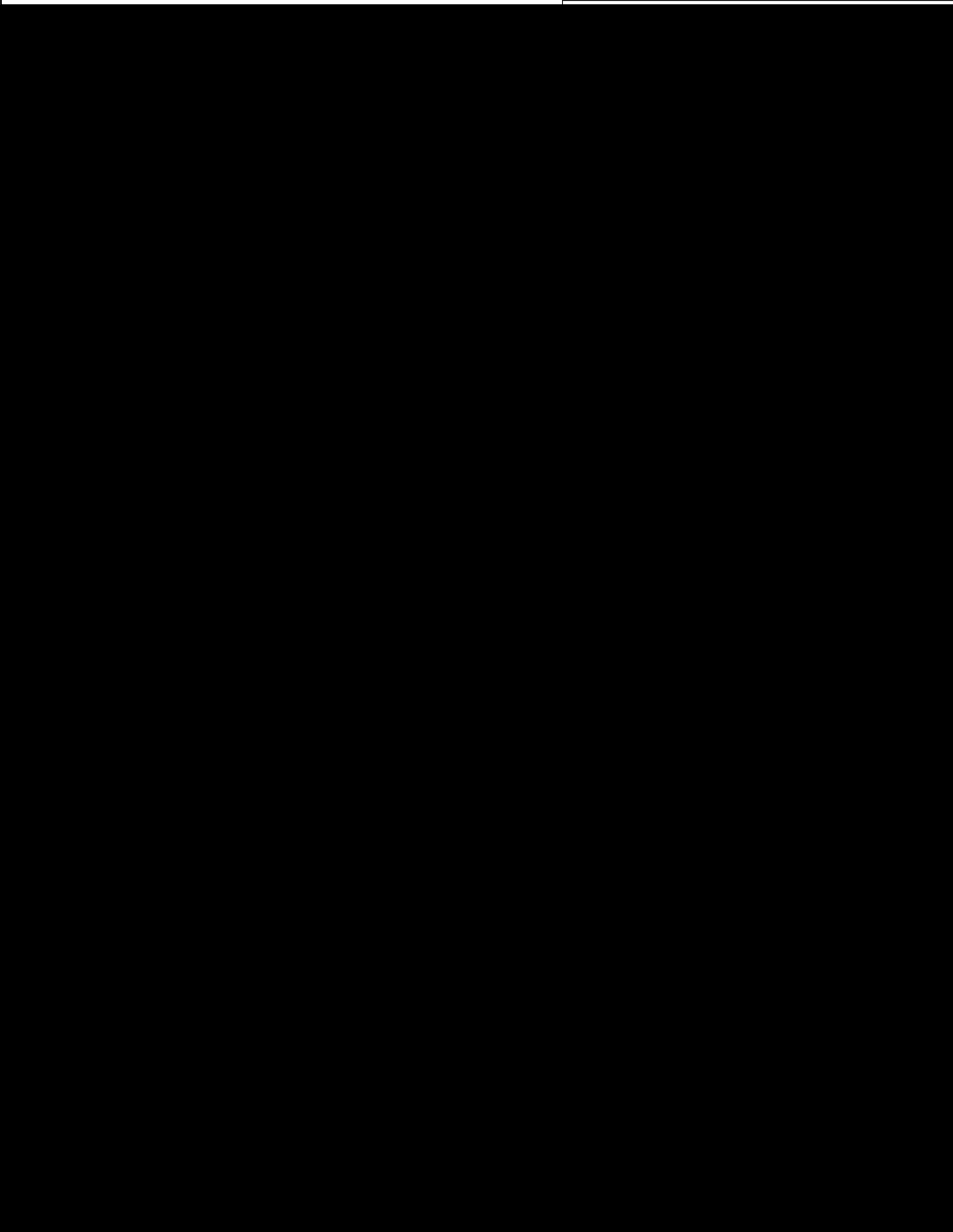
The final part of the document addresses the overall financial health of the organization. It discusses the impact of various factors, such as market conditions and operational efficiency, on the bottom line. It also provides recommendations for improving financial performance, such as optimizing inventory levels and negotiating better terms with suppliers. The document concludes by emphasizing the role of accurate record-keeping in achieving long-term success and sustainability.

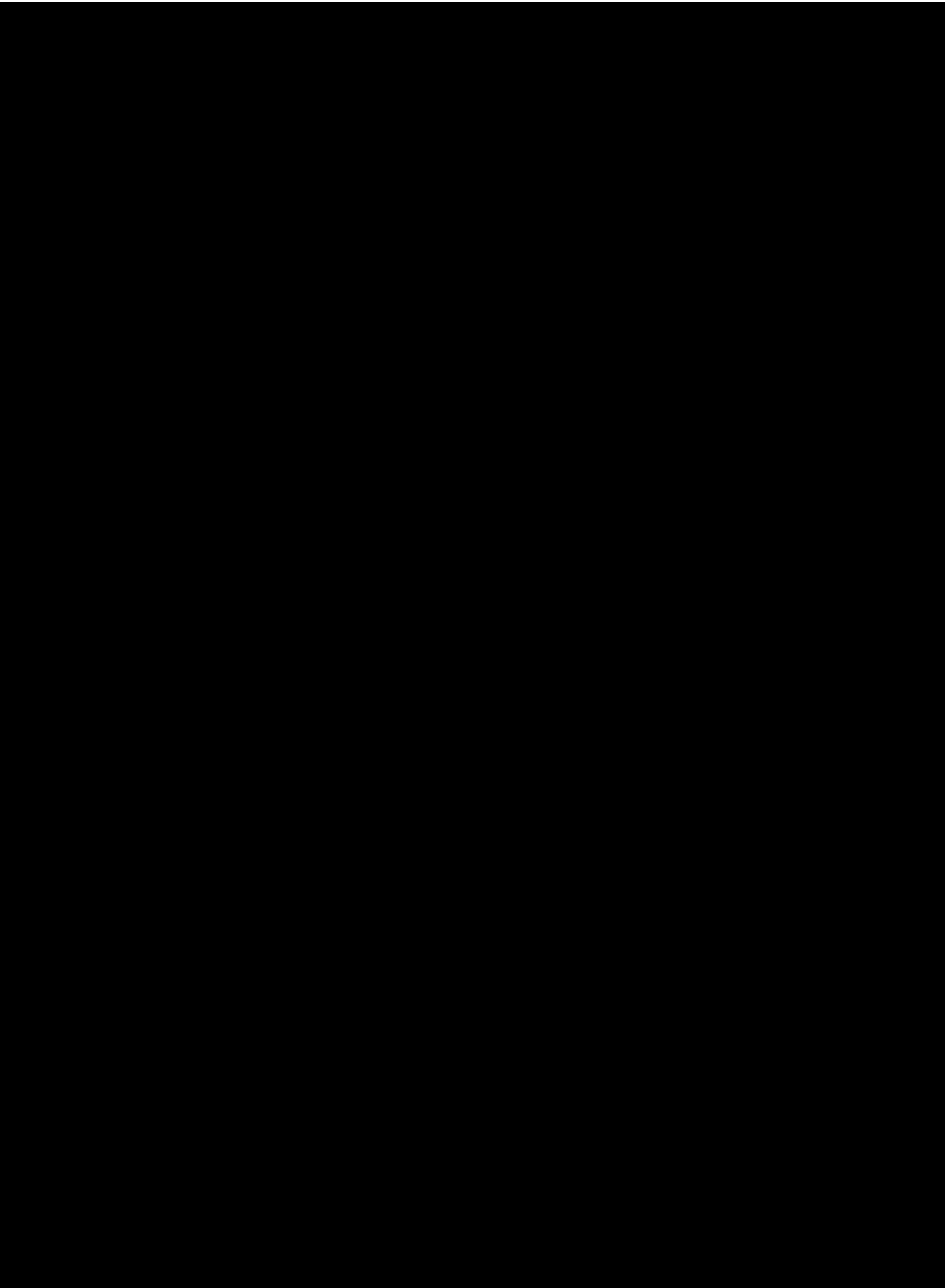
INTERNATIONAL EVENT REPORT



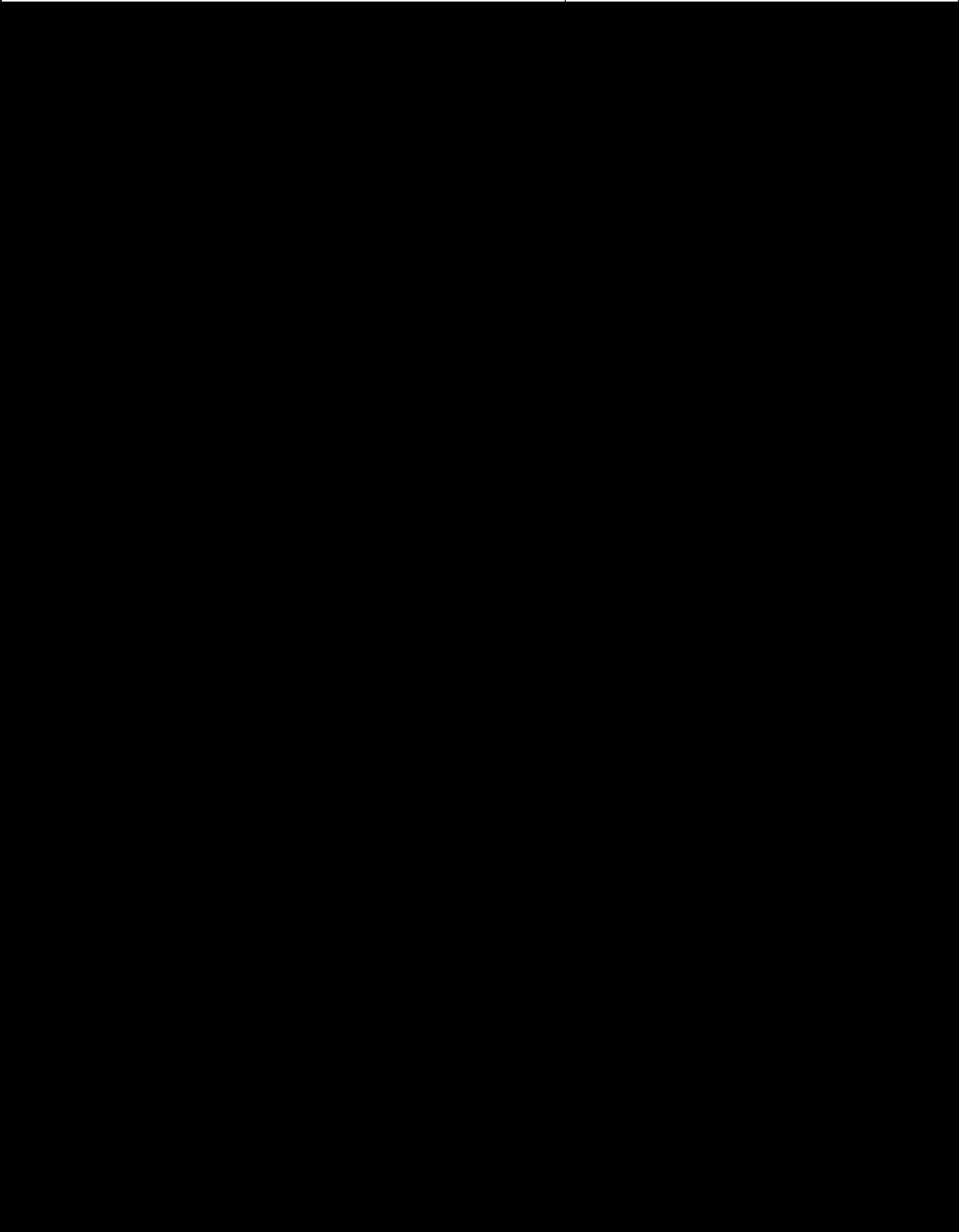
[The following text is completely obscured by a large black redaction box.]

INTERNATIONAL EVENT REPORT





INTERNATIONAL EVENT REPORT

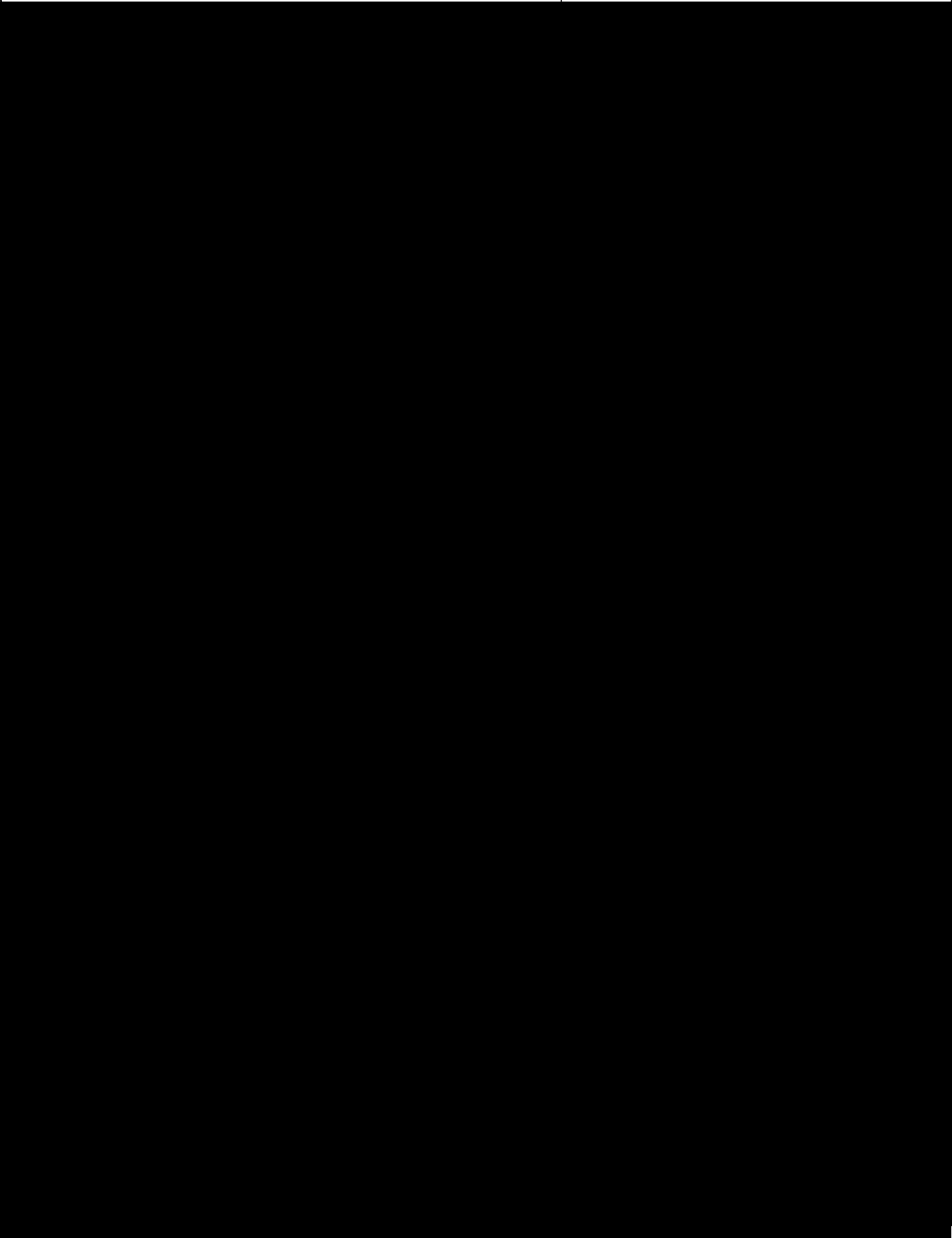


The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry, no matter how small, should be recorded to ensure the integrity of the financial data. This includes not only sales and purchases but also expenses and income. The document provides a detailed list of items that should be tracked, such as inventory levels, accounts payable, and accounts receivable. It also outlines the procedures for recording these transactions, including the use of double-entry bookkeeping to ensure that the books are balanced.

The second part of the document focuses on the analysis of the financial data. It explains how to calculate key financial ratios and metrics, such as the gross profit margin, operating profit margin, and return on investment. These calculations are essential for understanding the company's financial performance and identifying areas for improvement. The document also discusses the importance of comparing the company's performance to industry benchmarks and providing a clear explanation of the reasons for any variances.

The final part of the document addresses the reporting requirements for the financial data. It outlines the format and content of the financial statements, including the balance sheet, income statement, and cash flow statement. It also discusses the importance of providing a clear and concise explanation of the results and any significant changes in the data. The document concludes by emphasizing the need for transparency and accuracy in all financial reporting.

INTERNATIONAL EVENT REPORT



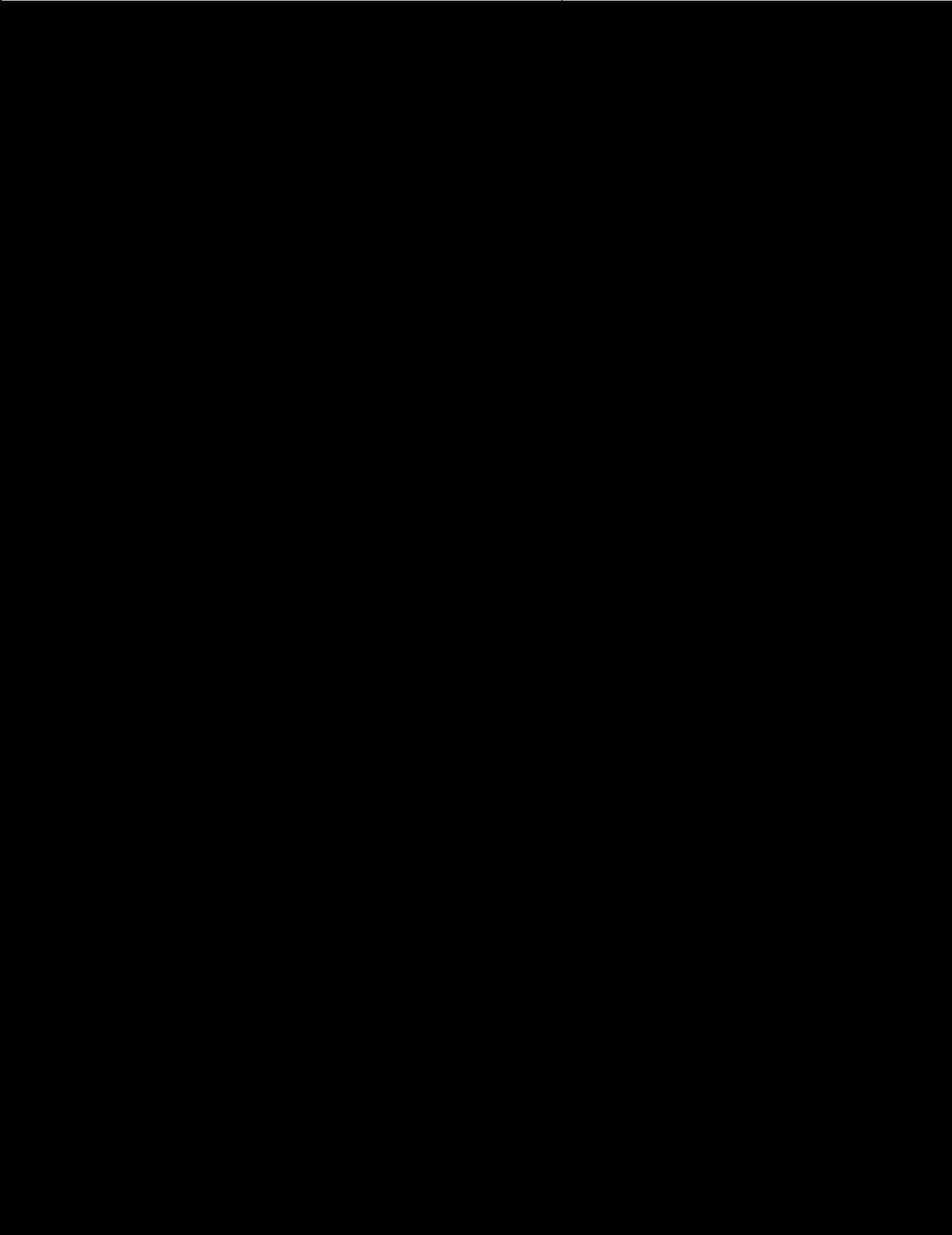
The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every receipt, invoice, and bill should be properly filed and indexed for easy retrieval. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations.

Next, the document outlines the process of reconciling bank statements. It advises that this should be done monthly to identify any discrepancies between the bank's records and the company's books. Any differences should be investigated immediately to prevent errors from compounding.

The following section covers the preparation of financial statements. It details the steps for calculating net income, determining the cost of goods sold, and preparing the income statement. It also provides a template for the balance sheet and the statement of cash flows.

In the final part of the document, the author discusses the importance of budgeting and forecasting. It suggests that a well-defined budget can help in controlling costs and identifying areas for improvement. Additionally, forecasting future financial performance can assist in making informed strategic decisions.

INTERNATIONAL EVENT REPORT



...the first of these is the fact that the ...

...the second of these is the fact that the ...

...the third of these is the fact that the ...

...the fourth of these is the fact that the ...

...the fifth of these is the fact that the ...

...the sixth of these is the fact that the ...

...the seventh of these is the fact that the ...

...the eighth of these is the fact that the ...

...the ninth of these is the fact that the ...

...the tenth of these is the fact that the ...

...the eleventh of these is the fact that the ...

...the twelfth of these is the fact that the ...

...the thirteenth of these is the fact that the ...

...the fourteenth of these is the fact that the ...

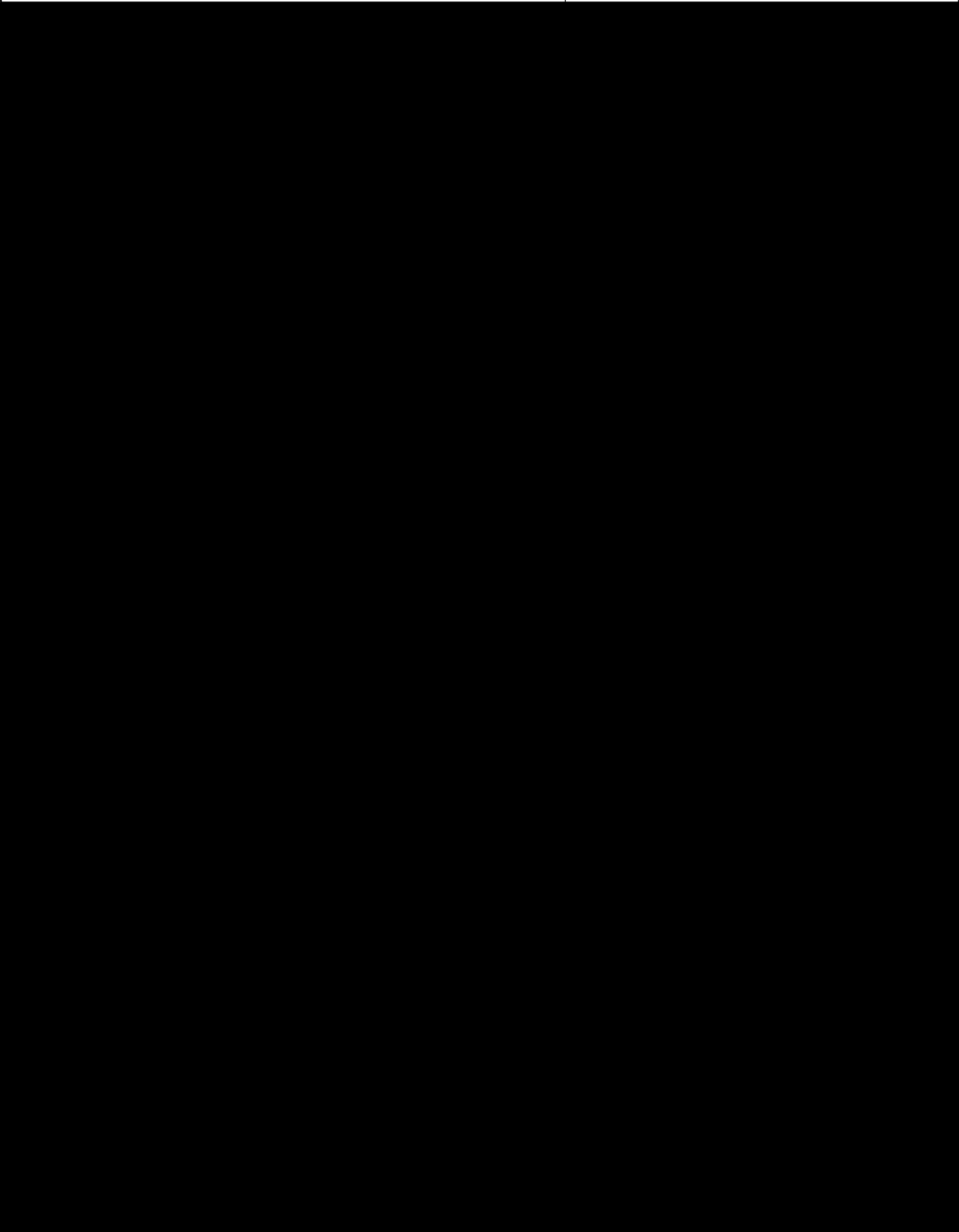
...the fifteenth of these is the fact that the ...

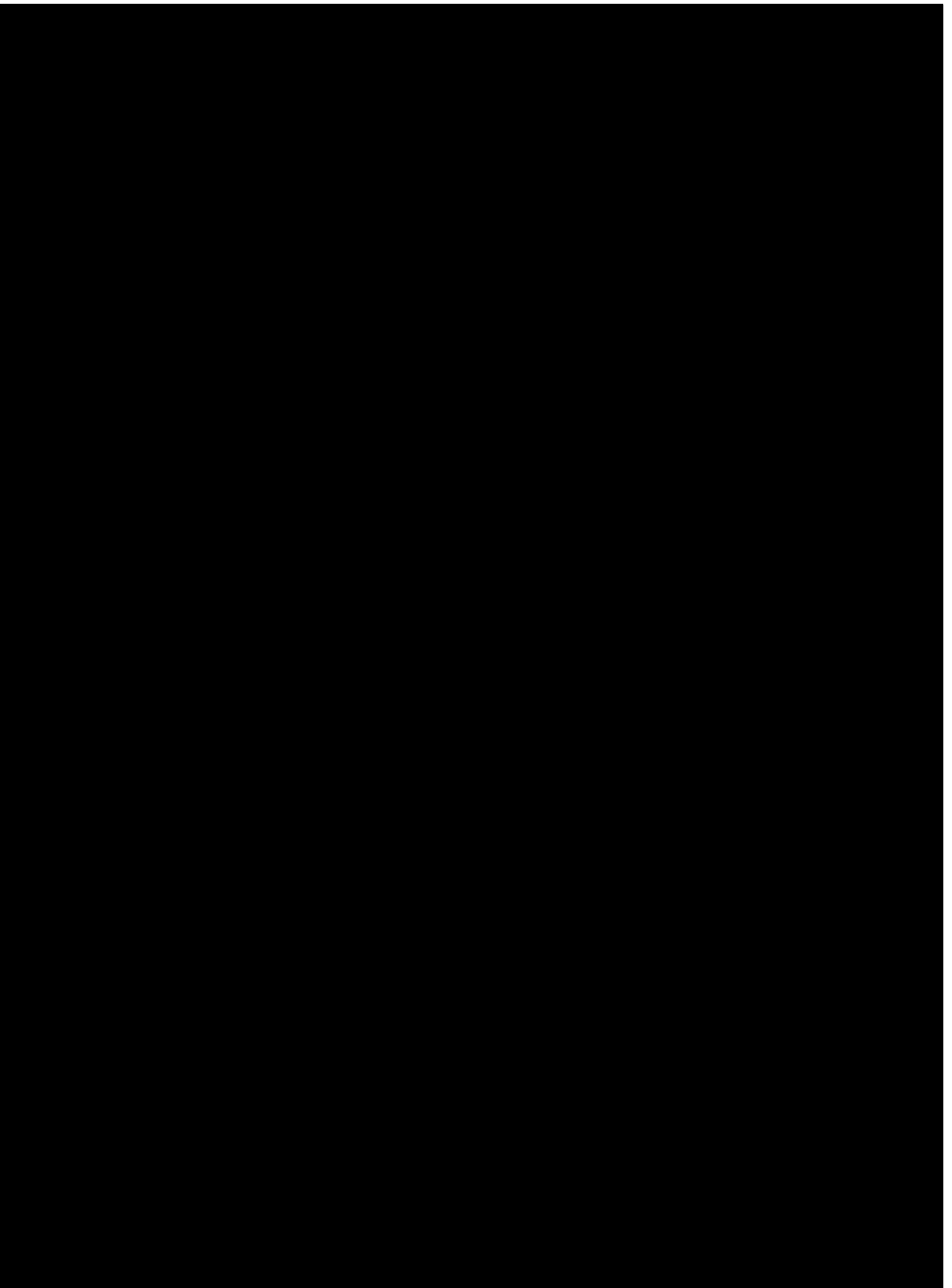
...the sixteenth of these is the fact that the ...

...the seventeenth of these is the fact that the ...

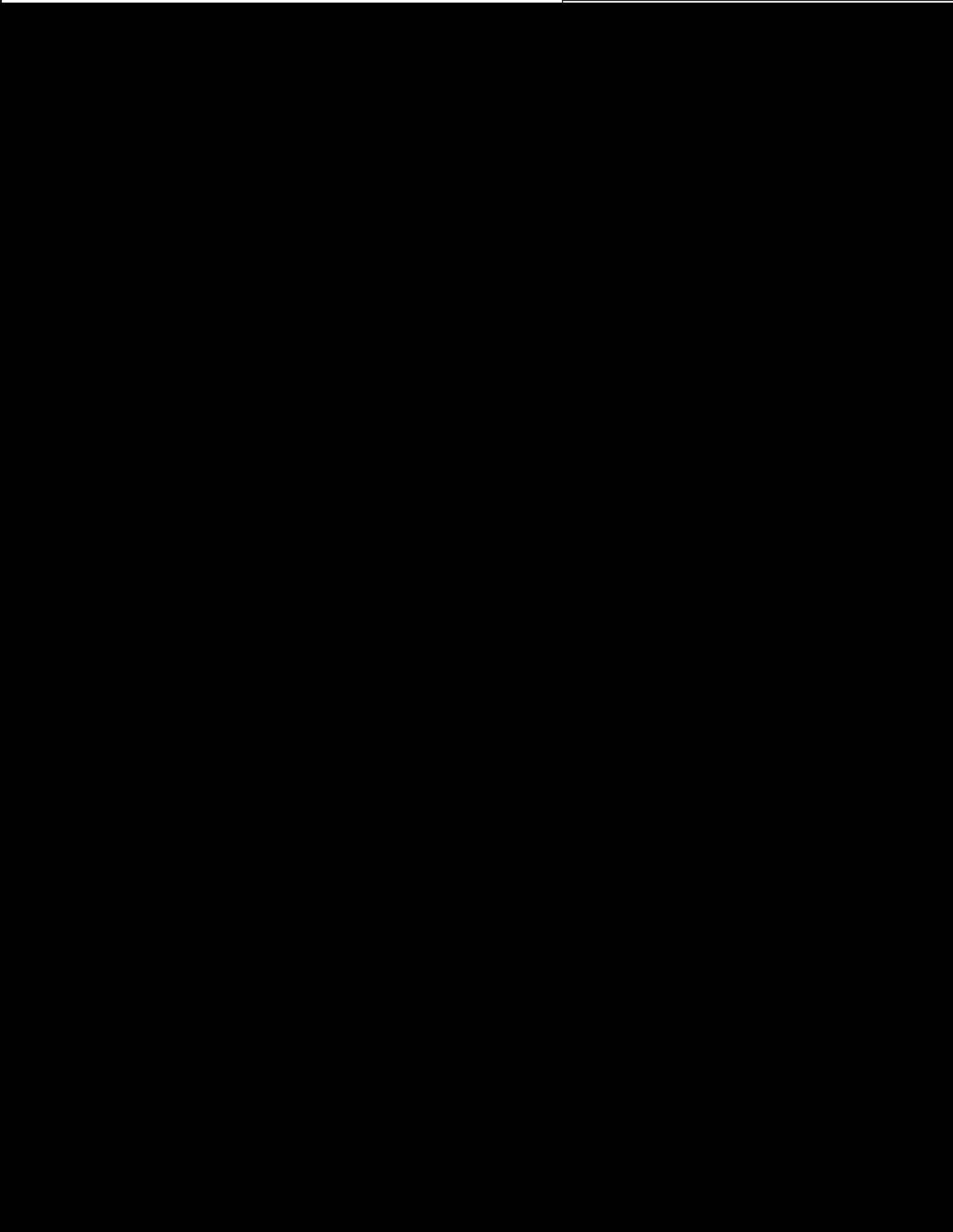
...the eighteenth of these is the fact that the ...

INTERNATIONAL EVENT REPORT



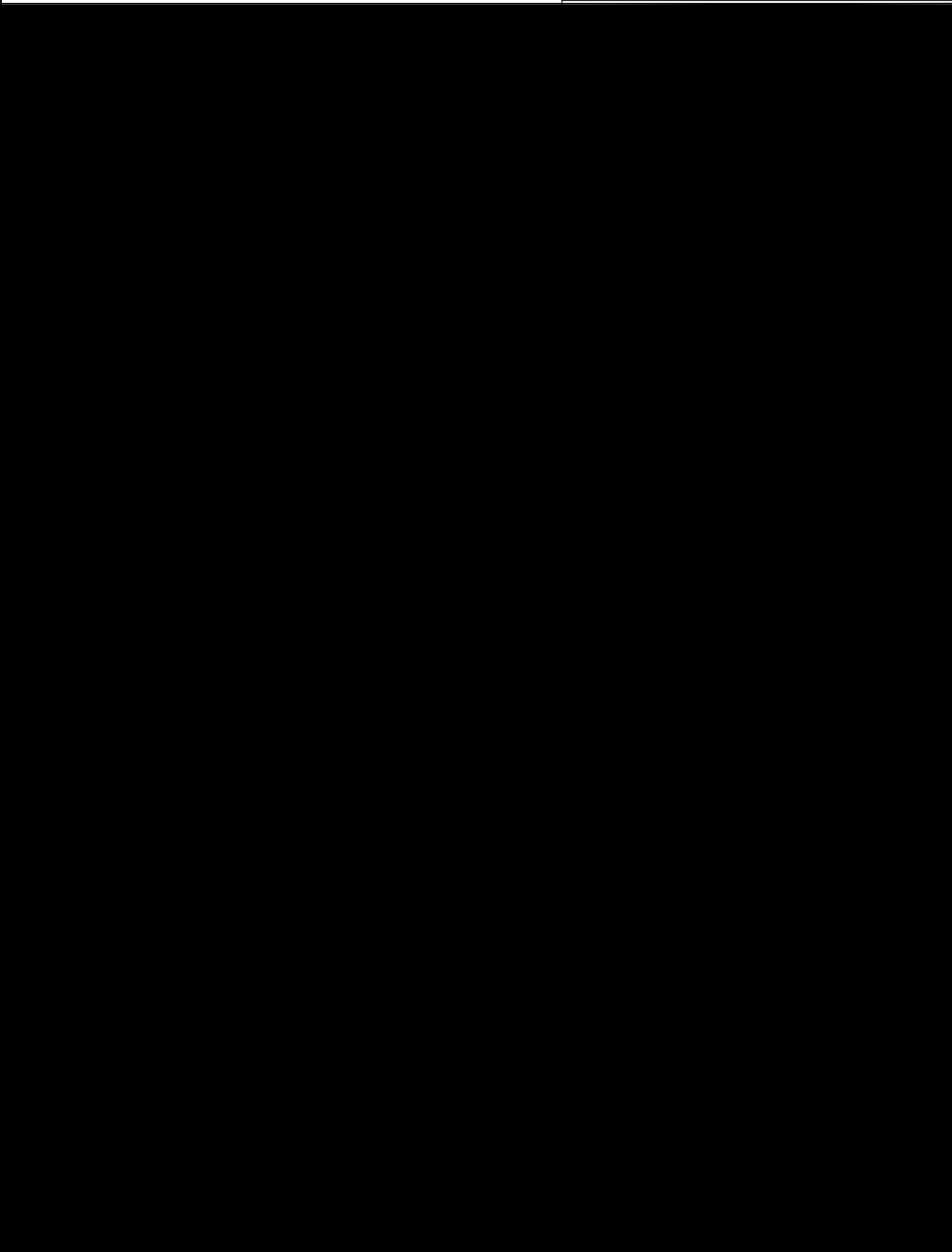


INTERNATIONAL EVENT REPORT



[The following text is completely obscured by a large black redaction box.]

INTERNATIONAL EVENT REPORT



...the first of these is the fact that the ...

...the second of these is the fact that the ...

...the third of these is the fact that the ...

...the fourth of these is the fact that the ...

...the fifth of these is the fact that the ...

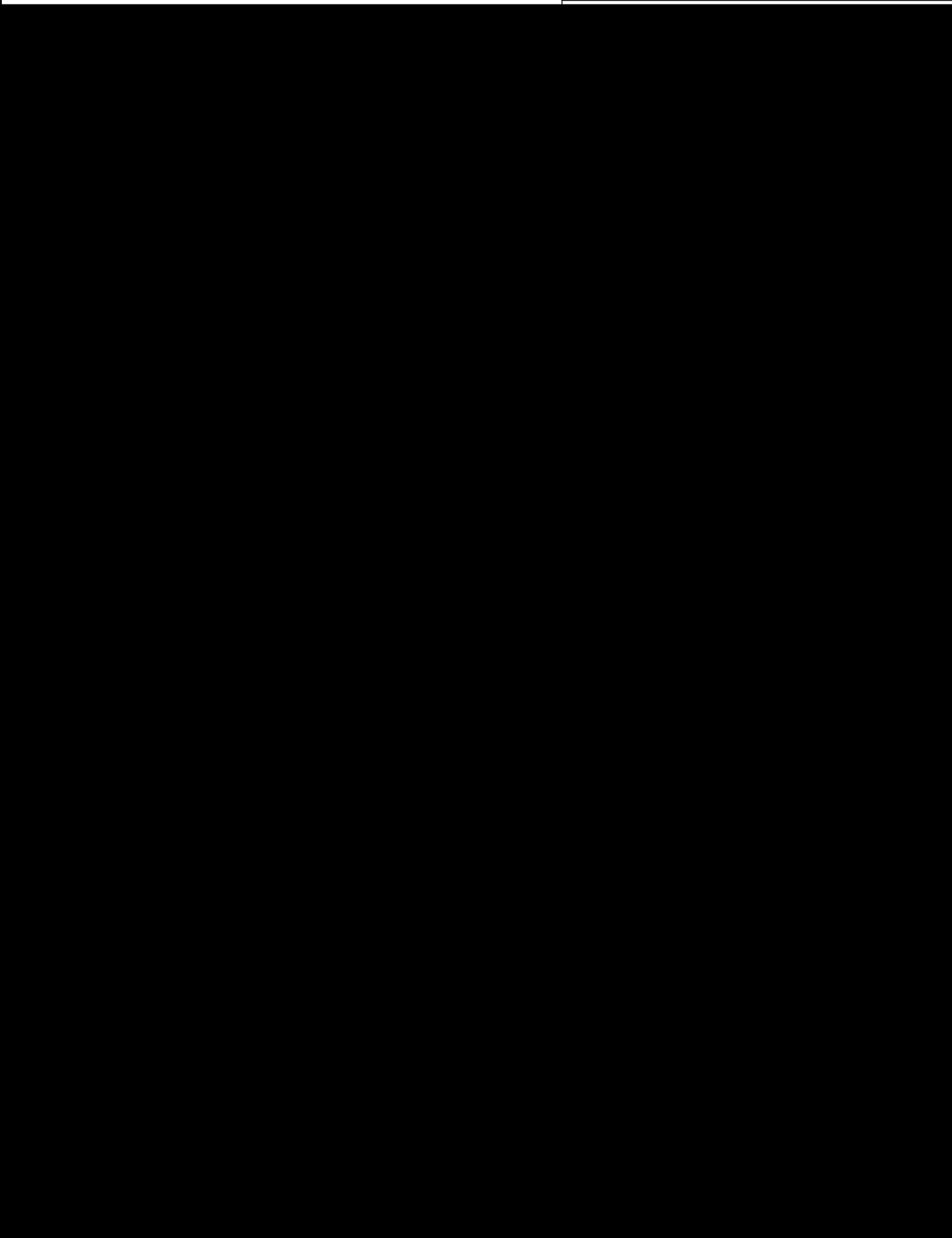
...the sixth of these is the fact that the ...

...the seventh of these is the fact that the ...

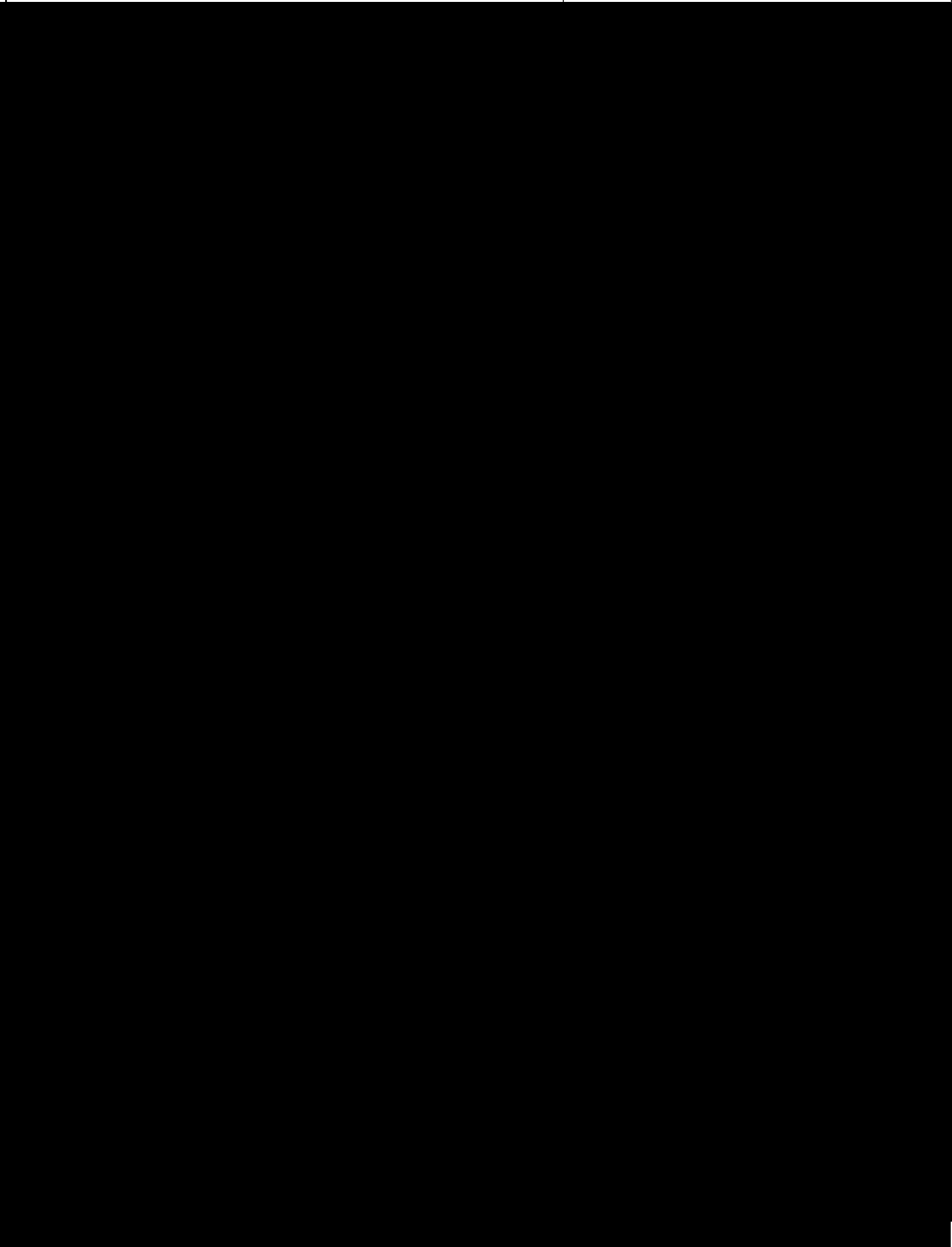
...the eighth of these is the fact that the ...

...the ninth of these is the fact that the ...

INTERNATIONAL EVENT REPORT



INTERNATIONAL EVENT REPORT



...the first of these is the fact that the ...

...the second of these is the fact that the ...

...the third of these is the fact that the ...

...the fourth of these is the fact that the ...

...the fifth of these is the fact that the ...

...the sixth of these is the fact that the ...

...the seventh of these is the fact that the ...

...the eighth of these is the fact that the ...

...the ninth of these is the fact that the ...

...the tenth of these is the fact that the ...

...the eleventh of these is the fact that the ...

...the twelfth of these is the fact that the ...

...the thirteenth of these is the fact that the ...

...the fourteenth of these is the fact that the ...

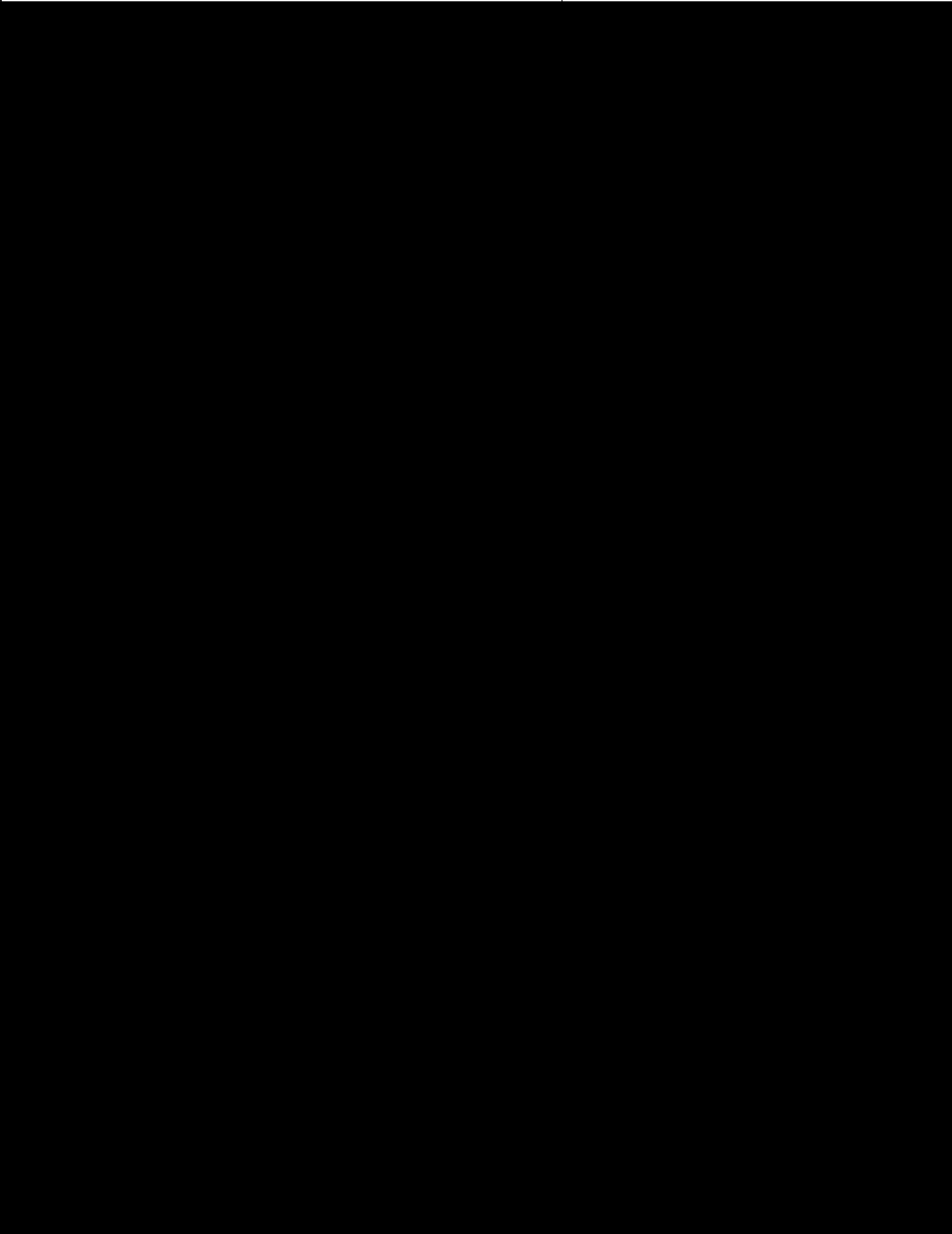
...the fifteenth of these is the fact that the ...

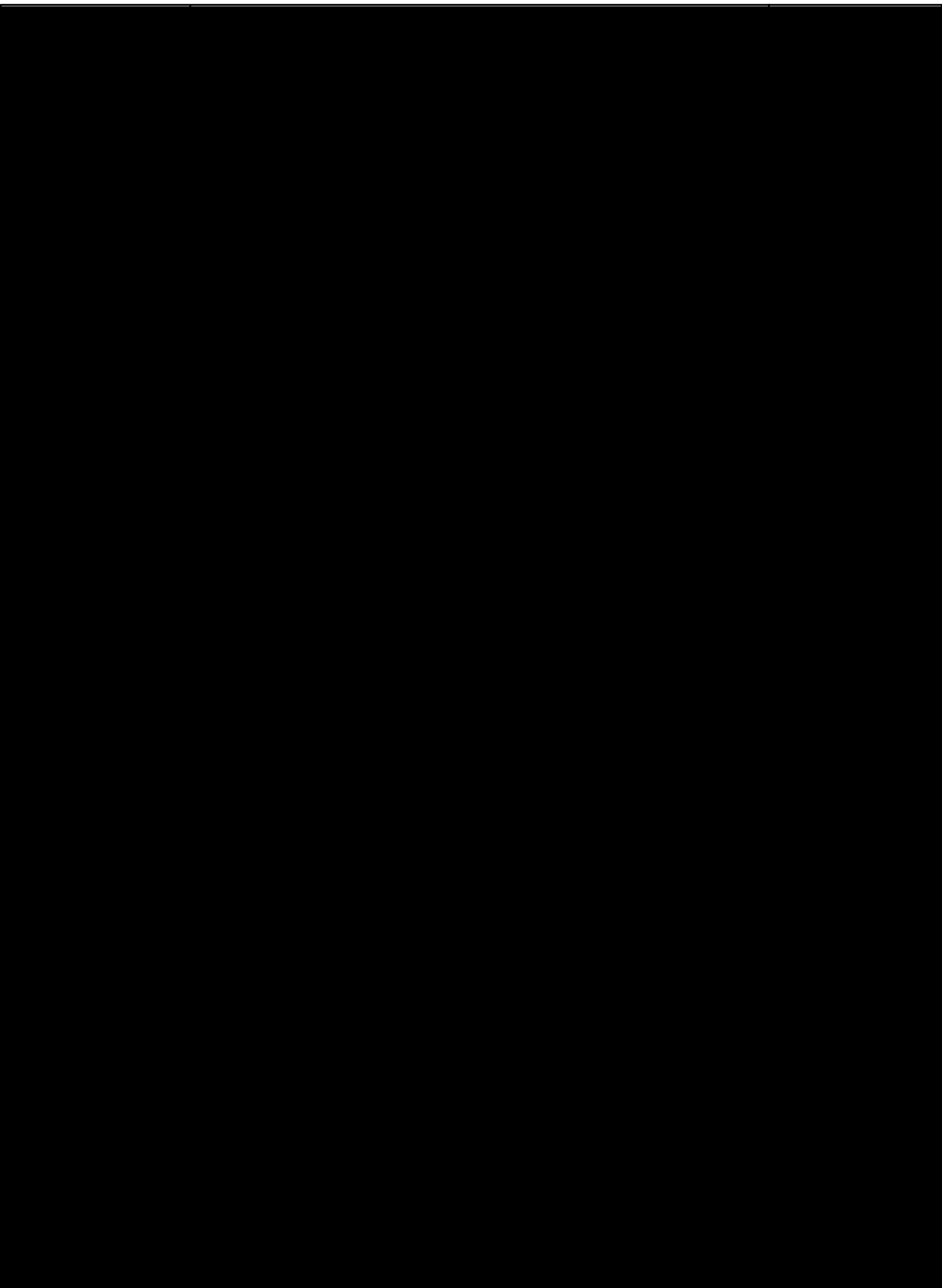
...the sixteenth of these is the fact that the ...

...the seventeenth of these is the fact that the ...

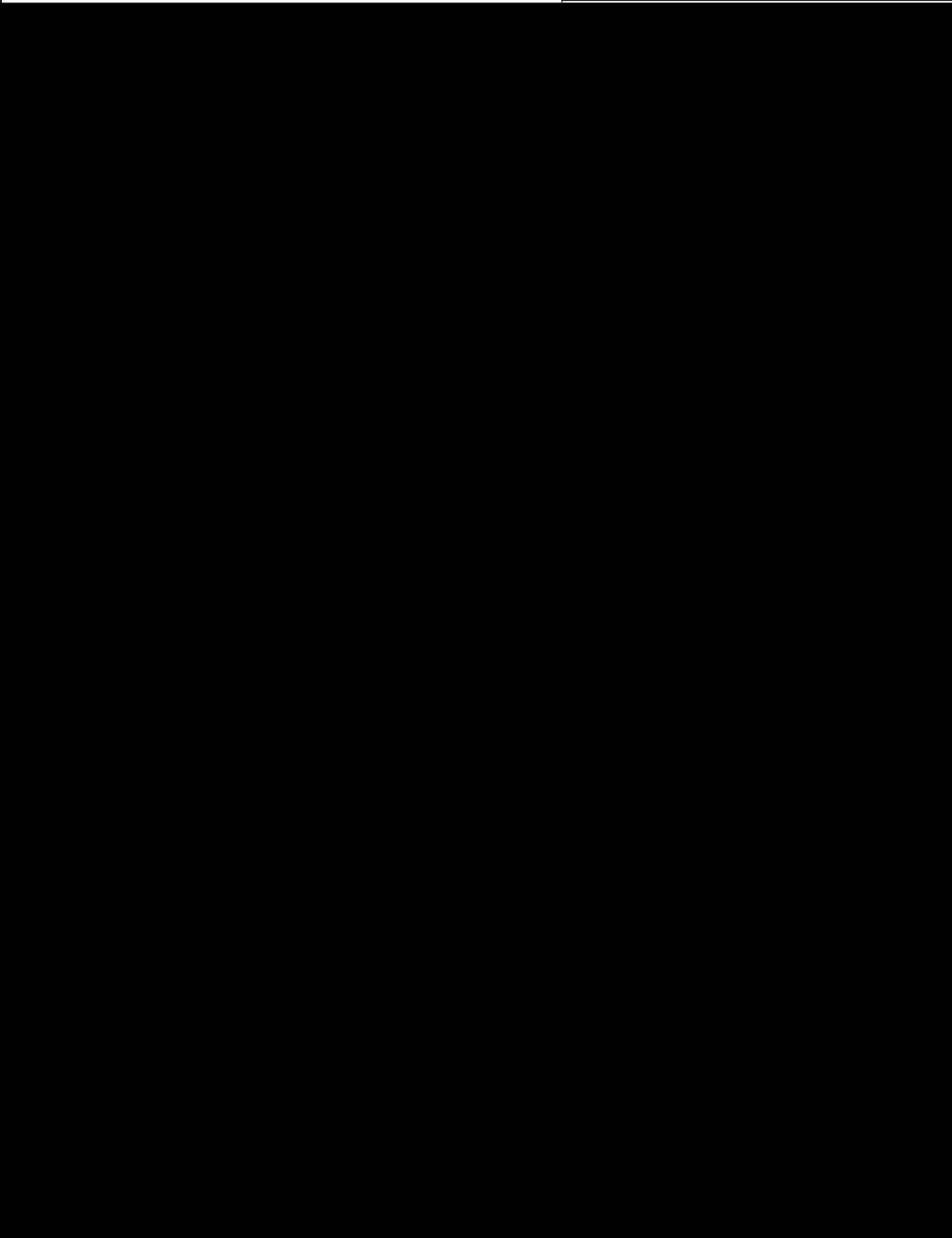
...the eighteenth of these is the fact that the ...

INTERNATIONAL EVENT REPORT





INTERNATIONAL EVENT REPORT



...the first of the ...

...the second of the ...

...the third of the ...

...the fourth of the ...

...the fifth of the ...

...the sixth of the ...

...the seventh of the ...

...the eighth of the ...

...the ninth of the ...

...the tenth of the ...

...the eleventh of the ...

...the twelfth of the ...

...the thirteenth of the ...

...the fourteenth of the ...

...the fifteenth of the ...

...the sixteenth of the ...

...the seventeenth of the ...

...the eighteenth of the ...

新型インフルエンザワクチン 医療従事者用説明資料案

はじめに

本剤は「緊急措置」として薬事法第 14 条の 3 で規定する特例承認の制度が適用された薬剤であり、有効性・安全性に関する情報（アジュバントの使用や凝集等）は引き続き収集中である。このため、使用前には添付文書並びに本文書の記載内容をよく読み、被接種者への十分な注意喚起を行う。

1. 名称

アレパンリックス（H1N1）筋注 [海外の名称：Arepanrix（H1N1）]

なお、本剤については、「緊急措置」として薬事法第14条の3で規定する特例承認¹の制度が適用されている。

2. 会社

グラクソ・スミスクライン株式会社

3. 製法の概要

本剤は、ワクチン製造用 A 型インフルエンザウイルス株を発育鶏卵で増殖させ、得られたウイルスを精製し、紫外線照射及びホルムアルデヒド処理により不活化した後、ショ糖密度勾配遠心法等により精製濃縮する。さらにデオキシコール酸ナトリウムにより処理して HA 画分浮遊液とした後、デオキシコール酸ナトリウムを除去し、チメロサルを添加し希釈調製した液剤である。

なお、本剤の製造工程でウシ(以下に示す日本の生物由来原料基準を満たさない原産国を含む)またはヒツジの胆汁由来のデオキシコール酸ナトリウムを使用している。TSE（伝達性海綿状脳症）を発症するリスクを完全に排除することはできないが、この成分は欧州医薬品審査庁のガイドラインを遵守して製造されているため、理論的なリスク評価上はその可能性は極めて低いものと考えられる。

本剤の製造で使用しているウシにつき日本の基準を満たさない原産国：カナダ、チリ、エクアドル、メキシコ、南アフリカ、米国及びベネズエラ

4. 用法・用量

成人及び 10 歳以上の小児：

抗原製剤を添付の専用混和液と混合し、通常、その 0.5mL を 1 回、筋肉内に注射する。

¹ 海外で承認されたことを前提として、国内での通常の承認手続きを行わず緊急的に承認するもの

6 ヶ月以上 10 歳未満の小児：

抗原製剤を添付の専用混和液と混合し、通常、その 0.25mL を 1 回、筋肉内に注射する。

なお、他の生ワクチンの接種を受けた者は、通常、27 日以上、また他の不活化ワクチンの接種を受けた者は、通常、6 日以上間隔をおいて本剤を接種する。

5. 有効性・安全性

国産の新型インフルエンザワクチンの効果については、現在、国内で使用されている季節性インフルエンザワクチンと同様、重症化や死亡の防止について一定の効果があると期待されるが、感染防止に対しては効果が保証されるものではない。また、極めてまれではあるが、重篤な副作用も起こり得る。海外で製造された本剤についても、国産の新型インフルエンザワクチンと同程度の効果が期待できるが、AS03 と呼ばれる国内で初めて使用される免疫増強剤（アジュバント）が使われている。これは一日でも早く多くのワクチンを供給するために、1 回の接種に必要なワクチンの主要成分（抗原）の量を減らすことと、ワクチンの効き目を高めるために使われている。この免疫増強剤の主成分は DL- α -トコフェロール（ビタミン E）、スクワレン（サメ肝油）及びポリソルベート 80（乳化剤）である。免疫増強剤を含む本剤は、有効性と安全性を検討する国内外の臨床試験が実施されているものの、本剤を広く一般の人達に接種した場合の安全性には未知の部分がある。

なお、本剤の抗原製剤バイアル内に直径1mm以下の白色のわずかな沈殿または浮遊物が観察されることがあるが、これは本剤の抗原の性質に由来して生ずる内因性の凝集物である。国内外で実施された臨床試験に使用した本剤にもこのような凝集物は認められている。凝集物の有無によって本剤の有効性と安全性を直接比較した結果は得られていない。しかしながら、国外で実施された本剤及びPandemrix²の臨床試験、並びに国内で実施された本剤の臨床試験成績から両剤の有効性と安全性は類似しており、凝集物が効果及び安全性に影響を与えると知見は得られていない。なお、臨床試験では例数が限られていることから、発生頻度の低い有害事象についての影響は明確ではなく、調査を継続的に実施している。また、国内に供給される抗原製剤の凝集物について定量的に評価を行う方法を、現在検討している。

もし1mmを超える白色の沈殿または浮遊物が抗原製剤に認められた場合、またはガラス片・ゴム片などの明らかな異物がどちらかのバイアル内に認められる場合は、バイアルは使用せずにグラクソ・スミスクライン社に連絡する。

本剤に関する異常毒性否定試験の用量検討において、モルモット及びマウスで急性毒性（肝障害、出血を伴う循環不全、胸水貯留を伴う炎症反応）が発現したことが報告されているが、高用量（体重換算した場合、ヒトへの接種量の 1000 倍以上に相当）の腹腔内投与における結果である。また、本剤の臨床適用は筋肉内投与であり、腹腔内投与とは異なり、内部臓器に直接暴露されることはない。適切な試験系で実施した非臨床安

²製造場所、製造方法及び処方本剤と異なり、また、凝集物が認められなかった新型インフルエンザワクチン(H1N1 の HA 抗原 3.75 μ g+アジュバント AS03)

全性試験では臨床使用において危惧される悪影響は見られず、臨床試験成績、EU（同じアジュバントを使用した鶏卵培養の H1N1 ワクチンを使用）での使用実績、カナダでの使用実績等を踏まえると安全性の問題に直接結びつくものではないと考えられる。

6. 接種

混合方法

混合は以下の手順で行う。

- ① 混合する抗原製剤及び専用混和液は同じカートンに入っているバイアルを使用し、別カートンの抗原製剤または専用混和液と混合しない。
- ② ゴム栓の破損を防ぐため、抗原製剤及び専用混和液を混合前に室温に戻し（少なくとも 15 分間以上が望ましい）、よく振り混ぜ、外観に異常がないこと、またガラス片やゴム片等の明らかな異物を含まないことを確認する。
- ③ バイアルの側面に最初に吸引する日時を記載する。その後、バイアルのキャップ及びその周囲をアルコール消毒し乾燥させてからキャップを外す。混合用注射筒・注射針で白濁した専用混和液を吸引し、抗原製剤の入ったバイアルに加える。
- ④ この混合物をよく振り混ぜると、白濁する乳白色となる。
- ⑤ 得られた混合物は、10 回接種分(成人及び 10 歳以上の小児の場合)、または 20 回接種分（6 ヶ月以上 10 歳未満の小児の場合）のワクチンとなる（5mL）。本剤の混合は接種直前に行い、一度調整したものは、凍結を避けて冷蔵または常温にて保存して、24 時間以内に使用する。
- ⑥ 使用前によく振り混ぜ、接種用注射筒・注射針で 1 回接種分 0.5mL（成人及び 10 歳以上の小児の場合）、または 0.25mL（6 ヶ月以上 10 歳未満の小児の場合）を吸引する。接種分を吸引する際には毎回異物が含まれないことを確認する。なお、混合液は接種前に室温に戻す（少なくとも 15 分間以上が望ましい）。
- ⑦ 接種後、注射筒、注射針は医療廃棄物として廃棄する。

接種方法

接種は以下の部位に対する筋肉内注射により行う。

- ① 1 歳以上は原則として上腕三角筋部とする。
- ② 1 歳未満の小児に接種する際の筋肉部位は、原則として大腿前外側部（上前腸骨棘と膝蓋骨を結ぶ中点付近で、線よりやや外側）とする。
- ③ 臀部への筋肉内接種は一般的に合併症が多いことから、臀部への接種は極力避ける。

なお、使用する注射針の推奨ゲージは以下の通りである。

混合用注射針 23G

接種用注射針 23-25G

*20 ゲージの注射針をバイアルに刺入した際に、ゴム栓が破損しバイアル内に混入したとの報告が海外であったため、注射液の調製には必ず推奨されたゲージの注射針を用いる。

また、注射針の長さについては、米国 Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) の推奨等を参考に、被接種者の年齢や体重に応じて筋肉注射に適したものを使用する。

接種後、接種したワクチンとそのロットナンバーの記録を残しておくため、製品に同封されているロットシールを、予診票（被接種者用）、予診票（医療機関控え）及びカルテに貼付する。

接種を控えるべき方

次のいずれかに該当すると認められる場合には、接種が受けられない。

1. 明らかに発熱がある（37.5℃を超える人）。
2. 重篤な急性疾患にかかっていることが明らかである。
3. 過去にインフルエンザワクチンの接種を受けて、アナフィラキシーを起したことがある。なお、他の医薬品投与を受けてアナフィラキシーを起したことがある方は、接種を受ける前に医師が判断する。
4. 妊婦または妊娠している可能性のある婦人への接種は推奨されない。
5. 上記に掲げる方その他、予防接種を行うことが不適当な状態であると判断した場合。

接種上の注意について

次のいずれかに該当する者は、健康状態や体質等をよく確認した上で接種を行う。

1. 心臓病、腎臓病、肝臓病や血液の病気などの方。
2. 発育が遅く、医師、保健師の指導を受けている方。
3. カゼなどのひきはじめと思われる方。
4. 予防接種を受けたときに、2 日以内に発熱、発しん、じん麻疹などのアレルギーを疑う異常が見られた方。
5. 薬の投与または食事（鶏卵、鶏肉など）で皮膚に発しんが出たり、体に異常をきたしたことがある方。
6. 今までに痙攣を起したことがある方。
7. 過去に本人や近親者で検査によって免疫状態の異常を指摘されたことがある方。
8. 気管支喘息のある方。

妊婦、基礎疾患を有する者及び小児について

1. 妊婦または妊娠している可能性のある婦人への本剤の接種は推奨されない。
2. 基礎疾患を有する者及び小児への接種に当たっては、危険性と有益性を評価した上で本剤接種の妥当性を慎重に検討する。

ワクチンの接種を受けたあと 30 分間は、急な副反応が起きることがある。アナフィラキシーなどまれだが重篤かつ緊急的対応が必要な副反応は、接種後 30 分以内に生じることが多く、また、血管迷走神経反射が起こることがある。接種に対しては、その時間は医療機関にとどまるなど指導し、医師とすぐに連絡をとれるようにさせる。また、ワクチン接種当日は過激な運動は避け、接種部位を清潔に保ち、接種後の体調管理をしっかり行い、局所の異常反応や体調の変化、さらに、高熱、痙攣等の異常な症状を呈した場合には、速やかに医師の診察を受けるよう指導する。

7. 副反応（最終的には添付文書の記載に準ずる）

本剤の接種後には、副反応として、注射部位が一時的に赤くなる、腫れる、硬くなる、熱をもつ、痛くなる、かゆくなる、出血することがあるが、これらの症状は一般的に軽微であり、日常生活に支障をきたすほどの強さになる頻度は、臨床試験の結果では0-3%程度である。また、一時的に頭痛、疲れ、筋肉痛、関節痛、多汗、悪寒、発熱、リンパ節の腫れ、手足のしびれ、めまい、胃腸症状（下痢、嘔吐・嘔気、腹痛、悪心など）、皮膚症状（発しん、じん麻疹、かゆみなど）、不眠症、なども起こることがある。一部の副反応の頻度は、国産ワクチンのようにアジュバントを含まないものと比較して高くなることが予想される。海外の類似製剤のデータでは、痛くなる、腫れる、頭痛、関節痛、筋肉痛などは、より高い頻度で起こるとされている。

類似製剤（Pandemrix : H1N1 の HA 抗原 3.75 µg + アジュバント AS03）を単回投与した場合とアジュバントなしの H1N1 の HA 抗原 15 µg を単回投与した場合の因果関係の否定されない副反応の頻度。

副反応	H1N1+AS03 (Pandemrix) N=62	H1N1 N=62
注射部位疼痛	90.3%	37.1%
注射部位発赤	1.6%	0.0%
注射部位腫脹	6.5%	0.0%
疲労	32.3%	25.8%
頭痛	14.3%	7.6%
関節痛	11.3%	4.8%
筋痛	33.9%	8.1%
悪寒	8.1%	3.2%
発汗	9.7%	8.1%
発熱	0.0%	0.0%

また、成人を対象とした国内臨床試験の単回接種後に見られた主な副反応の頻度は以下の通りである(承認時)。

副反応	H1N1+AS03 (Arepanrix) N=100
注射部位疼痛	99.0%
注射部位発赤	13.0%
注射部位腫脹	24.0%
疲労	68.0%
頭痛	49.0%
関節痛	33.0%
筋痛	59.0%
悪寒	37.0%
発汗	13.0%
発熱	6.0%

強い卵アレルギーのある方は強い副反応を生じる可能性があるため必ず医師に申し出るよう指導する。また、一部の国産の季節性インフルエンザワクチンと同様、保存剤としてチメロサル（水銀化合物）が少量含まれている。

なお、国産の季節性インフルエンザワクチンでは、次のような副反応がまれに起こることがあるとされている。(1) ショック、アナフィラキシー様症状（じん麻疹、呼吸困難など）、(2) 急性散在性脳脊髄炎（接種後数日から2週間以内の発熱、頭痛、痙攣、運動障害、意識障害など）、(3) ギラン・バレー症候群（両手足のしびれ、歩行障害など）、(4) 痙攣（熱性痙攣を含む）、(5) 肝機能障害、黄疸、(6) 喘息発作。本剤でこのような副作用が起こるかは明らかではないが、このような症状が認められたり、疑われた場合は、すぐに医師に申し出るよう接種者に指導する。

カナダにおける有害事象について

2009年10月21日に本剤が承認されたカナダにおける有害事象は以下の通りである。

2009年10月21日～2009年11月17日までに本剤は9,435,000接種分がカナダにおいて出荷された。2009年10月21日～2009年11月17日までにカナダから報告された特定の副反応についてのまとめを下表に示す。なお、この表はグラクソ・スミスクライン（GSK）本社が入手した情報を基に作成している。カナダ当局では独自に入手した情報を随時GSK本社に提供しているが、時間的なずれのため、GSK本社が入手した総数とカナダ当局から公表されている総数とは相違がある。集計に関しては、副反応名としてアナフィラキシーが報告された症例だけでなく、医学用語集においてアナフィラキシーと同義語と分類される副反応名で報告された症例も含めて行っている。痙攣についても同様である。

副反応名	医師による確認あり		医師による確認なし	
	期間内の報告数	累計	期間内の報告数	累計
アナフィラキシー及び関連症状	53	53	10	10
痙攣及び関連症状	3	3	1	1
合計	56	56	11	11

データロック時迄に GSK 本社データベースに登録された症例のみ

上記の他、カナダにおける重篤な有害事象については、以下のウェブサイト参照
<http://gsk-influ.jp>

また、カナダにおいて流通していたロット番号A80CA007Aにおいて重篤なアレルギー反応（アナフィラキシー及びその関連事象）が、本剤の他のロットに比べて高い頻度で発現したと報告された。この結果を受けて、GSK本社は被接種者に対する安全確保の観点から、カナダ保健省、カナダ公衆衛生局（PHAC）及びGSK本社による調査が終了するまで、予防的措置としてロット番号A80CA007AのArepanrix（H1N1）ワクチンの使用を保留するように、各地の保健当局に対して要請した。その他のロットを用いた本剤接種は継続されている。また、カナダにおける接種開始以降 2009 年 11 月 13 日までの期間において、本剤がカナダで流通した 7,445,500 接種に対する重篤なアレルギー反応の発現頻度は 0.30 例/10 万回接種と、他のワクチンで一般に報告される発現頻度（0.1～1 例/10 万回接種）³を超えていない。グラクソ・スミスクライン社は今後も継続的に情報を収集し、安全確保のために必要な情報をウェブサイトで公開する等、情報提供に努める。なお、本剤も他のワクチンと同様に、まれにアナフィラキシーが発現するため、接種の際にはアナフィラキシーの処置に必要な医薬品や機器等を備え、接種後は観察を十分に行う。

副反応の報告について

平成 21 年 10 月 13 日付厚生労働省発健 1013 第 4 号『「受託医療機関等における新型インフルエンザ(A/H1N1) ワクチン接種実施要領」の策定について』に基づき、本剤の接種後、死亡、入院または重篤な副反応については、厚生労働省に報告する（フリーダイヤル FAX 番号 0120-510-355）。

なお、グラクソ・スミスクライン社へ副反応の報告を行う場合には、グラクソ・スミスクライン社のインフルエンザ情報ポータルサイト「[GSK-influ.jp](http://gsk-influ.jp)」からインターネットを介して報告することも可能である。

<http://gsk-influ.jp>

8. 重篤な副反応発生時の救済制度

今回の新型インフルエンザワクチン接種を受けた方が、ワクチン接種によって重篤な副反応が発生した場合は医療費及び医療手当等、予防接種法の定期予防接種に準じた一定の給付を

³ “Anaphylaxis: Case definition and guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data”, Vaccine. 2007 Aug 1;25(31):5675-84

行う制度がある。AS03 アジュバントは国内で初めて使用される免疫増強剤であり、また本剤に認められる凝集が安全性に及ぼす影響が明確になっていないこと等から、接種後にアナフィラキシー等重症の異常が認められた場合は適切に自発報告を行う。また、本剤に関する安全性情報に注意する。

9. 組成

アレパンリックス（H1N1）筋注（抗原製剤）と専用混和液を混合後 0.5mL（成人及び 10 歳以上の小児での 1 回接種量）中に次の成分及び分量を含有する。

成分		分量	
有効成分(製造株)	不活化スプリット A 型インフルエンザウイルス (A/California/7/2009(H1N1))	HA 含量 (相当値) 3.75 µg	
添加物	保存剤	チメロサル	5 µg
	緩衝剤	リン酸一水素ナトリウム・七水和物	0.363 mg
	緩衝剤	リン酸二水素カリウム	0.09 mg
	緩衝剤	無水リン酸一水素ナトリウム	0.25 mg
	基剤	スクワレン	10.69 mg
	基剤及び 免疫補助剤	トコフェロール	11.86 mg
	乳化剤	ポリソルベート 80	4.86 mg
	等張化剤、pH 調節剤		

10. 海外の状況

<承認>

- カナダ（2009年10月21日承認）

<申請中>

- 欧州 27 カ国（2009年7月16日申請）
- その他 30 カ国以上で申請中
- 日本（2009年10月16日申請）

<WHO の事前認定>

- 2009年11月25日

11. 臨床試験成績

臨床試験の成績については添付文書を参照。

問い合わせ先

グラクソ・スミスクライン株式会社

〒151-8566 東京都渋谷区千駄ヶ谷 4-6-15

カスタマー・ケア・センター

TEL : 0120-561-007 (9:00~18:00/土日祝日及び当社休業日を除く)

FAX : 0120-561-047 (24 時間受付)

2010年1月5日

アレパンリックス(H1N1)筋注(新型インフルエンザワクチン(H1N1))の接種について (案)

接種前に必ずお読みください（特に下線①から⑤の部分は、お読みになったことを予診票で確認いたしますので、必ずご確認ください）。内容に心配な点があったり、説明が必要な場合は接種前に担当医師におたずねください。

インフルエンザの予防接種を実施するに当たって、受けられる方の健康状態をよく把握する必要があります。そのため、予診票に出来るだけ詳しくご記入ください。お子さんの場合には、健康状態をよく把握している保護者をご記入下さい。

新型インフルエンザワクチンについて

新型インフルエンザウイルス（A型 H1N1）は、これまでの季節性インフルエンザウイルスと異なり、国民の大多数が免疫を持っておりません。新型インフルエンザワクチンは、免疫をつけ、死亡者や重症者の発生をできる限り減らすことを目的に接種するものです。

今回の新型インフルエンザワクチン（アレパンリックス（H1N1）筋注）は緊急に必要であることから、海外で承認されたことを前提として、国内での通常の承認手続きを行わず緊急的に承認された輸入ワクチンです。－① 従って、本ワクチンの国内での使用経験は限られており、現在も国内外の臨床試験を実施中です。

有効性・安全性について

海外で製造された本ワクチンは、現在、国内で使用されている季節性インフルエンザワクチンと同様、重症化や死亡の防止について一定の効果があると期待されますが、感染防止に対しては効果が保証されるものではありません。また、極めてまれではありますが、重篤な副作用も起こり得ます。なお、本ワクチンには、国内で初めて使用されるAS03と呼ばれる免疫増強剤（アジュバント）が使われています。－② これは一日でも早く多くのワクチンを供給するために、1回の接種に必要なワクチンの主要成分（抗原）の量を減らすことと、ワクチンの効き目を高めるために使われています。この免疫増強剤の主成分はDL- α -トコフェロール（ビタミンE）とスクワレン（サメ肝油）です。免疫増強剤を含む本ワクチンは、有効性と安全性を検討する国内外の臨床試験が実施されているものの、本ワクチンを広く一般の人達に接種した場合の安全性には未知の部分があります。また、本ワクチンの抗原バイアルにはわずかな凝集物が見られることがあります。国内外で実施された本ワクチンの臨床試験成績からは、凝集物が効果と安全性に影響を与えるという知見は得られていません。なお、臨床試験では例数が限られており、発生頻度の低い有害事象についての影響は明確ではありませんので、調査を継続的に実施しています。－③

なお、本ワクチンが接種されているカナダにおいて、単一のロットA80CA007Aでアナフ

受けて、GSKは被接種者に対する安全確保の観点から、カナダ保健省、カナダ公衆衛生局（PHAC）およびGSKによる調査が終了するまで、予防的措置として当該ロットの使用を保留するように、各地の保健当局に対して要請しました。その他のロットを用いた本剤接種は継続されています。また、接種開始以降カナダにおける重篤なアレルギー反応の発現頻度は10万回接種あたり0.30例と、他のワクチンで一般に報告される発現頻度（10万回接種あたり0.1～1例）を超えていませんが、3ページに記載している「接種上の注意について」のアナフィラキシーの部分をよくお読み下さい。－④

なお、ワクチンの製造工程でウシ(国の基準を満たさない原産国¹を含む)またはヒツジの胆汁由来のデオキシコール酸ナトリウムを使用しています。伝達性海綿状脳症（TSE）²を発症するリスクを完全に排除することはできませんが、厳しい製造条件で製造しているため、理論的なリスク評価上はその可能性は極めて低いものと考えられます。－⑤

用法・用量・接種間隔について

0.5 mL（10歳以上）または0.25 mL（6ヶ月以上10歳未満）を1回、筋肉内に注射します。他の生ワクチンの接種を受けた方は、通常、27日以上、また、他の不活化ワクチン（季節性インフルエンザワクチンを除く）の接種を受けた方は、通常、6日以上間隔を置いて本ワクチンを接種してください。

接種を控えるべき方について

次のいずれかに該当すると認められる場合には、接種が受けられないことになっています。

1. 明らかに発熱がある方（37.5℃を超える人）。
2. 重篤な急性疾患にかかっていることが明らかな方。
3. 過去にインフルエンザワクチンの接種を受けて、アナフィラキシーを起したことがある方。なお、他の医薬品投与を受けてアナフィラキシーを起したことがある方は接種を受ける前に医師にその旨を伝えて判断を仰いで下さい。
4. 妊婦または妊娠している可能性のある婦人への接種は推奨されていません。
5. 上記に掲げる方のほか、予防接種を行うことが不適当な状態であると医師に判断された方。

¹国の基準を満たさない原産国：カナダ、チリ、エクアドル、メキシコ、南アフリカ、米国およびベネズエラ

²伝達性海綿状脳症（TSE）とは、脳の組織にスポンジ（海綿）状の変化を引き起こす神経系の病気で、原因は未だ十分に解明されていない伝達因子（病気を伝えるもの）と考えられています。TSEの一種として牛に起こる牛海綿状脳症（BSE）があり、BSEに感染したウシ由来の食物等を接種することにより、ヒトにおいても中枢神経障害を起こすことが疑われています。

接種上の注意について

次のいずれかに該当する方は、健康状態や体質等を担当の医師にしっかり伝え、よく相談したうえで接種を行ってください。

1. 心臓病、腎臓病、肝臓病や血液の病気などの方。
2. 発育が遅く、医師、保健師の指導を受けている方。
3. カゼなどのひきはじめと思われる方。
4. 予防接種を受けたときに、2日以内に発熱、発しん、じん麻疹などのアレルギーを疑う異常がみられた方。
5. 薬の投与または食事（鶏卵、鶏肉など）で皮膚に発しんが出たり、体に異常をきたしたことがある方。
6. 今までにけいれんを起こしたことがある方。
7. 過去に本人や近親者で検査によって免疫状態の異常を指摘されたことがある方。
8. 気管支喘息のある方。

妊婦、基礎疾患のある方、小児について

1. 妊婦または妊娠している可能性のある方への本ワクチンの接種は推奨されていません。
2. 基礎疾患のある方および小児については、医師とよく相談した上で接種を行なってください。

ワクチンの接種を受けたあと 30 分間は、急な副反応が起きることがあります。アナフィラキシーなどまれだが重篤かつ緊急的対応が必要な副反応は、接種後 30 分以内に生じることが多く、また、10 代前半の年長児では血管迷走神経反射³が起こることがあります。その時間は医療機関にとどまるなどして、様子を観察し、医師とすぐに連絡をとれるようにして下さい。ワクチン接種当日は過激な運動は避け、接種部位を清潔に保ち、また、接種後の体調管理をしっかり行い、局所の異常反応や体調の変化、さらに、高熱、けいれん等の異常な症状を呈した場合には、速やかに医師の診察を受けてください。

副反応について

本ワクチンの接種後には、副反応として、注射部位が一時的に赤くなる、腫れる、硬くなる、熱をもつ、痛くなる、かゆくなる、出血することがありますが、これらは一般的に軽微です。また、一時的に頭痛、疲れ、筋肉痛、関節痛、多汗、悪寒、発熱、リンパ節の腫れ、手足のしびれ、めまい、胃腸症状（下痢、嘔吐・嘔気、腹痛、悪心など）、皮膚症状

³ 血管迷走神経反射とは、注射の痛みや恐怖・不安などの精神的動揺により気分が悪くなったり、めまいや失神を起こしたりする反応のことです。横になり、しばらく休むことで回復します。

(発しん、じん麻疹、かゆみなど)、不眠症、なども起こることがあります。一部の副反応の頻度は、国産ワクチンのようにアジュバントを含まないものと比較して高くなることが予想されます。海外の類似製剤のデータでは、痛くなる、腫れる、頭痛、関節痛、筋肉痛などは、より高い頻度で起こるとされています。

強い卵アレルギーのある方は強い副反応を生じる可能性がありますので必ず医師に申し出て下さい。また、一部の国産の季節性インフルエンザワクチンと同様、保存剤としてチメロサル（水銀化合物）が少量含まれています。

なお、国産の季節性インフルエンザワクチンでは、次のような副反応がまれに起こることがあるとされています。(1) ショック、アナフィラキシー様症状（じん麻疹、呼吸困難など）、(2) 急性散在性脳脊髄炎（接種後数日から 2 週間以内の発熱、頭痛、けいれん、運動障害、意識障害など）、(3) ギラン・バレー症候群（両手足のしびれ、歩行障害など）、(4) けいれん（熱性けいれんを含む）、(5) 肝機能障害、黄疸、(6) 喘息発作。本ワクチンでこのような副作用が起こるかは明らかではありませんが、このような症状が認められたり、疑われた場合は、すぐに医師に申し出て下さい。

重篤な副反応発生時の救済制度について

今回の新型インフルエンザワクチン接種を受けた方が、ワクチン接種によって重篤な副反応が発生した場合は医療費および医療手当等、予防接種法の定期予防接種に準じた一定の給付を行う制度があります。

新型インフルエンザ予防接種予診票

〈医療従事者(救急隊員含む。)、妊婦、基礎疾患を有する者(高校生に相当する年齢の者以上) 1歳未満の小児の保護者、身体的な理由により接種が受けられない者の保護者等、高校生に相当する年齢の者、65歳以上の者対象〉

		診察前の体温		度		分
住所						
受ける人の氏名		男女	生年月日	明治・大正 昭和・平成	年	月 日
保護者の氏名				(満	歳	ヵ月)
優先接種対象者等分類	1. 医療従事者(救急隊員含む。) 2. 妊婦 3. 基礎疾患を有する者 4. 1歳未満の小児の両親及び身体的理由により接種が受けられない者の保護者等 5. 高校生に相当する年齢の者 6. 65歳以上の者					
年齢区分	1. 高校生に相当する年齢の者 2. 高校卒業以上相当～65歳未満の者 3. 65歳以上の者					

質問事項	回答欄		医師記入欄
現在、何か病気にかかっていますか 病名()	はい	いいえ	
治療(投薬など)を受けていますか	はい	いいえ	
その病気の主治医には、今日の予防接種を受けてよいといわれましたか	はい	いいえ	
今日体に具合の悪いところがありますか 具体的な症状を書いてください()	はい	いいえ	
最近1ヶ月以内に、家族や遊び仲間に、インフルエンザ、麻しん、風しん、水痘、おたふくかぜなどの病気の方がいましたか (病名)	はい	いいえ	
最近1ヶ月以内に予防接種を受けましたか 予防接種の種類()	はい	いいえ	
新型インフルエンザ又は季節性インフルエンザの予防接種を受けたことがありますか その際に具合が悪くなったことはありますか	はい	いいえ	
これまでにインフルエンザ以外の予防接種を受けて具合が悪くなったことはありますか 予防接種の種類()	はい	いいえ	
ニワトリの肉や卵などにアレルギーがありますか	はい	いいえ	
薬や食品で皮膚に発疹やじんましんが出たり、体の具合が悪くなったことがありますか	はい	いいえ	
ひきつけ(けいれん)をおこしたことがありますか ()歳頃	はい	いいえ	
そのとき熱が出ましたか	はい	いいえ	
近親者に予防接種を受けて具合が悪くなった方はいますか	はい	いいえ	
現在、妊娠している、または妊娠している可能性(生理が遅れているなど)はありますか	はい	いいえ	
今日の予防接種について、以下の点に関する説明文を読みましたか(説明文書の下線①-⑤部分) -特例承認であること、アジュバントの使用、凝集について、アナフィラキシーについて、ウシ成分の使用-	はい	いいえ	
今日の予防接種について質問がありますか	はい	いいえ	

医師の記入欄
 以上の問診及び診察の結果、今日の予防接種は (可能 ・ 見合わせる)
 本人に対して、予防接種の効果、副反応及び予防接種健康被害救済制度について、説明をした
 医師署名又は記名押印

医師の診察・説明を受け、予防接種の効果や目的、重篤な副反応の可能性などについて理解した上で、
 接種を希望しますか (接種を希望します ・ 接種を希望しません)

平成 年 月 日 本人自署

ワクチンメーカー名、ロット番号	接種量	実施場所、医師名、接種年月日			
メーカー名	ml	実施場所			
Lot No.		医師名			
		接種年月日 平成 年 月 日			

新型インフルエンザ予防接種予診票
 〈基礎疾患を有する者(中学生)、中学生対象〉

		診察前の体温		度		分
住所						
受ける人の氏名		男女	生年月日	平成	年	月 日
保護者の氏名				(満	歳	ヵ月)

質問事項	回答欄	医師記入欄
接種を受ける方の発育歴についておたずねします 生まれたときの体重が少なかったり、出産時、出生後、乳幼児検診などで異常があると いわれたことがありましたか	あった なかった	
生まれてから今までに先天性異常、心臓、腎臓、肝臓、脳神経、免疫不全症、その他の病気 にかかり、医師の治療(投薬など)を受けていますか 病名()	はい いいえ	
その病気の主治医には、今日の予防接種を受けてよいといわれましたか	はい いいえ	
今日体に具合の悪いところがありますか 具体的な症状を書いてください ()	はい いいえ	
最近1ヶ月以内に、家族や遊び仲間に、インフルエンザ、麻疹、風しん、水痘、おたふくかぜ などの病気の方がいましたか (病名)	はい いいえ	
最近1ヶ月以内に予防接種を受けましたか 予防接種の種類()	はい いいえ	
新型インフルエンザ又は季節性インフルエンザの予防接種を受けたことがありますか その際に具合が悪くなったことはありますか	はい いいえ	
これまでにインフルエンザ以外の予防接種を受けて具合が悪くなったことはありますか 予防接種の種類()	はい いいえ	
ニワトリの肉や卵などにアレルギーがありますか	はい いいえ	
薬や食品で皮膚に発疹やじんましんが出たり、体の具合が悪くなったことがありますか	はい いいえ	
ひきつけ(けいれん)をおこしたことがありますか ()歳頃	はい いいえ	
そのとき熱がでましたか	はい いいえ	
近親者に予防接種を受けて具合が悪くなった方はいますか	はい いいえ	
近親者に先天性免疫不全と診断されている方はいますか	はい いいえ	
今日の予防接種について、以下の点に関する説明文を読みましたか(説明文書の下線①-⑤部分) -特例承認であること、アジュバントの使用、凝集について、アナフィラキシーについて、ウシ成分の 使用-	はい いいえ	
今日の予防接種について質問がありますか	はい いいえ	

医師の記入欄
 以上の問診及び診察の結果、今日の予防接種は (可能 ・ 見合わせる)
 保護者に対して、予防接種の効果、副反応及び予防接種健康被害救済制度について、説明をした
 医師署名又は記名押印

医師の診察・説明を受け、予防接種の効果や目的、重篤な副反応の可能性などについて理解した上で、
 接種を希望しますか (接種を希望します ・ 接種を希望しません)
 平成 年 月 日 保護者自署

ワクチンメーカー名、ロット番号	接種量	実施場所、医師名、接種年月日
メーカー名	ml	実施場所
Lot No.		医師名
		接種年月日 平成 年 月 日

新型インフルエンザ予防接種予診票
 〈基礎疾患を有する者(小学校6年生以下の者)、1歳から就学前の小児・小学生対象〉

	診察前の体温	度	分
住所			
受ける人の氏名	男女	生年月日	平成 年 月 日
保護者の氏名			(満 歳 カ月)
優先接種対象者等分類	1. 基礎疾患を有する者 2. 小児(1歳～就学前) 3. 小学校1年生～小学校3年生 4. 小学校4年生～小学校6年生		
年齢区分	1. 小児(1歳～就学前) 2. 小学校1年生～小学校3年生 3. 小学校4年生～小学校6年生		

質問事項	回答欄	医師記入欄
あなたのお子さんの発育歴についておたずねします 出生体重 ()g 分娩時に異常がありましたか 出生後に異常がありましたか 乳幼児検診で異常があると言われたことがありますか	あった あった ある	なかった なかった ない
生まれてから今までに先天性異常、心臓、腎臓、肝臓、脳神経、免疫不全症、その他の病気にかかり、医師の治療(投薬など)を受けていますか 病名()	はい	いいえ
その病気の主治医には、今日の予防接種を受けてよいといわれましたか	はい	いいえ
今日体に具合の悪いところがありますか 具体的な症状を書いてください ()	はい	いいえ
最近1ヶ月以内に、家族や遊び仲間に、インフルエンザ、麻疹、風しん、水痘、おたふくかぜなどの病気の方がいましたか (病名)	はい	いいえ
最近1ヶ月以内に予防接種を受けましたか 予防接種の種類()	はい	いいえ
新型インフルエンザ又は季節性インフルエンザの予防接種を受けたことがありますか その際に具合が悪くなったことはありますか	はい はい	いいえ いいえ
これまでにインフルエンザ以外の予防接種を受けて具合が悪くなったことはありますか 予防接種の種類()	はい	いいえ
ニワトリの肉や卵などにアレルギーがありますか	はい	いいえ
薬や食品で皮膚に発疹やじんましんが出たり、体の具合が悪くなったことがありますか	はい	いいえ
ひきつけ(けいれん)をおこしたことがありますか ()歳頃	はい	いいえ
そのとき熱がでましたか	はい	いいえ
近親者に予防接種を受けて具合が悪くなった方はいますか	はい	いいえ
近親者に先天性免疫不全と診断されている方はいますか	はい	いいえ
今日の予防接種について、以下の点に関する説明文を読みましたか(説明文書の下線①-⑤部分) -特例承認であること、アジュバントの使用、凝集について、アナフィラキシーについて、ウシ成分の使用-	はい	いいえ
今日の予防接種について質問がありますか	はい	いいえ

医師の記入欄
 以上の問診及び診察の結果、今日の予防接種は (可能 ・ 見合わせる)
 保護者に対して、予防接種の効果、副反応及び予防接種健康被害救済制度について、説明をした
 医師署名又は記名押印

医師の診察・説明を受け、予防接種の効果や目的、重篤な副反応の可能性などについて理解した上で、
 接種を希望しますか (接種を希望します ・ 接種を希望しません)
 平成 年 月 日 保護者自署

ワクチンメーカー名、ロット番号	接種量	実施場所、医師名、接種年月日
メーカー名	ml	実施場所
Lot No.		医師名
		接種年月日 平成 年 月 日