

158

Descripción del proceso productivo y de los controles en proceso

La producción se basa en un sistema de lote semilla. Se utilizan semillas de trabajo de *E. coli* BL-21 (DE3) 936-741K (que contiene el plásmido codificante para la proteína recombinante de fusión fHbp) para preparar el inóculo. Durante el paso de fermentación, se expande el cultivo de *E. coli*, luego de la inducción la proteína recombinante se expresa intracelularmente y se cosecha. El lote de fermentación se define como el producto de una operación de fermentación simple hasta la cosecha.

Una vez cosechado el caldo las bacterias se separan del sobrenadante vía centrifugación y la pasta celular resultante se homogeniza. Luego de la homogenización el material se centrifuga y el sobrenadante se hace pasar por una serie de columnas de cromatografía, se ultrafiltra y se filtra por 0,2 μ .

El granel concentrado se distribuye en botellas PETG de 1 litro que se congelan y almacenan a temperatura menor a -15°C

Validación del Proceso: Se han definido parámetros operacionales para controlar el desempeño del proceso y pueden categorizarse en dos grupos: críticos y no críticos.

Se ha validado la reutilización de las columnas de cromatografía, el período de vida útil de las membranas y el transporte del granel desde Austria a la planta de Rosia

Control de materiales: La existencia de semillas usadas para elaborar los lotes clínicos y los lotes para la campaña actual se elaboró de acuerdo con los procedimientos estándar bajo GMP. Se han definido las especificaciones para la Semilla Maestra y para la Semilla de Trabajo.

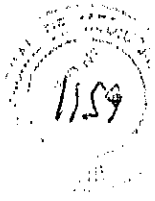
Las materias primas usadas en el proceso de elaboración se adquieren a proveedores aprobados. Una vez recibidas las materias primas se almacenan y liberan de acuerdo a procedimientos vigentes.

No se utilizan materiales de origen animal o humano durante las etapas de inoculación y fermentación. El medio de cromatografía Sepharosa XLI compuesto por Dextrano nativo se elabora con pequeñas cantidades de leche en polvo descremada proveniente de Estados Unidos y cuya fuente son animales aptos para consumo humano.

Controles de Pasos críticos y de Intermedios: Se han definido las pruebas realizadas sobre intermediarios de elaboración:

- Inóculo: Contaminación microbiológica
- Fermentación principal: Contaminación microbiológica, Contenido de proteínas
- Homogenización y centrifugación: Pureza y Contenido de proteínas
- Cromatografía de Captura: Carga Biológica, Endotoxina, Pureza y Contenido de proteínas
- Cromatografía de Intercambio iónico: Carga Biológica, Endotoxina, Pureza, Contenido de proteínas y Rendimiento de etapa.
- Cromatografía de Interacción hidrofóbica: Carga Biológica, Endotoxina, Pureza, Contenido de proteínas y Rendimiento de etapa.
- Ultrafiltración/Diafiltración I: Carga Biológica, Endotoxina, Pureza, Contenido de proteínas y Rendimiento de etapa

91



2.2.a.4. ESPECIFICACIONES

Caracterización: Se evaluaron las estructuras primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias de la proteína 287-953. La secuencia de aminoácidos fue confirmada por digestión enzimática y S-carboximetilación (RPC) bajo condiciones de reducción, seguido por cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC), Espectroscopía de masas ESI q-TOF. Las estructuras secundarias y terciarias fueron confirmadas por dicroísmo circular y fluorescencia. La estructura cuaternaria se evaluó por HPLC- Dispersión de Luz Láser de Ángulos Múltiples con Exclusión de Tamaño que confirmó que el PM lote a lote y el radio hidrodinámico eran consistentes.

IMPUREZAS: Las impurezas relacionadas con el proceso exógeno incluyen Isopropil- β -D-tiogalactopiranosida (IPTG), polipropilén glicol (PPG) y kanamicina. IPTG y PPG se tomaron en cuenta en la validación de la depuración.

Las impurezas relacionadas con los procesos endógenos incluyen ADN, Proteínas de células huésped (HCP) y Endotoxinas. Se ha validado la eliminación de las tres impurezas.

CONTROL DEL IFA

Prueba	Método de Análisis	Especificación
Pureza	SDS-PAGE	$\geq 88\%$
Pureza	SE-HPLC	$\geq 90\%$
Contenido de Proteínas	Valoración de proteínas Totales BCA	900-2700 $\mu\text{g/ml}$
Identidad	Western Blot	Positiva
HCP/Proteína	ELISA/cálculo	≤ 100 ppm
Osmolaridad	Osmometría, punto de congelamiento	240-360 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	$\leq 0,16$ UI/100 ml
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 10 UFC/100 ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5
Conductividad	Potenciometría	15.000-17.300 $\mu\text{S/cm}$

Materiales de Referencia y estándares: A la fecha de emisión del presente informe se utiliza como estándar de referencia de proteína fHbp el lote B043447. Siempre que se establezca un nuevo estándar de referencia se deben cumplir con los procedimientos establecidos

2.2.a.5. Estabilidad

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil de 36 meses a $\leq -15^\circ\text{C}$ para el granel concentrado de fHbp. Se generaron también datos en las siguientes condiciones:

- 48 meses a $-20^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$
- 48 meses a $-70^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$
- 3 meses a $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$

Denominación Común Internacional (DCI): Proteína recombinante NadA.

Estructura: La proteína recombinante NadA (proteína 961c) es un fragmento de Neisseria adhesina A (NadA), una proteína oligomérica de superficie expuesta perteneciente a la familia de adhesina oligomérica de doble espiral (OCA), La NadA es una molécula involucrada en la unión a células epiteliales.

92



La proteína deriva de la cepa 2996 del serogrupo B de *Neisseria meningitidis* y se expresa vía fermentación bacteriana por métodos de tecnología estándares de ADN recombinante en *Escherichia coli*.

La secuencia codificadora 961c se amplificó por PCR por el uso de ADN cromosomal de la cepa 2996 del serogrupo B como una plantilla. El producto se clonó en el vector de expresión pET-24b(+). El clon resultante, 961cL-K, se introdujo posteriormente en la cepa BL21 (DE3) de *E. coli*, donde la expresión del antígeno 961c se indujo por Isopropil- β -D-tiogalactopiranosida (IPTG).

La secuencia de aminoácidos predicha a partir de la secuencia de nucleótidos conocida da cuenta de una cadena de polipéptidos de 327 aminoácidos con un punto isoeléctrico teórico de 4,62.

El principio activo NadA tiene un peso molecular teórico de 34,558 Da con base en la secuencia de aminoácidos derivada a partir del cálculo por el servidor de proteómicas del sistema de análisis ExPASy. La masa molecular promedio de 34,6 kDa se confirmó por análisis de masa ESI-Q-tof

Descripción del proceso productivo y de los controles en proceso

La producción se basa en un sistema de lote semilla. Se utilizan semillas de trabajo de *E. coli* 961cL-K (que contiene el plásmido codificante para la proteína recombinante NadA) para preparar el inóculo. Durante el paso de fermentación, se expande el cultivo de *E. coli*, la proteína se expresa y secreta en el sobrenadante y se cosecha. El lote de fermentación se define como el producto de una operación de fermentación simple hasta la cosecha.

Una vez cosechado el caldo la proteína recombinante se separa de las bacterias vía centrifugación y pasos de filtración. La proteína se hace pasar por una serie de columnas de cromatografía y se filtra.

El granel concentrado se distribuye en botellas PETG de 1 litro que se congelan y almacenan a temperatura menor a -15°C

Validación del Proceso: Se han definido parámetros operacionales para controlar el desempeño del proceso y pueden categorizarse en dos grupos: críticos y no críticos.

Se ha validado la reutilización de las columnas de cromatografía, el período de vida útil de las membranas y el transporte del granel desde Austria a la planta de Rosia

Control de materiales: La existencia de semillas usadas para elaborar los lotes clínicos y los lotes para la campaña actual se elaboraron de acuerdo con los procedimientos estándar bajo GMP. Se han definido las especificaciones para la Semilla Maestra y para la Semilla de Trabajo.

Las materias primas usadas en el proceso de elaboración se adquieren a proveedores aprobados. Una vez recibidas las materias primas se almacenan y liberan de acuerdo a procedimientos vigentes.

No se utilizan materiales de origen animal o humano durante las etapas de inoculación y fermentación. El medio de Cromatografía I está compuesto por Dextrano nativo se elabora con pequeñas cantidades de leche en polvo descremada proveniente de Estados Unidos y cuya fuente son animales aptos para consumo humano.

Controles de Pasos críticos y de Intermedios: Se han definido las pruebas realizadas sobre intermediarios de elaboración:

.- Inóculo: Contaminación microbiológica

9/2



- Fermentación: Contaminación microbiológica, Contenido de proteínas
- Centrifugación y Filtración : Pureza, Integridad y Contenido de proteínas
- Ultrafiltración/Diafiltración I: Biocarga, Pureza y Contenido de proteínas
- Cromatografía I: Biocarga, Endotoxina, Pureza, Integridad y Contenido de proteínas
- Cromatografía II: Biocarga, Endotoxina, Pureza, Integridad y Contenido de proteínas
- Cromatografía III: Biocarga, Endotoxina, Pureza, Integridad y Contenido de proteínas
- Ultrafiltración/Diafiltración II: Biocarga, Pureza, Integridad y Contenido de proteínas
- Filtración: Pureza, Integridad y Contenido de proteínas

2.2.a.4. ESPECIFICACIONES

Caracterización: El análisis de masa molecular experimental de la proteína recombinante NadA se llevó a cabo por infusión directa en un espectrómetro de masa ESI-q-ToF cuadrupolo de electropulverización que reveló la presencia de 5 formas relacionadas de peso molecular menor en el perfil de masa experimental, que podría atribuirse a las formas de eliminación del extremo C terminal de la secuencia principal. El análisis de SDS-PAGE bajo condiciones de reducción, utilizado para determinar la pureza e integridad de la proteína recombinante NadA en el granel, ha confirmado la presencia de un polipeptido de peso molecular aparente de 37-40 kDa, con 2 bandas con PM menor pertenecientes a la familia de las 5 formas eliminadas del extremo C terminal.

La estructura tridimensional del antígeno NadA se organiza en tres dominios: un dominio del ancla del extremo C terminal que forma hebras β transmembranales, un dominio de tallo con doble espiral que contiene una cremallera de leucina que está involucrada en la oligomerización, y una región globular del extremo N terminal.

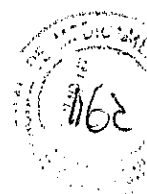
Se evaluaron las estructuras primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias de la proteína NadA; el espectro UV CD lejano de la proteína recombinante en el granel muestra dobles mínimos (209 y 222 nm) que sugieren que la porción principal de la proteína podría disponerse en una α hélice. La estructura cuaternaria se evaluó por Cromatografía de Exclusión molecular acoplada con análisis Difusión de Luz Láser a Ángulos Múltiples (SEC-MALLS). Los datos obtenidos indican que los lotes de proteína recombinante son consistentes con el valor teórico para una organización estructural trimérica (PM 94,9 kDa), aunque la desnaturalización térmica causa el desacoplamiento de la proteína a su estructura monomérica.

IMPUREZAS: Las impurezas relacionadas con el proceso exógeno incluyen Isopropil- β -D-tiogalactopiranosida (IPTG), polipropileno glicol (PPG) y kanamicina. IPTG y PPG se tomaron en cuenta en la validación de la depuración.

Las impurezas relacionadas con los procesos endógenos incluyen ADN, Proteínas de células huésped (HCP) y Endotoxinas. Se ha validado la eliminación de las tres impurezas.

CONTROL DEL IFA

Prueba	Método de Análisis	Especificación
Pureza	SDS-PAGE	$\geq 90\%$
Integridad		$\geq 70\%$



Pureza	SE-HPLC	≥ 89%
Contenido de Proteínas	Valoración de proteínas Totales BCA	1000-3000 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva
HCP/Proteína	ELISA/cálculo	≤ 50 ppm
Osmolaridad	Osmometría, punto de congelamiento	240 - 360 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 UI/100 ml
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 10 UFC/100 ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5
Conductividad	Potenciometría	15.000-17.300 µS/cm

Materiales de Referencia y estándares: A la fecha de emisión del presente informe se utiliza como estándar de referencia de proteína NadA el lote B034741. Siempre que se establezca un nuevo estándar de referencia se deben cumplir con los procedimientos establecidos

2.2.a.5. Estabilidad

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil de 36 meses a $\leq -15^{\circ}\text{C}$ para el granel concentrado de NadA. Se generaron también datos en las siguientes condiciones:

- 48 meses a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 48 meses a $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$
- 3 meses a $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$

Denominación Común Internacional (DCI): Vesículas de membrana externa (OMV)

Estructura: Las vesículas de la membrana externa se extraen vía detergente de la membrana bacteriana de la cepa NZ98/254 del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*. Los componentes inmunogénicos principales de las OMV son las proteínas de la membrana externa (OMP) y los lipopolisacáridos unidos a membranas (LPS).

Las proteínas principales de la membrana externa (OMPs) de *N. meningitidis* se han designado de Clase 1 (Por A, Serotipo P1.4) a Clase 5 (Opa). Las proteínas clase 1, 2 y 3 son porinas que muestran una variabilidad antigénica significativa. La OMP clase 4 es antigénicamente invariable y está estrechamente relacionada con las moléculas de porina.

La proteína Clase 5 es una proteína de superficie que forma trímeros o tetrámeros en la membrana externa.

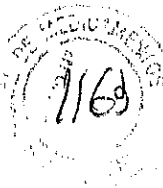
El LPS meningocócico es estructuralmente diferente de los de bacilos gram negativos

Descripción del proceso productivo y de los controles en proceso

La producción se basa en un sistema de lote semillas. Se utilizan semillas de trabajo del serogrupo B (cepa NZ 98/254) de *N. meningitidis* para prepara el inóculo. Durante el paso de fermentación, se expande el cultivo de *N. meningitidis* y se cosecha por centrifugación. Los sólidos celulares, que contienen las vesículas de la membrana externa (OMV) se inactivan por agregado de desoxicolato de sodio y se lavan. Luego el cultivo se centrifuga y se recupera el sobrenadante. Las OMV se purifican y se someten a una serie de operaciones de concentración, diafiltración, filtración y sonicación para finalizar con una Filtración esterilizante distribución en botellas de vidrio de 10 litros que se almacenan a temperatura 2 a 8°C .

Validación del Proceso: Se han definido parámetros operacionales para controlar el desempeño del proceso y pueden categorizarse en dos grupos: críticos y no críticos.

92



Se ha validado la reutilización de las columnas de cromatografía, el período de vida útil de las membranas y el transporte desde Siena a Rosia.

Control de materiales: La existencia de semillas usadas para elaborar los lotes clínicos y los lotes para la campaña actual se elaboraron de acuerdo con los procedimientos estándar bajo GMP. Se han definido las especificaciones para la Semilla Maestra y para la Semilla de Trabajo.

Las materias primas usadas en el proceso de elaboración se adquieren a proveedores aprobados. Una vez recibidas las materias primas se almacenan y liberan de acuerdo a procedimientos vigentes. El desoxicolato de sodio es de origen animal.

Controles de Pasos críticos y de Intermedios: Se han definido las pruebas realizadas sobre intermediarios de elaboración:

- Inóculo I: Medición de la densidad óptica, Tinción de Gram
- Inóculo II: Medición de la densidad óptica, Tinción de Gram
- Fin de la Fermentación: Medición de la densidad óptica, Tinción de Gram, Pureza del Cultivo
- Concentración e Inactivación: Control de Inactivación
- Concentración/Diafiltración: Biocarga de la Fracción retenida
- Ultracentrifugación: Concentración de proteínas
- Pre Granel Concentrado de OMV luego de la Sonicación: Biocarga
- Pre Granel Concentrado Filtrada de OMV: Biocarga
- Pre Granel Concentrado de OMV (filtración pre-estéril): Biocarga

2.2.a.4. ESPECIFICACIONES

Caracterización: Las vesículas intactas tienen un diámetro en el rango de 50-200 nm y tienen una estructura compleja. Si bien los fragmentos de OMV varían en tamaño y estructura, la membrana está a grandes rasgos intacta dentro de los fragmentos. Por el uso de anticuerpos anti-LPS e inmunotinción con oro, se localizó el LPS sobre la superficie externa de OMV. Si bien las vacunas OMV generalmente contienen más de 40 proteínas diferentes una SDS-PAGE unidimensional de vacunas OMV generalmente revela entre 20 y 30 proteínas.

IMPUREZAS: Las impurezas pueden consistir en los restos de otros componentes bacterianos, restos de materiales utilizados para el tratamiento del cultivo o durante la purificación de las vesículas. Se llevan a cabo pruebas para la pureza bacteriana como controles del proceso

Las impurezas relacionadas con los procesos endógenos incluyen ADN, LPS y endotoxinas que surgen del cultivo de *Neisseria*. El ADN residual se elimina durante la purificación, LPS es parte de las vesículas extraídas de las bacterias y cumple un rol en la inmunogenicidad de la vacuna.

El desoxicolato se agrega durante el proceso de elaboración. Se ha determinado un rango de 0,1 a 0,4 µg/µg de proteína para la liberación del granel que se corresponde a 2,5 a 10 µg/dosis de la vacuna formulada.

97



CONTROL DEL IFA

Prueba	Método de Análisis	Especificación
Pureza	SDS-PAGE	≥ 67%
Patrón de proteínas		Presencia y porcentaje de proteínas de OMV confirmadas 80 kD (Omp85) 1-4 % 70 kD (FrpB) ≤ 5% Clase 1 17 a 25% Clase 3 + FbpA 29 a 55 % Clase 4 4 a 10 % Clase 5 1 a 5 % NspA 1 a 7 % 70 kD (FrpB) presente
Concentración de proteínas	Lowry	450-1320 µg/ml
Identidad	Western Blot	Presencia de proteínas de OMV confirmadas Clase 1 (PorA P1.4) Clase 3 (Serotipo 4) Clase 5 (Opc) LPS 3,7,9
Apariencia	Inspección Visual	Líquido opalescente, incoloro a ligeramente amarillo, libre de precipitados visibles
pH	Potenciometría	7,0-8,3
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 1.000 UI/µg
ADN/Proteína	Espectrofluorometría/cálculo	≤ 0,010 µg/µg de proteína
Desoxicolato/Proteína	Reacción y colorimetría de enzimas/cálculo	0,1-0,4 µg/µg de proteína
LPS/Proteína	RP-HPLC/cálculo	0,05-0,15 µg/µg de proteína
Sacarosa	Espectrofotometría/cálculo	2,7-4,1 %
Esterilidad	Filtración por membrana	Estéril

Materiales de Referencia y estándares: A la fecha de emisión del presente informe se utiliza como estándar de referencia los lotes 02-041(Western Blot) y 02-057 (SDS-PAGE). Siempre que se establezca un nuevo estándar de referencia se deben cumplir con los procedimientos establecidos

2.2.a.5. Estabilidad

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil de 36 meses a 2-8°C para el granel concentrado de NadA. Se generaron también datos durante 1 mes a 5°C ± 3°C

2.2.b. ASPECTOS RELACIONADOS CON EL PRODUCTO TERMINADO

2.2. b.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Principio activo/ Nombre común	Contenido/ dosis
Proteína recombinante de fusión NHBA	50 µg
Proteína recombinante NadA	50 µg

HL

13

2.2.b.3. PRODUCCION

Proteína recombinante de fusión F-Hp	50 µg
Vesículas de la membrana externa	25 µg
Excipientes	Contenido/ dosis
Hidróxido de Aluminio	1,5 mg
Cloruro de Sodio	3,125 mg
Sacarosa	10 mg
Histidina	0,776 mg
Agua para inyección	Hasta 0,5 ml

Planta involucradas en la producción, análisis y liberación del Producto terminado

➤ Novartis Vacunas y Diagnósticos S.r.l., Bellaria 53018, Rossia, Italia. Formulación, Llenado, inspección etiquetado y empaque, Control de calidad, Liberación lote Bexsero. A folio 55 se presenta Certificado de cumplimiento de BPF emitido el 24 de enero de 2013 para la planta.

➤ Novartis Vacunas y Diagnósticos S.r.l., Via Fiorentina, 1, 53100, Siena, Italia. Pruebas de Control de Calidad. A folio 45 se presenta Certificado de cumplimiento de BPF emitido el 16 de septiembre de 2013 para la planta

Bexsero es un líquido opalescente (suspensión blanca) para inyección libre de conservantes, estéril. El proceso de elaboración del producto terminado implica la formulación de los principios activos con Hidróxido de Aluminio y tampones, seguido del llenado aseptico, la inspección visual y el empaque.

Controles de Pasos críticos y de Intermedios:

Las pruebas llevadas a cabo durante la elaboración de soluciones y del producto terminado Bexsero son:

- Preparación de sacarosa: Biocarga (pre y post filtración), Endotoxinas
- Preparación de Cloruro de Sodio: Biocarga (pre y post filtración), Endotoxinas
- Preparación de la Histidina: Biocarga (prefiltración), Endotoxinas, Esterilidad y pH
- Preparación de Hidróxido de Aluminio: Trnlo, Esterilidad
- Formulación: Biocarga (prefiltración).
- Llenado: Monitoreado durante el proceso
- Inspección: Inspección visual 100%

Descripción del proceso productivo y de los controles en proceso

El proceso de elaboración del producto terminado implica la formulación de los principios activos con Hidróxido de Aluminio y tampones, seguido del llenado aseptico, la inspección visual y el empaque.

Validación del Proceso: Se llevó a cabo la validación del proceso de formulación y llenado a escala de 40 l y de 72 l.

2.2.b.4. ESPECIFICACIONES



14

Estándares de referencia: Todos los estándares de referencia con excepción del utilizado para el ensayo de potencia relativa de dilución múltiple, se utilizan como controles positivos

2.2. b.5. ESTABILIDAD DEL PRODUCTO

El período de vida útil propuesto es de 24 meses a temperatura entre 2 y 8°C. Una vez reconstituido conservar por 30 minutos a temperatura ambiente

El diseño del estudio abarca:

- producto terminado almacenado entre 2 y 8°C por 48 meses
- producto terminado almacenados entre 23 a 27°C por seis meses
- producto terminado expuesto entre 38 y 42°C

Ensayo	Método de análisis	Especificación
Identidad Proteína	Inmunológico	Positivo
Identidad Proteína recombinante Nada	Immunológico	Positivo
Identidad Proteína recombinante Fhbp	Immunológico	Positivo
Identidad Proteína recombinante NHBA	Immunológico	Positivo
Identidad Vesículas de membrana externa	Immunológico	Positivo
Volumen	Volumen extraíble	≥ 0,50 ml
Aspecto	Inspección visual	Líquido opalescente
Título de Hidróxido de Aluminio	Titulación	2,4 – 3,6 mg/ml
Homogeneidad de Hidróxido de Aluminio		≤ 20%
Uniformidad de Hidróxido de Aluminio		Cumple
pH		6,0-7,0
Osmolaridad		240-360 mOsm/kg
Endotoxina		≤ 9600 UI/ml
Tasa de adsorción		≥ 90%
Estilidad		Estéril
Pirógeno		No pirógeno
Immunogenicidad Proteína recombinante Nada	Immunización de ratones seguida por ELISA	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
Immunogenicidad Proteína recombinante Fhbp	Immunización de ratones seguida por ELISA	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
Immunogenicidad Proteína recombinante NHBA	Immunización de ratones seguida por ELISA	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
Immunogenicidad Vesículas de membrana externa	Immunización de ratones seguida por ELISA	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
Partículas visibles	Inspección visual	Cumple (ausencia de partículas extrañas)

Control de Producto terminado: Se realizan pruebas al producto terminado para garantizar su seguridad y esterilidad, confirmar la identidad y cuantificar la potencia



2.2.c. EVALUACIÓN DE SEGURIDAD DE AGENTES ADYUVANTES

Todas las materias primas de origen animal usadas en la fabricación del producto cuentan con certificado de idoneidad de la Dirección Europea de Medicamentos.
El producto final es una suspensión estéril. El ingreso de microorganismos en el proceso está limitado por el diseño del proceso y de los equipos.

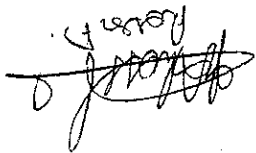
El riesgo específico de transmitir TSE ha sido evaluado según los requerimientos de la Unión Europea.

No se utilizan líneas celulares humanas o de animales en la fabricación de la vacuna por lo tanto no se encuentra ningún sustrato para la replicación de virus transmisibles durante el proceso de fabricación.

Los bancos celulares microbianos se prueban para determinar pureza, identidad, estabilidad de la construcción genética y presencia de contaminantes.

2.2. d. DISCUSIÓN SOBRE LOS ASPECTOS QUÍMICOS, FARMACÉUTICOS Y BIOLÓGICOS

Concluyendo: La información relacionada con el desarrollo, producción y control del producto se considera que ha sido presentada en forma satisfactoria. Los resultados de los ensayos realizados demuestran consistencia y uniformidad de las características de calidad más importantes del producto.



02 de Diciembre de 2014



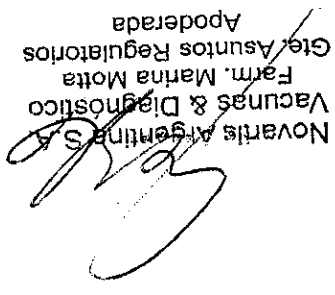
ANMAT
Sr. Administrador
Ing. López
S / D

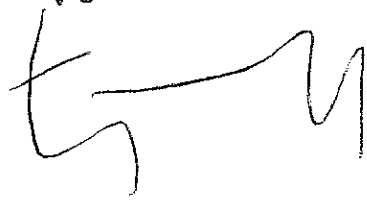
Ref: Nota para agregar al Expte. Nº 1-47-20525-13-6
REGISTRO DE VACUNAS - 1.2. VAC - Bexsero

De nuestra consideración:

Novartis Argentina S.A., con domicilio legal en Ramallo 1851 (C1429DUC) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, inscrita en el Registro Nacional con certificado habilitante Nº 7209, se dirige al Sr. Administrador de la ANMAT con el objeto de adjuntar al expediente de la referencia el nuevo proyecto de prospecto debidamente modificado por triplicado.

Sin otro particular, quedamos a disposición y saludamos atentamente.


Novartis Argentina S.A.
Vacunas & Diagnóstico
Farm. Martina Motta
Gte. Asuntos Regulatorios
Apoderada


Novartis Argentina S.A.
Farm. Sergio Imitzian
Gte. de Asuntos Regulatorios
Codirector Técnico - M.N. 11521
Apoderado

BEXSERO®**VACUNA MENINGOCÓCICA MULTICOMPONENTE DEL GRUPO B****(RECOMBINANTE, ADSORBIDA)****Suspensión Inyectable****Industria Italiana****Venta bajo receta médica****FÓRMULA CUANTITATIVA Y CUALITATIVA****Principio(s) activo (s)**

Una dosis (0.5 ml) contiene:

Proteína recombinante de fusión NHBA de *Neisseria meningitidis* del grupo B^{1,2,3} 50 µgProteína recombinante Nada de *Neisseria meningitidis* del grupo B^{1,2,3} 50 µgProteína recombinante de fusión fHbp de *Neisseria meningitidis* del grupo B^{1,2,3} 50 µgVesículas de la membrana externa (OMV) de *Neisseria meningitidis* grupo B cepa NZ98/254 medidas como la cantidad total de proteína que contiene el PorA P1.4² 25 µg¹ producida en células *E. coli* mediante tecnología de ADN recombinante² adsorbida en hidróxido de aluminio (0,5 mg Al³⁺)³ NHBA (antígeno de *Neisseria* de unión a heparina), Nada (adhesina A de *Neisseria*), fHbp (proteína de unión al factor H).

Excipientes: Cloruro de sodio 3,125 mg, histidina 0,776 mg, sacarosa 10 mg y agua para inyectables hasta 0,5 ml.

AdyuvantesAdsorbida en hidróxido de aluminio (0,5 mg Al³⁺)**FORMA FARMACÉUTICA**

Suspensión inyectable.

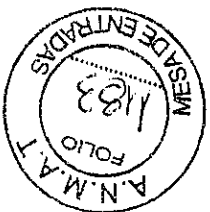
Suspensión líquida blanca opalescente.

ACCIÓN TERAPÉUTICA

Vacunas meningocócica, código ATC: J07AH09.

INDICACIONES

1

Novartis Argentina S.A.
Rég. Sergio Imritzian
Gte. de Asuntos Regulatorios
Codirector Técnico - M.N. 11521
Apoderado**Novartis Argentina S.A.**
Vacunas & Diagnóstico
Farm. Martha Motta
Gte. Asuntos Regulatorios
Apoderada

8023



Bexsero® está indicado para la inmunización activa de individuos a partir de 2 meses de edad y mayores contra la enfermedad meningocócica invasiva causada por *Neisseria meningitidis* grupo B. El uso de Bexsero debe ser en concordancia con las recomendaciones oficiales. Ver sección "Características/Propiedades farmacológicas" para información sobre protección frente a cepas específicas del grupo B.

CARACTERÍSTICAS/PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Farmacodinamia

Mecanismo de acción

La inmunización con Bexsero está pensada para estimular la producción de anticuerpos bactericidas que reconocen a los antígenos de vacuna NHBa, Nada, Fhb, y PorA P1.4 (el antígeno inmunodominante presente en el componente de OMV) y que se espera que protejan contra la enfermedad Meningocócica Invasiva (EMI) por grupo B. Como estos antígenos se expresan de forma variada en diferentes cepas, los meningococos que los expresan en niveles suficientes son susceptibles de eliminación por los anticuerpos provocados por la vacuna. El sistema de tipificación del antígeno meningocócico (Meningococcal Antigen Typing System, MATS) se desarrolló para relacionar perfiles de antígenos de distintas cepas de bacterias meningocócicas del grupo B con la eliminación de las cepas en el ensayo bactericida en suero con complemento humano (hSBA) y en última instancia para predecir amplitud de la cobertura de cepas.

Los antígenos de vacuna presentes en Bexsero también son expresados por cepas pertenecientes a grupos meningocócicos distintos al grupo B. Los escasos datos disponibles sugieren protección frente a algunas cepas no pertenecientes al grupo B, sin embargo, la magnitud aún no ha sido determinada.

Eficacia Clínica

La eficacia de la vacuna se ha deducido demostrando la inducción de respuestas de anticuerpos bactericidas en suero a cada uno de los antígenos de la vacuna.

Inmunogenicidad

Las respuestas de los anticuerpos bactericidas en suero a cada uno de los antígenos de vacuna Nada, Fhb, NHBa y PorA P1.4 se evaluaron mediante un grupo de cuatro cepas de meningococo del grupo B de referencia. Se midieron los anticuerpos bactericidas frente a estas cepas mediante el ensayo bactericida en suero utilizando suero humano como fuente del complemento (hSBA). No hay datos disponibles de todos los esquemas de vacunas usando la cepa de referencia para NHBa. La mayoría de los estudios de inmunogenicidad primaria se realizaron como ensayos clínicos aleatorizados, controlados y multicéntricos. Se evaluó la inmunogenicidad en lactantes, niños, adolescentes y adultos.

Inmunogenicidad en lactantes y niños

En estudios con lactantes, los participantes recibieron tres dosis de Bexsero a los 2, 4 y 6 o 2, 3 y 4 meses de edad y una dosis de refuerzo en el segundo año de vida, a partir de los 12 meses de edad. Se obtuvieron sueros antes de la vacunación, un mes después de la tercera vacunación (ver Tabla 1) y un mes después de la vacunación de refuerzo (ver Tabla 2). En un estudio de extensión, se evaluó la persistencia de la respuesta inmune un año después de la dosis de refuerzo (ver Tabla 2). Los niños no vacunados previamente también recibieron dos dosis

NOVARTIS ARGENTINA S.A.
Farm. Sergio Imitizian
Gie. de Asuntos Regulatorios
Codirector Técnico - M. N. 11521
Apoderado

NOVARTIS ARGENTINA S.A.
Vacunas & Diagnóstico
Farm. Martha Motta
Gie. Asuntos Regulatorios
Apoderada



en el segundo año de vida, y se midió la persistencia de los anticuerpos un año después de la segunda dosis (ver Tabla 3). También se ha documentado la inmunogenicidad tras dos dosis en otro estudio en lactantes de 6 a 8 meses de edad en el momento de la inclusión (ver Tabla 3).

Inmunogenicidad en lactantes de 2 meses a 6 meses de edad
 Los resultados sobre la inmunogenicidad un mes después de tres dosis de Bexsero administradas a los 2, 3, 4 y 2, 4, 6 meses de edad se resumen en la Tabla 1. Las respuestas de anticuerpos bactericidas un mes después de la tercera vacunación contra las cepas meningocócicas de referencia fueron altas contra los antígenos Hbp, Nada y PorA P1.4 en ambos esquemas de vacunación con Bexsero. Las respuestas bactericidas contra el antígeno NHBA fueron también altas en lactantes vacunados según el esquema de 2, 4 y 6 meses, pero este antígeno parece menos inmunogénico con el esquema de 2, 3 y 4 meses. No se conocen las consecuencias clínicas de la inmunogenicidad reducida del antígeno NHBA en este esquema.

Tabla 1. Respuestas de los anticuerpos bactericidas en suero 1 mes después de la tercera dosis de Bexsero administrado a los 2, 3, 4 o 2, 4, 6 meses de edad

Antígeno	Estudio V72P13	Estudio V72P12	Estudio V72P16	
Hbp	% seropositivo* (95% CI)	N=149 100% (99-100)	N=273 99% (97-100)	N=170 100% (98-100)
	GMT hSBA** (95% CI)	91 (87-95)	82 (75-91)	101 (90-113)
Nada	% seropositivo (95% CI)	N=152 100% (99-100)	N=275 100% (99-100)	N=165 99% (97-100)
	GMT hSBA (95% CI)	635 (606-665)	325 (292-362)	396 (348-450)
PorA P1.4	% seropositivo (95% CI)	N=152 84% (82-86)	N=274 81% (76-86)	N=171 78% (71-84)
	GMT hSBA (95% CI)	14 (13-15)	11 (9,14-12)	10 (8,59-12)
NHBA	% seropositivo (95% CI)	N=100 84% (75-91)	N=112 37% (28-46)	N=35 43% (26-61)
	GMT hSBA (95% CI)	16 (13-21)	3,24 (2,49-4,21)	3,29 (1,85-5,83)

*% seropositivo = porcentaje de sujetos que alcanzaron hSBA ≥ 1.5 .
 ** GMT = Título medio geométrico.

Los datos sobre la persistencia de los anticuerpos bactericidas 8 meses después de la vacunación con Bexsero a los 2, 3 y 4 meses de edad y 6 meses después de la vacunación con Bexsero a los 2, 3 y 4 meses de edad (antes de la dosis de refuerzo) y los datos de refuerzo tras una cuarta dosis de Bexsero administrada a los 12 meses de edad se resumen en la Tabla 2. La persistencia de la respuesta inmune un año después de la dosis de refuerzo se presenta también en la Tabla 2.

Novartis Argentina S.A.
 Farm. Sergio Imizian
 Gte. de Asuntos Regulatorios
 Codirector Técnico - M.N. 11521
 Apoderado

Novartis Argentina S.A.
 Farm. Martha Motta
 Gte. Asuntos Regulatorios
 Apoderada

