

126  
MESA DEL

Tabla 23: Resumen de los resultados de validación para el procedimiento de control 9110.654:  
Ensayo de antígeno de varicela (ELISA de glicoproteína competitiva)

Parámetro de validación	Criterio de aceptación	Resultado exacto
Especificidad	Sin interferencia en la capacidad de dilución de las muestras en medio estabilizador o de suspensión.	Ausencia de no paralelismo de la curva estándar y las muestras de dilución.
Exactitud	El efecto de dilución por dilución al doble debe tener un sesgo <sup>a</sup> ≤10%	sesgo 5.29% (IC <sup>b</sup> 95%: 3.44%, 7.17%)
Repetibilidad (Precisión intra-ensayo)	Medir el grado de reproducibilidad	DER <sup>c</sup> 8.66% (IC 95%: 5.87%, 16.14)
Precisión intermedia (Precisión inter-ensayo)	DER ≤ 20%	DER 12.10% (IC 95%: 8.13%, 25.08%)
Límite de detección	Identificar el nivel más bajo detectable de analito	0.0021 unidades/ml
Límite de cuantificación	Identificar el nivel más bajo medible que tenga DER ≤20%	0.120-21.2 unidades/ml (correspondiente a un rango de respuestas de 5%-94%)
Repetibilidad	Diferencia tolerable promedio DER ±20%	DER 11.95%, (IC 95%: 7.18%, 33.91%)
Robustez	Sin evidencia estadísticamente significativa de borde o estabilidad de la placa recubierta	DER ≤7%
Linealidad	Sin evidencia estadísticamente significativa de ausencia de paralelismo entre las muestras	0.375 - 6.00 unidades/ml
Rango	Rango de trabajo de la curva estándar	Rango cuantificable = 0.120-21.2 unidades/ml

<sup>a</sup>El incremento porcentual en la concentración observada de una muestra respecto a su concentración teórica (suponiendo que no hay efecto de dilución) cuando se diluye al doble.  
<sup>b</sup>IC: Intervalo de confianza  
<sup>c</sup>DER: Desviación estándar relativa

**Conclusión:**

El Procedimiento de Control 9110.654 ha sido validado para usarse en la cuantificación del contenido de antígeno de glicoproteína de VVZ en muestras de granel final. Los experimentos de validación efectuados han demostrado que el ensayo de antígeno de varicela es específico, exacto, preciso, repetible y robusto. Así mismo, se han definido el límite de cuantificación, límite de detección, rango lineal y rango cuantificable del ensayo.

**4.10 Procedimiento de control 9110.668: Ensayo de seguridad de cultivo tisular de vacunas de virus vivo, vacuna para hepatitis A y bancos celulares**

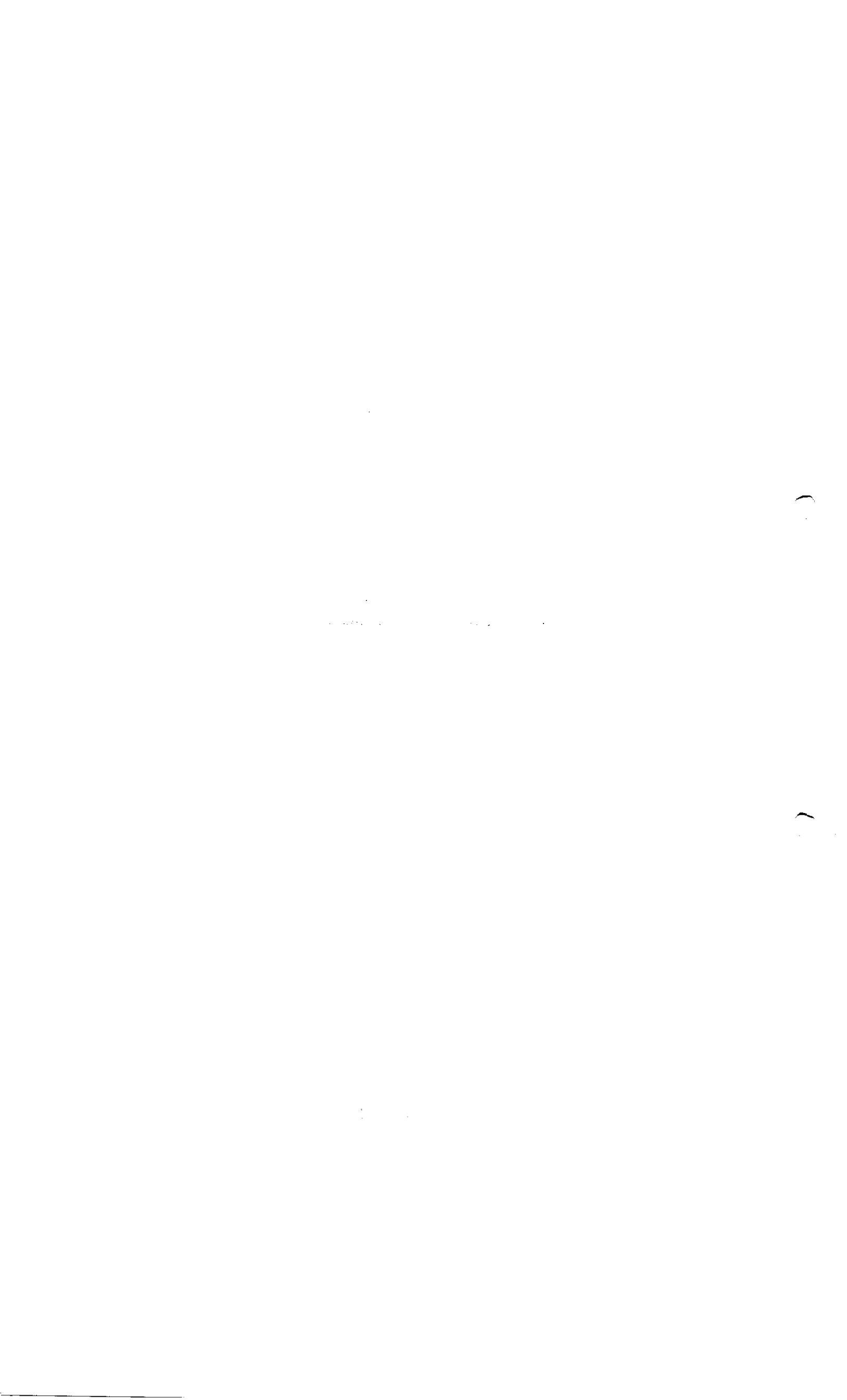
El Procedimiento de Control (CP) 9110.668 describe una Ensayo de pureza in vitro para la detección de agentes extraños. La Ensayo es un método de análisis cualitativo para la detección de agentes transmisibles capaces de alterar las características morfológicas o de crecimiento de las células en cultivo.

MERCK SHARP & DOHME ARG INC

Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 11.526



Se Ensayon muestras de granel preclarificado y sonicado, el banco de células de trabajo del fabricante (MWCB), la recolección de control final de semilla madre, medio utilizado de semilla madre, semilla madre sonicada y preclarificada y fluido de control recolectado en cultivos celulares de epitelio de riñón de mono verde africano (Vero) y de fibroblastos de pulmón, diploides, humanos, macho (MRC-5). La fuente de control de semilla de almacenamiento y la fuente de control de semilla madre se Ensayon en cultivos celulares Vero, MRC-5 y de epitelio de adenocarcinoma humano (HeLa). La semilla de almacenamiento sonicada se Ensayo en cultivos celulares Vero, MRC-5 y de epitelio de riñón de mono Rhesus (LLC-MK<sub>2</sub>). Las muestras se Ensayon por un total de 28 días, que incluyen un subpasaje de un porcentaje de los fluidos de cultivo hacia matraces con cultivo celular nuevo en el Día 14. Los cultivos celulares se examinan cada 7 días en busca de presencia de agentes extraños, según lo evidencie la degeneración de la capa celular. Los cultivos Vero, HeLa y MRC-5 inoculados con muestras de fuente de control también se Ensayon para virus hemadsorbentes.

El CP 9110.668 ha sido validado durante tres fases experimentales. La Fase I y la Fase II evaluaron la especificidad, la precisión inter-ensayo y la repetibilidad. La Fase III incluyó cuantificación de muestra y abordó la especificidad. La sensibilidad de la línea celular se evaluó por inoculación de un panel de virus en cinco diluciones seriales, que iban de 0.01 a 100 log TCID<sub>50</sub>/2.0 ml (dosis infecciosa para cultivo celular). Los virus se probaron en los tipos de células más sensibles: MRC-5 y Vero. Entre los virus elegidos para la Ensayo figuran el virus herpes simplex 1, poliovirus 1, parainfluenza 3, influenza A, adenovirus 5, virus simlano 40, citomegalovirus humano, rinovirus 2 y reovirus 3. Estos virus son representativos de agentes patológicos que podrían encontrarse como contaminantes durante el proceso de manufactura. El virus influenza A sólo se usó en la primera fase de los experimentos de validación, debido a que no se propagó en tipos celulares humano y simiano continuos.

En la [Tabla 24] se lista un resumen de cada parámetro evaluado durante la validación del método. Los parámetros de ensayo abordados fueron especificidad, precisión inter-ensayo y repetibilidad. La exactitud, precisión intra-ensayo, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), linealidad, rango y robustez no se evaluaron durante esta validación de ensayo.

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51.625

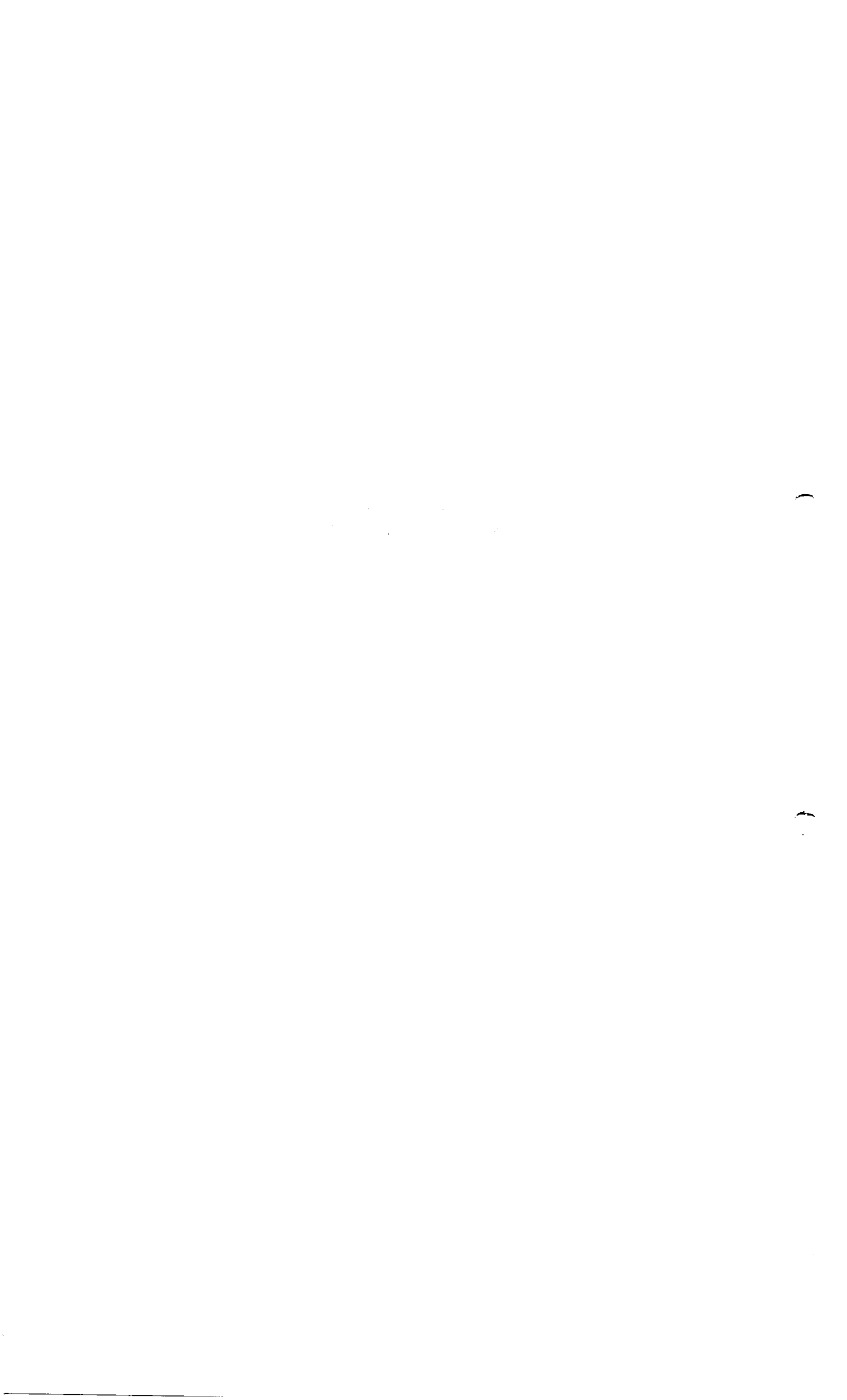




Tabla 24: Resumen de los resultados de validación para el procedimiento de control 9110.668: Ensayo de seguridad en cultivo tisular de vacunas de virus vivo, vacuna para hepatitis A y bancos celulares

Parámetro de validación	Criterio de aceptación	Resultado exacto
Especificidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>CPE<sup>a</sup>, HAd<sup>b</sup>, o CPE y HAd deben observarse únicamente en los matraces inoculados con virus.</li> <li>No debe observarse CPE en los controles negativos.</li> <li>El CPE debe ser característico del virus inoculado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No se observaron CPE y/o hemadsorción indicativos de infección viral en ningún cultivo de control negativo.</li> <li>Excepto por dos instancias (influenza A y adenovirus), el rango de célula huésped observado para cada agente fue característico del agente inoculado. Se observó infección por adenovirus en células Vero, confirmada por subpasaje y neutralización con anti-suero específico de adenovirus. El CPE debido a infección con influenza no se pudo transmitir, indicando probable origen en toxicidad en la infección primaria.</li> </ul>
Precisión intermedia (Precisión inter-ensayo)	Los niveles de infectividad aparentes deben ser similares ( $\pm 1 \log$ TCID50/2.0 ml) para cada preparación de virus entre los dos experimentos realizados.	Se observó detección consistente de la infectividad, dentro de los límites especificados, en una gran mayoría de infecciones realizadas.
Repetibilidad	Esta será caracterizada como el grado en el cual distintas condiciones de cultivo afectan la sensibilidad y reproducibilidad de la detección viral.	La repetibilidad se demostró debido a que los resultados de titulación para el panel de virus modelo, en diferentes tipos de tejido, fueron similares bajo dos condiciones diferentes de cultivo celular.

<sup>a</sup>CPE: Efecto citopático.

<sup>b</sup>HAd: Hemadsorción

**Conclusión:**

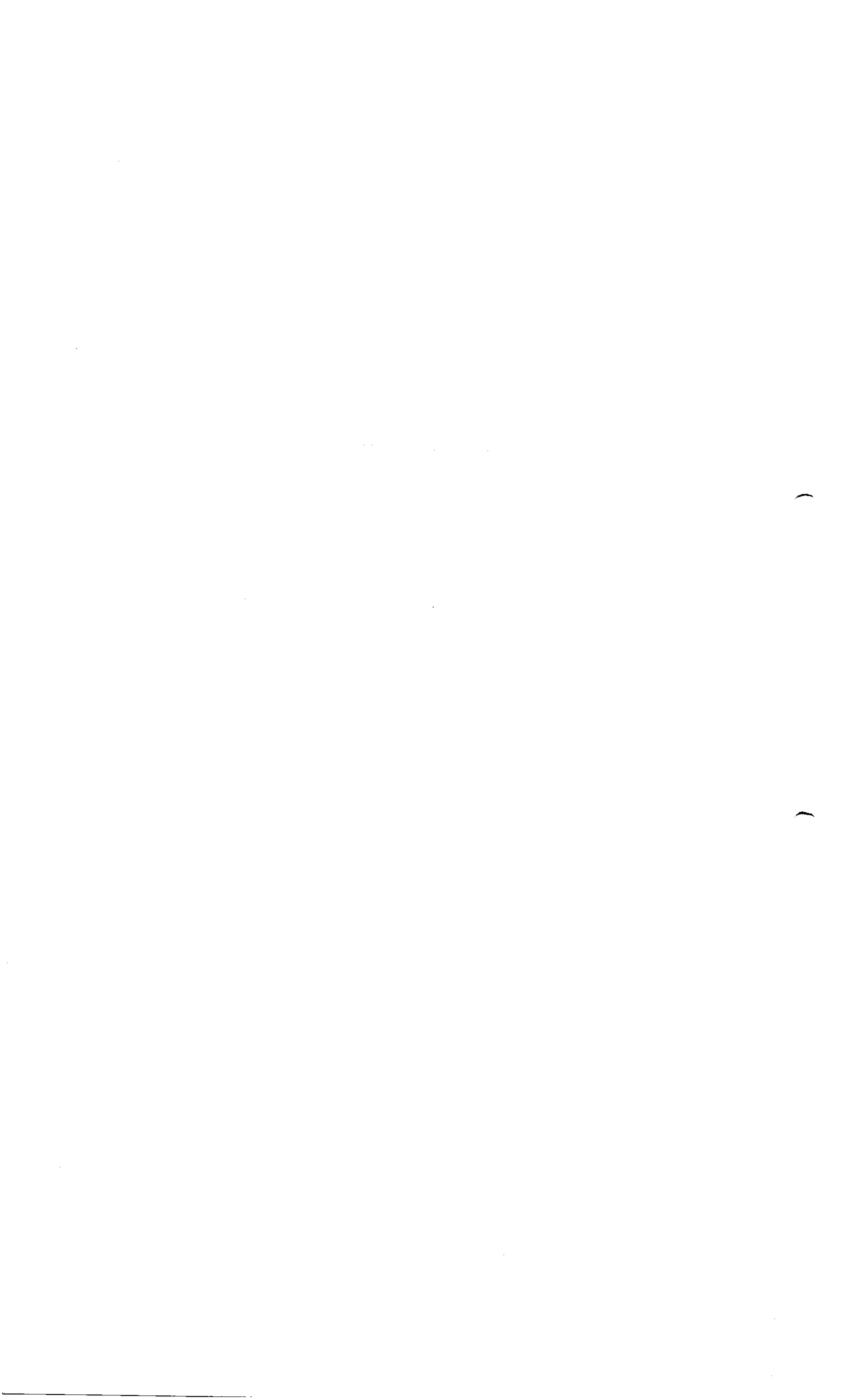
El CP 9110.668 es un procedimiento validado que se usa para examinar granel preclarificado y sonicado, fluido de control recolectado, bancos de células de trabajo de fabricante, medio ya utilizado de banco de células maestro, semilla de almacenamiento sonicada, fuente de control de semilla de almacenamiento, medio ya utilizado de semilla de almacenamiento P30, semilla madre preclarificada y sonicada, fuente de control de semilla madre y recolección de control final de semilla madre para la presencia de agentes extraños. El procedimiento es consistente con los requerimientos regulatorios para probar vacunas a granel y fluidos de control.

MERCK SHARP & DOHME ARG INC

Fam. MARIA DECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRÍCULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51.528



4.11 Procedimiento de control 9110.736: Cuantificación de albúmina sérica bovina residual en vacunas a granel de virus vivo por inmunoensayo enzimático 29

El Procedimiento de Control (CP) 9110.736 describe una Ensayo para impurezas derivadas del proceso. Con esta Ensayo se cuantifica la cantidad de albúmina sérica bovina (BSA) residual en vacuna a granel.

En la [Tabla 25] se lista un resumen de cada parámetro evaluado durante la validación del método. Los parámetros de ensayo abordados fueron especificidad, exactitud, precisión intra-ensayo, precisión inter-ensayo, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), linealidad, rango y repetibilidad. La robustez no se evaluó durante esta validación de ensayo.

**Tabla 25: Resumen de los resultados de validación para el Procedimiento de Control 9110.736: Cuantificación de albúmina sérica bovina residual en vacunas a granel de virus vivo por inmunoensayo enzimático.**

Parámetro de validación	Criterios de aceptación	Resultado exacto
Especificidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>La densidad óptica del medio T debe ser &lt;0.135.</li> <li>La densidad óptica del diluyente debe ser &lt;0.135.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Densidad óptica promedio para el medio T: 0.0061</li> <li>Densidad óptica promedio para el diluyente: -0.0001</li> </ul>
Exactitud	Las recuperaciones de la inoculación deben estar entre el 80-120% del inóculo.	Las recuperaciones de la inoculación fueron de 79 a 103%.
Repetibilidad (Precisión intra-ensayo)	La repetibilidad debe ser $\leq 10\%$ de la DER <sup>a</sup> dentro de una corrida	DER de la repetibilidad: 9.5%
Precisión intermedia (Precisión inter-ensayo)	La repetibilidad debe ser $\leq 20\%$ de la DER entre corridas independientes	La DER de la precisión intermedia: 11.2%
Límite de detección	El nivel más bajo de BSA <sup>b</sup> que puede ser detectado	Límite de detección: 2.85 ng/ml
Límite de cuantificación	El nivel más bajo de BSA que puede ser medido con una precisión de $\leq 20\%$ de la DER	Límite de cuantificación 4.1 ng/ml
Linealidad	Los efectos de la dilución deben ser $\leq 20\%$ del sesgo <sup>c</sup> por dilución	Sesgo porcentual: 6.4%
Rango	El rango utilizable de la curva estándar que se determina por exactitud y precisión inter-ensayo	Rango: 4.1 - 200 ng/ml
Repetibilidad	Las diferencias entre los laboratorios deben ser $\leq 20\%$ .	Las diferencias entre los laboratorios deben ser: 4.25%

<sup>a</sup>DER: Desviación Estándar Relativa

<sup>b</sup>BSA: Albúmina sérica bovina

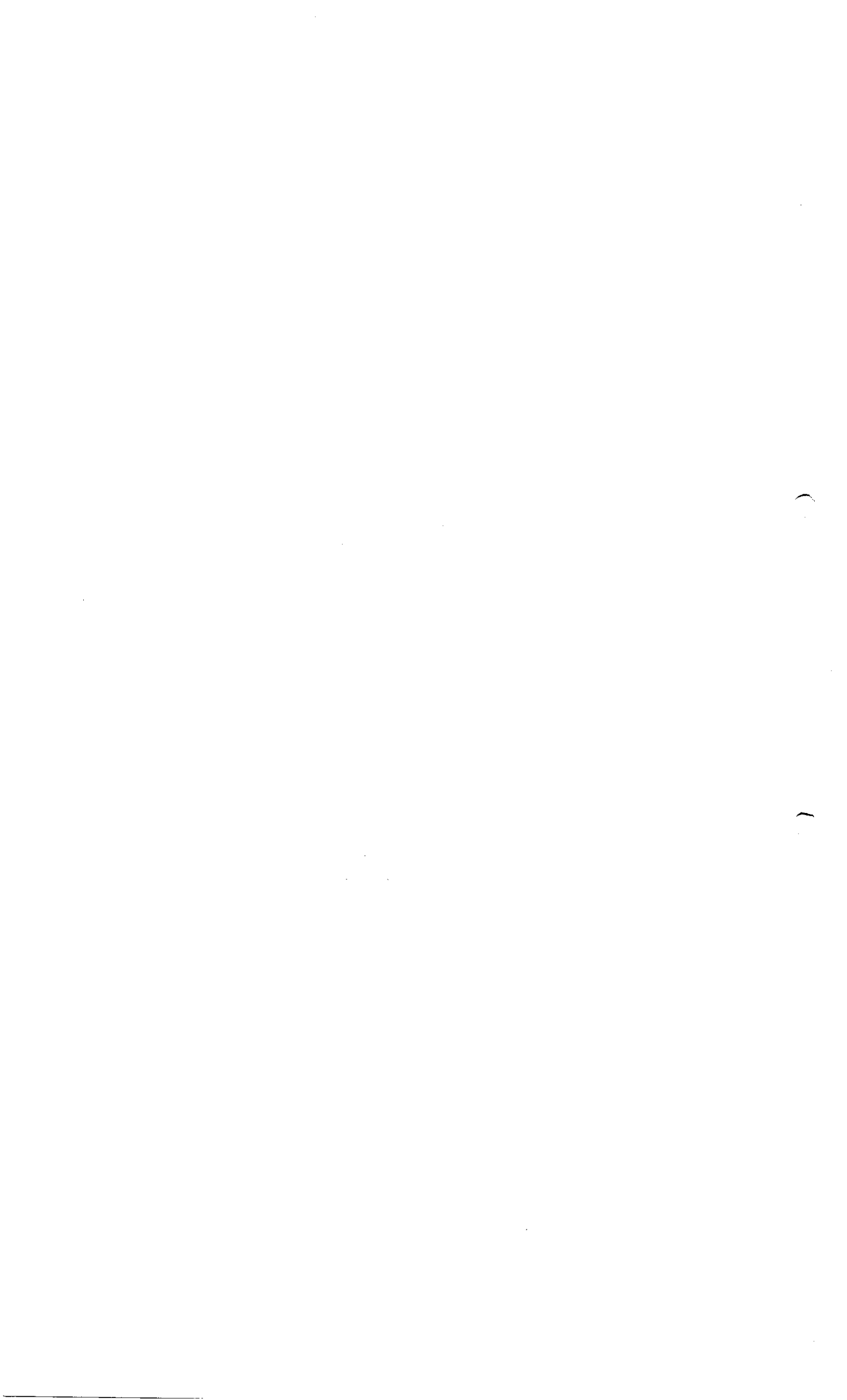
<sup>c</sup>Sesgo % es el aumento porcentual aparente en la concentración observada de una muestra respecto a su concentración teórica (suponiendo que no hay efecto de la dilución) cuando se diluye al doble.

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC

Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51.525





**Conclusión:**

El CP 9110.736 ha sido validado para la cuantificación de albúmina sérica bovina residual en el granel final. La validación ha demostrado una exactitud, precisión intra-ensayo, precisión inter-ensayo, especificidad y repetibilidad aceptables. El límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ) y el rango del ensayo cumplen con los requerimientos regulatorios pertinentes.

Los experimentos de calificación de la muestra demostraron que no hay interferencia de matriz en la detección de la albúmina sérica bovina en el granel final.

**4.12 Procedimiento de control 9110.744: Identidad cariológica y certificación cariológica del banco de células**

El Procedimiento de Control (CP) 9110.744 describe dos Ensayos de liberación de monitoreo cromosomal. La primera Ensayo de liberación es para la certificación del banco de células de trabajo del fabricante (MRC-5) empleada en la producción de virus de varicela-zóster (VVZ). La segunda Ensayo de liberación es una verificación de la identidad de las células usadas para cada lote de producción de vacuna a granel. La línea celular diploide humana MRC-5 está bien estudiada y caracterizada en la literatura. Los requerimientos del control kariológico para el uso de esta línea celular en la producción de vacunas han quedado establecidos. Los límites de aceptabilidad de cada parámetro cariológico, discutidos en este reporte, son explícitamente aplicables a las células MRC-5. La validación de estos ensayos usó células previamente preparadas y analizadas de bancos celulares MRC-5 (macho, humanas) y WI-38 (femeninas, humanas) y células MRC-5 comercialmente disponibles.

La precisión inter-ensayo y la repetibilidad se evaluaron en la validación de estos ensayos, que caracterizaron la variabilidad en las frecuencias de anormalidades en la certificación cariológica de bancos celulares diploides humanos. La variabilidad surge de cambios en los analistas y de la variación de la muestra en el nivel de fuente y matraz. Se llevaron a cabo dos experimentos separados para evaluar la precisión inter-ensayo y la repetibilidad. La culminación exitosa del estudio de repetibilidad significó la validación de la Ensayo de identidad cariológica y el cumplimiento de uno de los requerimientos para la validación del ensayo de certificación cariológica de banco celular. La culminación exitosa del estudio de precisión inter-ensayo, en conjunción con la culminación exitosa del estudio de repetibilidad, significó la validación del ensayo de certificación cariológica del banco celular.

MERCK SHARP & DOHME ARG INC

Firma: MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 61525



En la [Tabla 26] se lista un resumen de cada parámetro evaluado durante la validación del método. Los parámetros de ensayo abordados fueron precisión inter-ensayo y repetibilidad. La exactitud, precisión intra-ensayo, especificidad, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), linealidad, rango y robustez no se evaluaron durante esta validación de ensayo. Estos parámetros no son relevantes para el monitoreo cromosómico de los cultivos de células diploides humanas.

**Tabla 26: Resumen de los resultados de validación para el Procedimiento de Control 9110.744: Identidad cariológica y certificación cariológica de banco de células**

Parámetro de validación	Criterios de aceptación	Resultado exacto
<b>Precisión intermedia</b> ( <i>Precisión inter-ensayo</i> )	Todas las diferencias de matraz a matraz en las raíces cuadradas de dos cuentas cualquiera, para cada tipo de anomalía, deben ser <3. Este análisis adopta la distribución de Poisson de los conteos.	La diferencia máxima entre los conteos fue <3.
<b>Repetibilidad</b>	Debe existir una concordancia del 100% entre los analistas en cuanto al sexo, especie y categorías de las anomalías en 18 de 20 células en metafase previamente analizadas y seleccionadas.	Concordancia del 100% entre los analistas en cuanto a la determinación del sexo, especie y normalidad de 20 células en metafase previamente analizadas y seleccionadas.

**Conclusión:**

El CP 9110.744 es un procedimiento validado para la certificación cariológica de bancos de células diploides humanas empleadas en la producción de vacunas que contienen virus de varicela zóster. Este procedimiento también está validado para usarse en la verificación de identidad (sexo y especie) para las células empleadas en la fabricación de lotes de producción hechos a partir de estos bancos de células certificados. Se cumplieron todos los criterios de aceptación para la validación de estos ensayos.

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Firm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51525





## 5) CONSISTENCIA DE LA PRODUCCION

### 5.1 Análisis de lotes

#### 5.1.2 Lotes de vacuna a granel empleados para formular vacuna zóster para desarrollo clínico, estabilidad, validación de proceso y consistencia clínica

El rastreo de número de lote en la [Tabla 27] resume los lotes de fluidos de virus recolectados (HVF) y los lotes de granel dispensado que se usaron para preparar los lotes de envases llenos (FC) con vacuna de virus de varicela zóster (VVZ), empleados en los estudios clínicos para desarrollo clínico, estabilidad, validación de proceso y consistencia clínica.

#### 5.1.3 Análisis de lote para lotes de fluidos de virus recolectados y controles asociados, empleados en la formulación de lotes de vacuna zóster

La Ensayo de liberación realizada en fluidos de virus recolectados y los controles empleados en la manufactura de todos los lotes de desarrollo clínico de 1998 (envejecidos y sin envejecer), los lotes para validación de proceso de 1998, los lotes envejecidos para desarrollo clínico de 1999, y los lotes de consistencia clínica se mencionan en la [Tabla 28]. Las Ensayos de liberaciones realizados en fluidos de virus recolectados y los controles empleados en la manufactura de todos los lotes de desarrollo clínico de 2003 y los lotes de estabilidad formal de 2003 se mencionan en la [Tabla 29]. Las Ensayos de liberación realizados en fluidos de control recolectados y los controles usados en la manufactura de lotes para validación de proceso de 2004 se mencionan en la [Tabla 30].

#### 5.1.3 Análisis de lote para lotes de granel dispensado, empleados para formular lotes de vacuna zóster

Las Ensayos de liberación y suplementarias realizadas en los lotes de granel dispensado que se usaron en la manufactura de todos los lotes de desarrollo clínico (envejecidos y sin envejecer) de 1998, los lotes para validación de proceso de 1998, los lotes para desarrollo clínico envejecidos de 1999 y los lotes de consistencia clínica se mencionan en la [Tabla 31] y la [Tabla 32]. Las Ensayos de liberación y suplementarias realizadas en los lotes de granel dispensado en la manufactura de todos los lotes de desarrollo clínico de 2003 y los lotes de estabilidad formal de 2003 se proporcionan en la [Tabla 33] y la [Tabla 34]. Las Ensayos de liberación y suplementarias realizadas en los lotes de granel dispensado, utilizados en la manufactura de los lotes para validación de proceso de 2004 se mencionan en la

[Tabla 35] y la [Tabla 36].

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51525

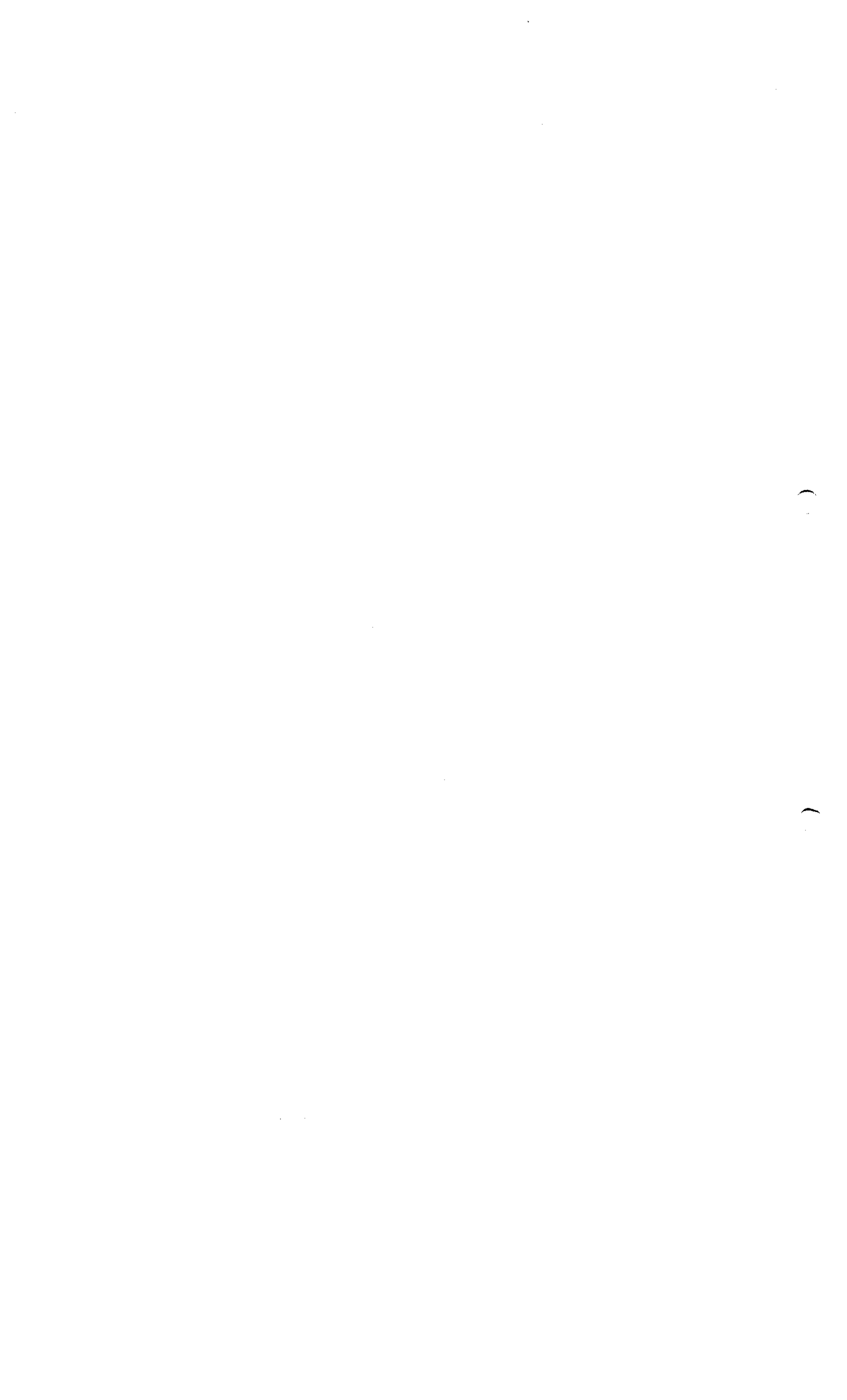




Tabla 27: Rastreo de número de lote para fluidos de virus recolectados y lotes de granel dispensado, empleados en lotes de vacuna zóster

Grupo de lote de vacuna	Lote de fluidos de virus recolectados		Lote de granel dispensado		Lote de contenedor llenado	
	Lote	Fecha de manufactura	Lote	Fecha de manufactura	Lote lleno (Lote añejado) <sup>a</sup>	Fecha de llenado
Lote desarrollo clínico 1998	2051866 <sup>b</sup>	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0500823	08-may-1998
Lote desarrollo clínico 1998	2051905 <sup>b</sup>	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0500824	08-may-1998
Lote desarrollo clínico 1998	2052395 <sup>b</sup>	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0500825	08-may-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998	2051866	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0500823 (0500853)	08-may-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998	2051905	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0500824 (0500854)	08-may-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998	2052395	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0500825 (0500855)	08-may-1998
Lote validación de proceso 1998	2051866	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0500873	24-jun-1998
Lote validación de proceso 1998	2051905	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0500874	01-jul-1998
Lote validación de proceso 1998	2052395	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0500875	06-jul-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998 (lote derivado PV) <sup>c</sup>	2051866	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0500873 (0500888)	24-jun-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998 (lote derivado PV)	2051905	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0500874 (0500889)	01-jul-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1998 (lote derivado PV)	2052395	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0500875 (0500890)	06-jul-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1999 (lote derivado PV)	2051866	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0500873 (0500889)	24-jun-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1999 (lote derivado PV)	2051905	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0500874 (0500890)	01-jul-1998
Lote desarrollo clínico envejecido 1999 (lote derivado PV)	2052395	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0500875 (0500991)	06-jul-1998
Lote de consistencia clínica <sup>d</sup>	2051866	23-dic-1997	2052777	20-ene-1998	0501015	11-oct-1999
Lote de consistencia clínica	2051905	30-dic-1997	2052778	27-ene-1998	0501016	15-oct-1999
Lote de consistencia clínica	2052395	06-ene-1998	2052779	03-feb-1998	0501017	26-oct-1999

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Fam. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APROBADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 51525

