

realizarse en futuros Bancos de células de trabajo del fabricante MRC-5. En

su lugar se implementarán Ensayos de identidad consistentes con la *Ph. Eur.* revisada, Sección 5.2.3, 56

Substratos celulares para la producción de vacunas destinadas a uso humano.

**Tabla 8: Ensayo de liberación en el Banco de Células de Trabajo del Fabricante MRC-5**

Ensayo	Especificación	Procedimiento de control	Banco de células madres del fabricante, lote 2026258
<b>Frasco de banco de células de trabajo del fabricante</b>			
Esterilidad <sup>a</sup>	No debe haber crecimiento	9110.001	Sin crecimiento
<b>Medio ya utilizado (de células <math>\geq</math> Nivel de duplicación de población de producción)</b>			
Esterilidad <sup>a</sup>	No debe haber crecimiento	9110.001	Sin crecimiento
Cultivo de células Vero <sup>a</sup>	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MRC-5 <sup>a</sup>	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Micoplasma, caldo/agar <sup>a</sup>	No debe observarse crecimiento	9110.113	Sin crecimiento
<b>Células (<math>\geq</math> nivel de duplicación de población para producción)</b>			
Esterilidad <sup>a</sup>	No debe haber crecimiento	9110.001	Sin crecimiento
Micoplasma, caldo/agar <sup>a</sup>	No debe haber crecimiento	9110.113	Sin crecimiento
Micoplasma, Hoechst <sup>a</sup>	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	No hay fluorescencia extranuclear
Ratones adultos <sup>a</sup>	Supervivencia de ratones $\geq 80\%$	9110.338	$\geq 80\%$ de los ratones sobrevivieron
Ratones lactantes <sup>a</sup>	Supervivencia de ratones $\geq 80\%$	9110.338	$\geq 80\%$ de los ratones sobrevivieron
Seguridad en cobayos <sup>a</sup>	Supervivencia $\geq 80\%$	9110.338	$\geq 80\%$ sobrevivieron
Seguridad en conejos <sup>a</sup>	Supervivencia $\geq 80\%$	9110.338	$\geq 80\%$ sobrevivieron
Cariólisis <sup>b</sup>	Se deben examinar 500 metafases y deben estar dentro de las especificaciones	9110.744	500 metafases examinadas y ninguna fuera de las especificaciones
Embrión de huevo - Ruta alantoica <sup>a</sup>	No debe haber muertes de huevos o anomalías gruesas, ni hemaglutinación <sup>c</sup>	9110.409	No hubo muertes de huevos o anomalías gruesas/ni hemaglutinación <sup>c</sup>
Embrión de huevo - Ruta de saco de yema <sup>a</sup>	No debe haber muertes de huevos o anomalías gruesas <sup>d</sup>	9110.410	No hubo muertes de huevos o anomalías gruesas <sup>d</sup>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vitro <sup>a</sup>	No debe haber crecimiento	9110.117	No hubo crecimiento
Cultivo de células vero <sup>a</sup>	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MRC-5 <sup>a</sup>	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Bacteriófagos <sup>a</sup>	No se detectaron bacteriófagos	9110.220	No se detectaron bacteriófagos

<sup>a</sup>Ensayo para agente extraño.

<sup>b</sup>Esta Ensayo no habrá de realizarse en futuros bancos de células, pero será reemplazada por la Ensayo de huella digital de ácido nucleico (la especificación es "cumple") y de identidad por cariólisis (la especificación es "humana, masculina") para ser consistente con los requerimientos de la *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*.

<sup>c</sup>La especificación ha sido actualizada a lo siguiente: sin muertes de huevo o anomalías gruesas, negativa para agentes extraños transmisibles, sin hemaglutinación.

<sup>d</sup>La especificación ha sido actualizada a lo siguiente: sin muertes de huevos o anomalías gruesas, negativa para agentes extraños transmisibles.

<sup>e</sup>Ensayos realizadas por laboratorio contratado.

\*N/A indica que el número de procedimiento no es aplicable.

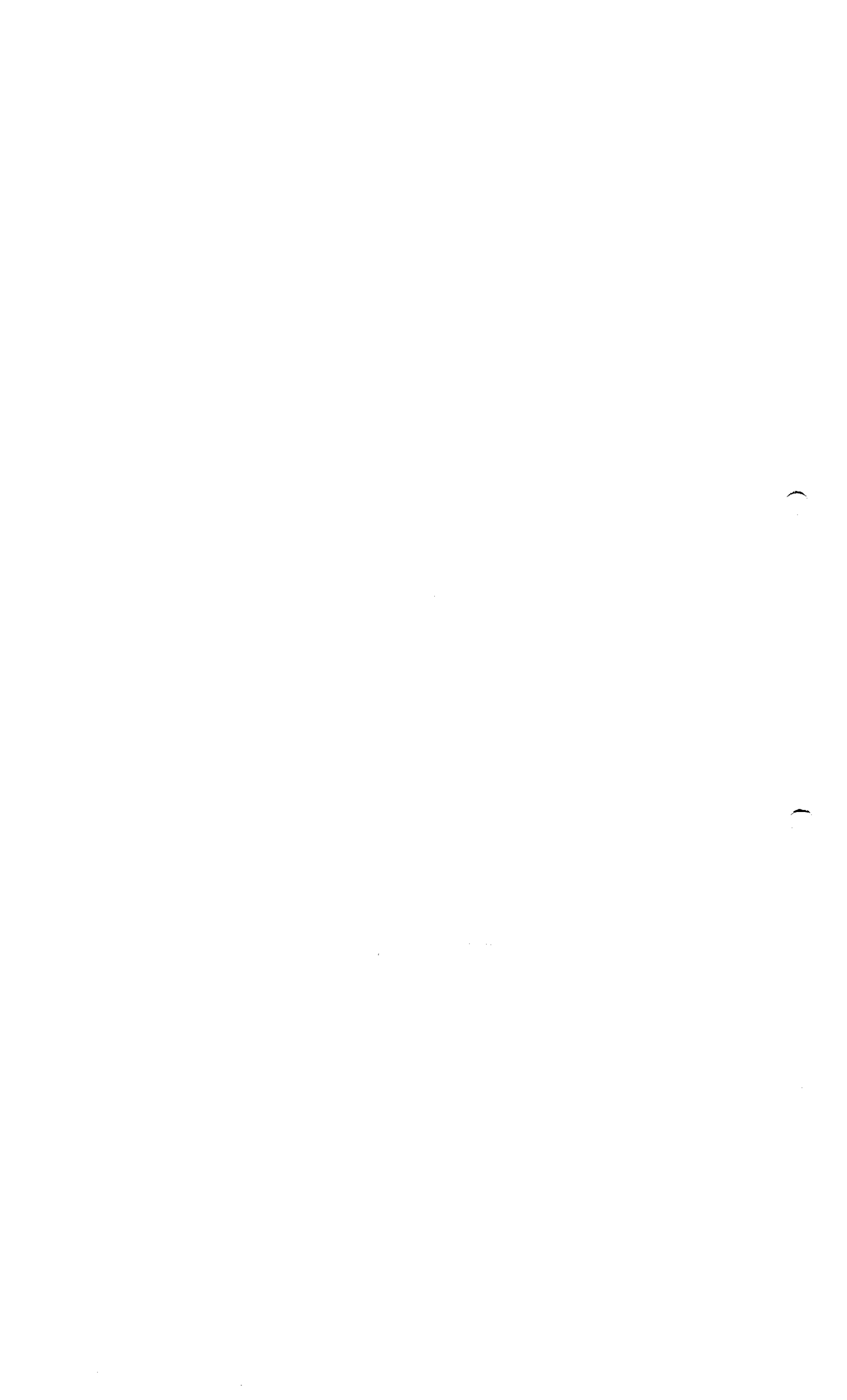
<sup>f</sup>PDL: Nivel de duplicación de la población

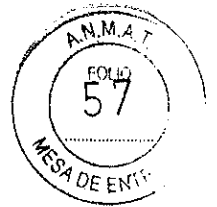
MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

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





### 2.3.3 Origen e historia del virus

#### 2.3.3.1 Historia del pasaje del virus

La cepa Oka del virus de varicela zóster (VVZ) fue desarrollada por el Dr. Michiaki Takahashi et al. En el Instituto de Investigación de Enfermedades Microbianas (Biken), de la Universidad de Osaka, Japón. El virus fue aislado a partir de fluido tomado de las vesículas de un niño de 3 años de edad con un cuadro de viruela de las aves. El virus fue aislado en células de pulmón embrionarias humanas primarias (HEL) y se pasó 11 veces en HEL a 34°C. La cepa posteriormente se hizo pasar 12 veces en fibroblastos de embrión de cobayo (GPE) para atenuar la cepa y una vez en células diploides humanas (WI-38) al Pasaje 24.

Un frasco de células infectadas congeladas en HEL<sub>11</sub> GPE<sub>12</sub> WI-38<sub>1</sub> de la cepa de VVZ Oka del Pasaje 24 fue recibido por Merck el 14 de marzo de 1984, proveniente de la Universidad de Osaka. Se realizó un pasaje en células MRC-5 a 35.5°C y se designó como Pasaje 25, Laboratorios de Investigación de Merck (MRL) Semilla Madre, Lote 93575. Pasajes adicionales, realizados en células MRC-5 a 35.5°C dieron por resultado el Pasaje 28 de la División de Manufactura de Merck (MMD) Semilla Madre, Lote 21902 [Tabla 9] y el Pasaje 28 MMD Semilla Madre, Lote 2061149 [Tabla 11]. Estas semillas madres se han usado para inocular las células MRC-5, a fin de producir semilla de almacenamiento en el Pasaje 29 y el Pasaje 30. La vacuna (Pasajes 31 y 32) está a tres o cuatro pasajes del virus de semilla madre.

En consecuencia, todos los lotes de semilla se derivan de la semilla de virus del Pasaje 24 recibida de la Universidad de Osaka. Es de mencionarse que la vacuna japonesa registrada y manufacturada por el Instituto Kanonji está en el Pasaje 32, y GlaxoSmithKline reporta una vacuna en el Pasaje 35.

#### 2.3.3.2 Semilla madre

La nomenclatura empleada en el dossier para los sistemas de lote de semillas difiere de la existente en la *Ph. Eur. Capítulo 5.2.1*. Sin embargo, el sistema de lotificación de semilla actualmente empleado cumple con los requerimientos de la *Ph. Eur.* La semilla correspondiente a la Semilla Madre de la *Ph. Eur.* (denominada como "semilla pre-madre" en el dossier) está en el Pasaje 25, y se designa como "Semilla Madre MRL, Lote 93575/MMD Semilla Pre-madre". Este lote de semilla se preparó en 1986.

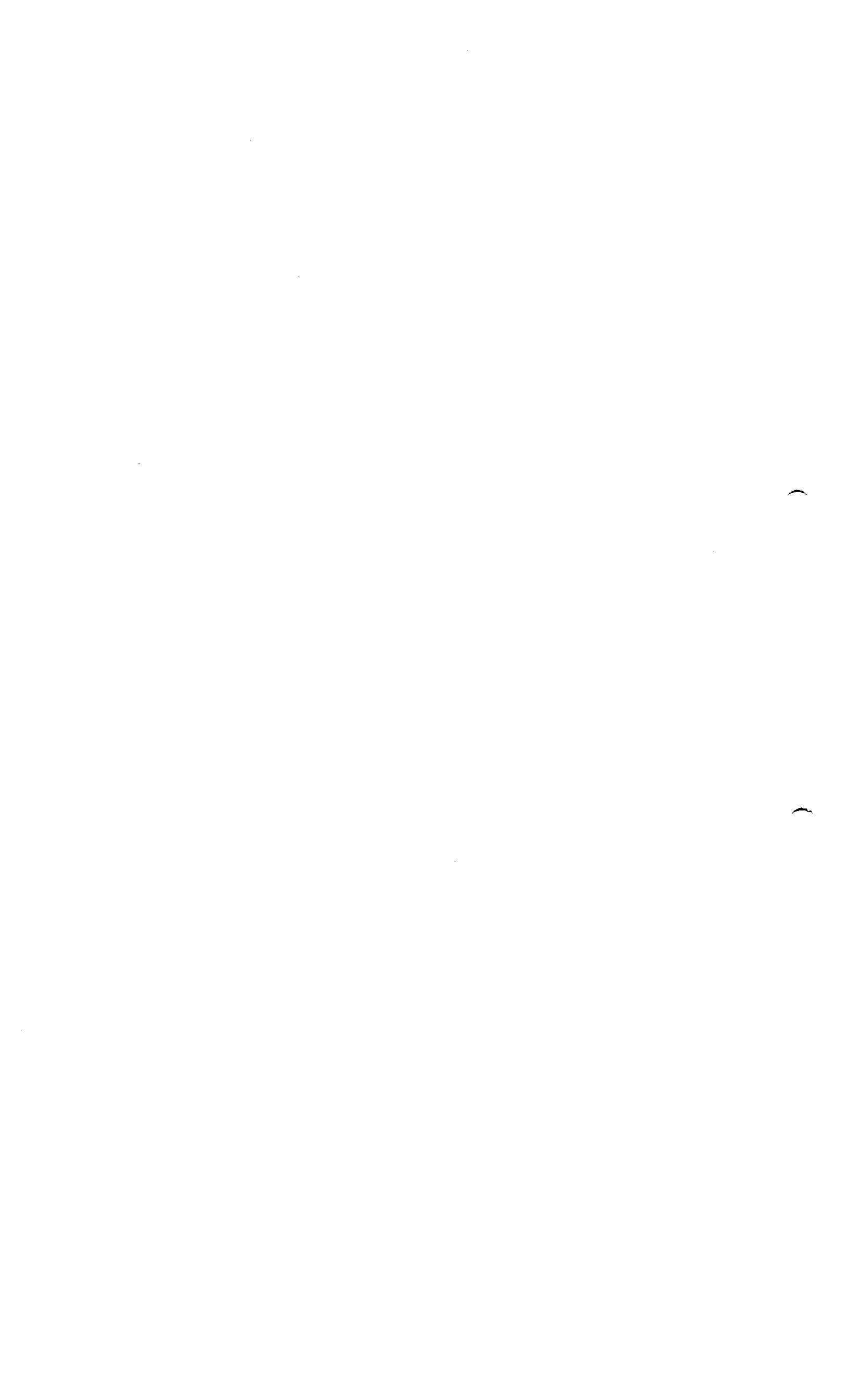
Se han preparado dos lotes de "semilla madre" a partir de la "semilla pre-madre" del Pasaje 25, Lote 93575: Semilla Madre Lote 21902 (Pasaje 28) manufacturada en 1990 y Semilla Madre Lote 2061149

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Farm. MARIA GEOLIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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



(Pasaje 28) manufacturada en 1999. Estos dos lotes de semilla madre del Pasaje 28 se prepararon por pasaje de Semilla Madre MRL Lote 93575 tres veces. En cada caso, el pasaje del virus resultó en una suspensión recolectada en tripsina de células infectadas que se criopreservó hasta su uso. Cada pasaje secuencial se hizo usando material titulado del pasaje previo, lo cual permitió la consistencia de la infección. La Semilla Madre Lote 21902 y la Semilla Madre Lote 2061149 han sido aprobadas en EE.UU. mediante Reconocimiento mutuo en 2003 para usarse en la manufactura de graneles de VARIVAX™, y ambas han sido empleadas para manufacturar graneles de vacuna zóster.

**2.3.3.2.1 Semilla Madre Lote 21902**

Las células MRC-5 se expandieron en matraces T y después en botella "roller" para obtener la masa de células deseada para la infección con virus. La Semilla Pre-Madre Lote 93575 MMD del Pasaje 25 se expandió a la Semilla Pre-madre Lote 21764 MMD del Pasaje 26 y después a la Semilla Pre-Madre Lote 21763 MMD del Pasaje 27. Las células MRC-5 se infectaron entonces con la Semilla Pre-Madre Lote 21763 del Pasaje 27. Después de la incubación, el virus se cosechó y congeló como la Semilla Mestra Lote 21902 del Pasaje 28.

**2.3.3.2.1.1 Historial del pasaje**

Merck recibió un frasco de células infectadas congeladas en HEL<sub>11</sub> GPE<sub>12</sub> WI-38<sub>1</sub> (Pasaje 24) de parte del Dr. M. Takahashi, Instituto de Investigación para Enfermedades Microbianas (Biken), de la Universidad de Osaka, Osaka, Japón.

El historial del pasaje en Merck para la Semilla Madre Lote 21902 se resume en la [Tabla 9].

**Tabla 9: Historial del pasaje - Semilla Madre Lote 21902**

Nivel de pasaje	Fecha de infección	Fecha de recolección	Comentarios
HEL <sub>11</sub> GPE <sub>12</sub> WI-38 <sub>1</sub> MRC-5 <sub>1</sub>	03-Julio-1986	08-Julio-1986	Semilla Madre MRL Pasaje 25 (Semilla Pre-Madre MMD Pasaje 25) (Lote 93575) <sup>a</sup>
HEL <sub>11</sub> GPE <sub>12</sub> WI-38 <sub>1</sub> MRC-5 <sub>2</sub>	17-October-1990	19-October-1990	Semilla Pre-Madre MMD Pasaje 26 (Lote 21764 <sup>b</sup> )
HEL <sub>11</sub> GPE <sub>12</sub> WI-38 <sub>1</sub> MRC-5 <sub>3</sub>	27-Noviembre-1990	29-Noviembre-1990	Semilla Pre-Madre MMD Pasaje 27 (Lote 21763 <sup>b</sup> )
HEL <sub>11</sub> GPE <sub>12</sub> WI-38 <sub>1</sub> MRC-5 <sub>4</sub>	17-Diciembre-1990	19-Diciembre-1990	Semilla Madre MMD Pasaje 28 (Lote 21902)

<sup>a</sup>La nomenclatura empleada en el dossier para los sistemas de lotificación de semilla difiere de la existente en la Ph. Eur. Capítulo 5.2.1. Sin embargo, el sistema de lotificación de semilla actual cumple con los requerimientos de la Ph. Eur.,

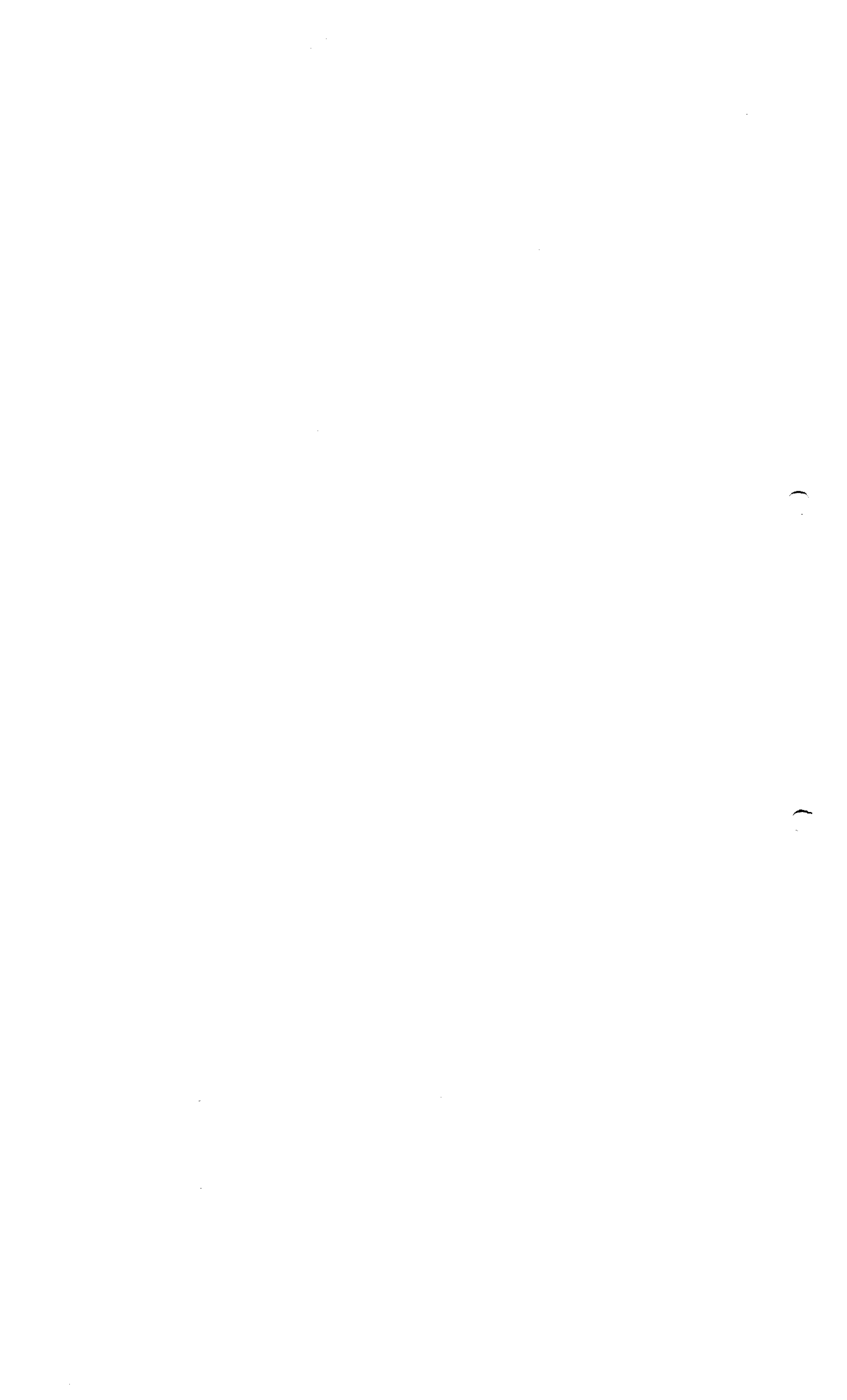
<sup>b</sup>A los documentos de proceso usados para manufacturar el Pasaje 26 y el Pasaje 27 se les asignaron inadvertidamente números de lote en orden inverso de la secuencia de manufactura actual.

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. #1.828





Todos los pasajes de Merck se hicieron en cultivos celulares de fibroblasto diploide MRC-5. Un pasaje de VVZ es una ronda de células MRC-5 de infección o no infectadas y la recolección subsiguiente de células infectadas de 1 a 3 días después.

**2.3.3.2.1.2 Diagrama de flujo del proceso**

En la [Figura 3] se resumen los pasos del proceso de manufactura y las Ensayos de liberación para el Pasaje 28 en la producción de Semilla Madre Lote 21902.

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC

FANNI MARIA DEBILIA 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

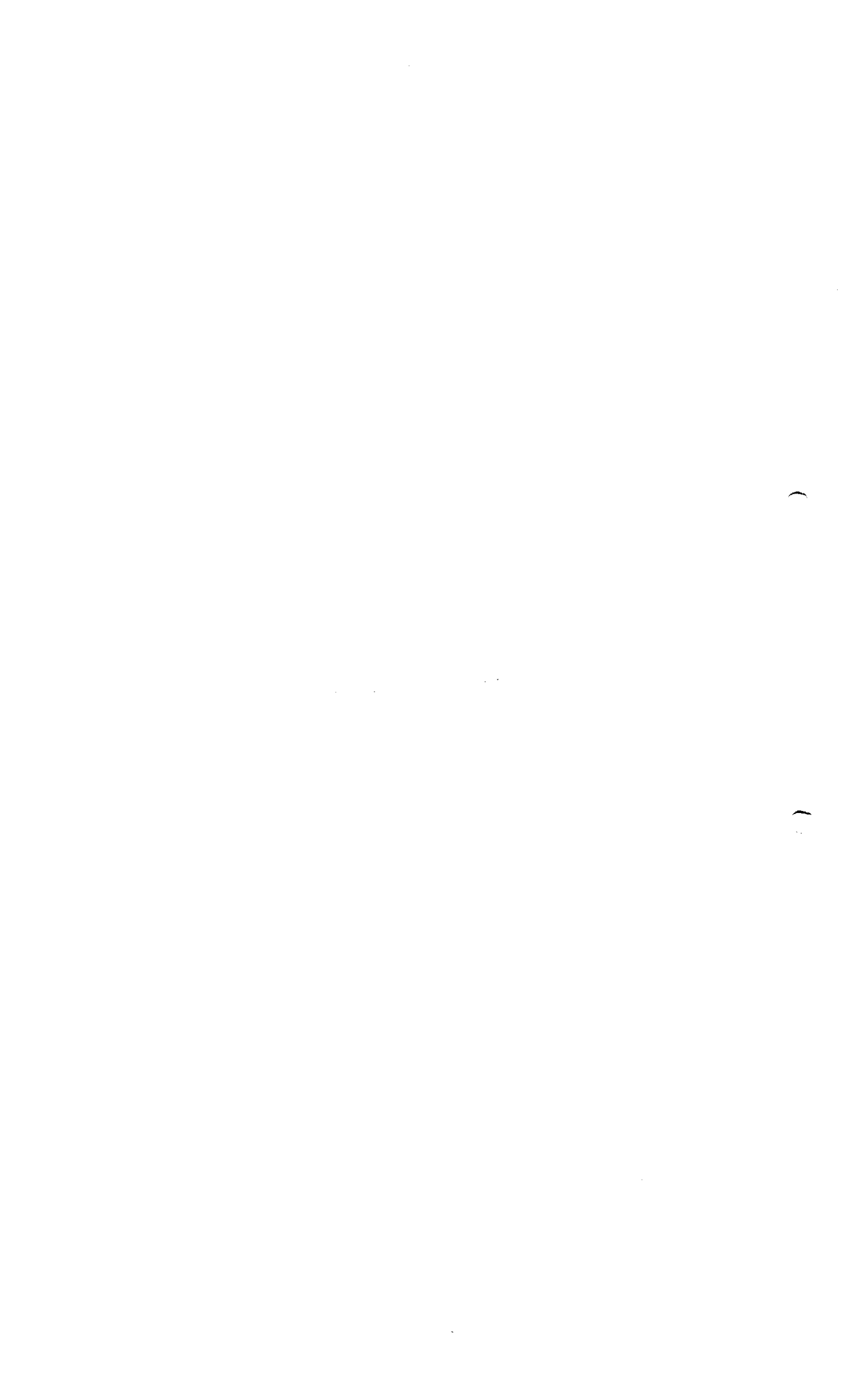
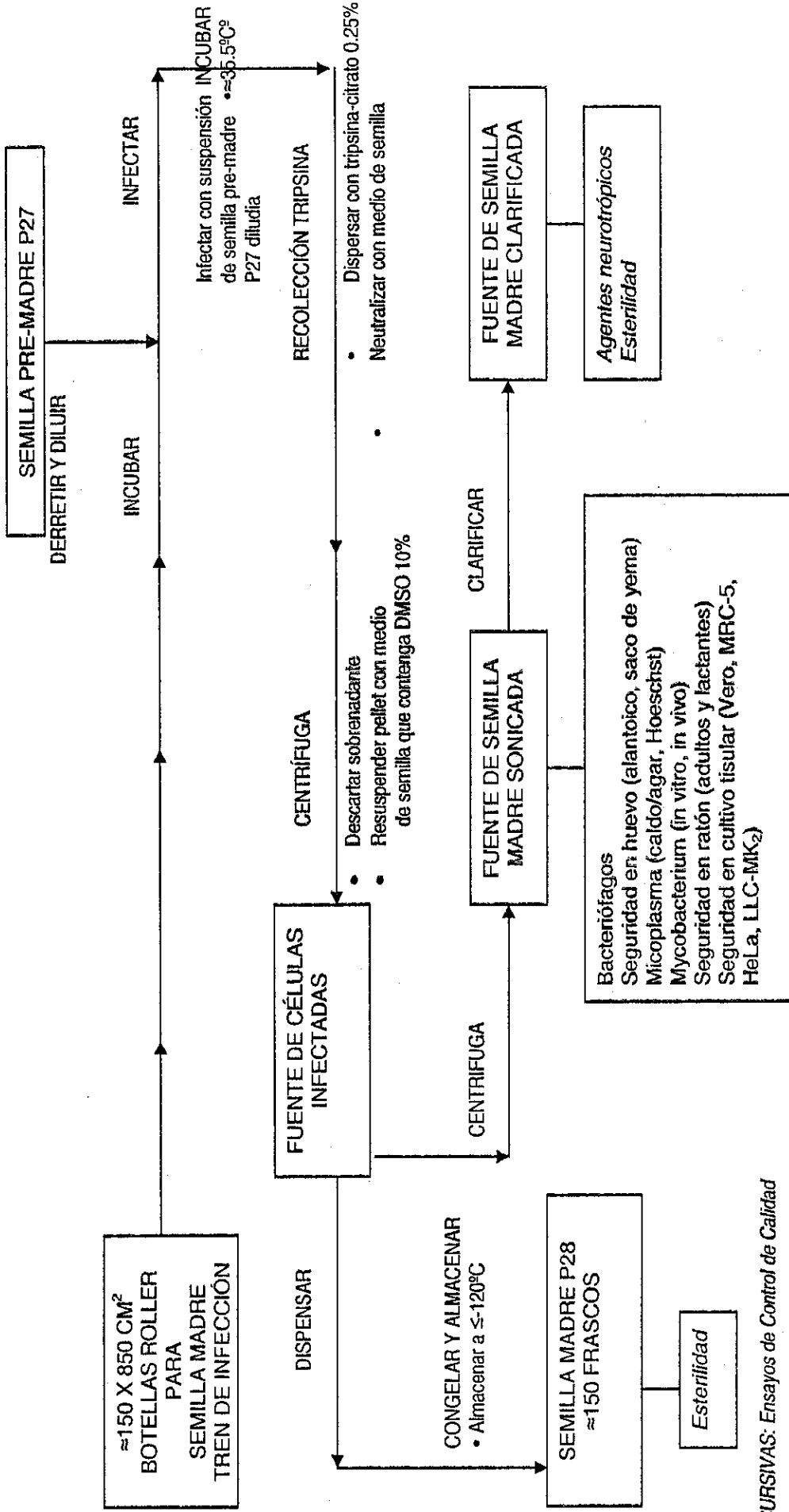


Figura 3: Proceso de infección de la semilla madre - Lote 21902

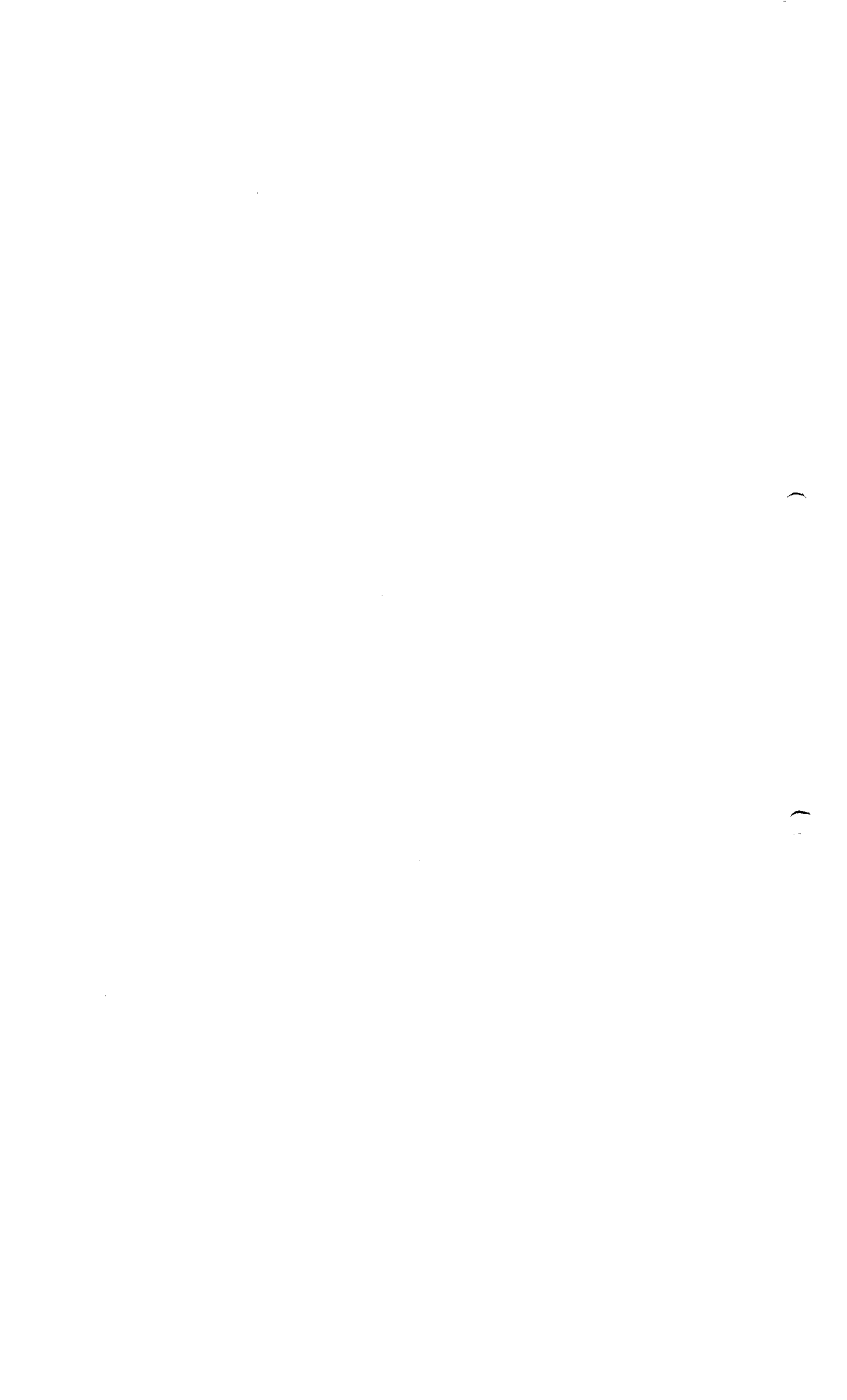


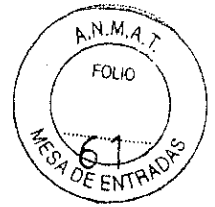
MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TECNICA  
MAT. NAC. 12374





### 2.3.3.2.1.3 Preparación de Semilla Madre Lote 21902

Un frasco de células MRC-5 del Banco de células de trabajo del fabricante se descongeló y expandió en medio de cultivo. Al momento de la inoculación del virus, los frascos de semilla pre-madre del Pasaje 27 se diluyeron con medio de mantenimiento y se usaron para infectar las células MRC-5 en botellas roller. Las botellas infectadas con virus se incubaron aproximadamente a 35.5°C. Las células infectadas con virus se recolectaron de las botellas por incubación con tripsina-citrato al 0.25%. La tripsina se neutralizó con medio de cultivo. La suspensión de células se centrifugó para retirar la tripsina-citrato. El sobrenadante se desechó, y las pellet de células resultantes se resuspendieron en medio de cultivo que contenía DMSO al 10%.

La suspensión de células recolectadas se vació en frascos, que se sellaron y congelaron. La suspensión de células congeladas constituye la semilla madre del Pasaje 28. Esta semilla madre congelada se dividió en dos grupos de frascos, que están almacenados en congeladores separados en las instalaciones de Merck West Point, Pennsylvania, EE.UU.

### 2.3.3.2.1.4 Ensayos de control analítico para Semilla Madre Lote 21902

Las descripciones de los procedimientos de control analítico practicados en la Semilla Madre Lote 21902 se describen en otra sección de la presente monografía, excepto por tuberculosis in vivo y neurovirulencia que se describen a continuación.

Los ensayos de embrión de huevo (ruta alantoica), embrión de huevo (ruta de saco de yema) y Ensayo de bacteriófago que se describen en la sección 2.3.2.1.2.

#### 2.3.3.2.1.4.1 Procedimiento de control 9110.355: Ensayo para Mycobacterium in vivo

El CP 9110.355, Ensayo para Tuberculosis in vivo (*Mycobacterium avium* y *Micobacterium tuberculosis*) describe una Ensayo para tuberculosis in vivo en muestras de semilla de almacenamiento y semilla madre para vacuna.

#### Muestras para Ensayo:

Semilla de almacenamiento preclarificada y sonicada.

Semilla madre.

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Fam. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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



**Líneas celulares y animales de Ensayo:**

Cobayos (*Cavia porcellus*) cepa Hartley, 250-350 g, de cualquier sexo.

62

**Procedimiento:**

A los cobayos se les inyecta intraperitonealmente 1 ml de una muestra de semilla de virus vivo y se les observa por 60 días a fin de detectar muerte o enfermedad aparente. A todo animal que muera durante el período de observación se le practica la autopsia y se realizan los cultivos, frotados y secciones adecuadas para determinar si la causa de la muerte es atribuible a infección por micobacterias. Al final del período de observación, los animales sobrevivientes son sacrificados y se les practica la autopsia y se les procesa de la misma manera que los animales que hayan fallecido durante la Ensayo. La Ensayo es satisfactoria si  $\geq 80\%$  de los animales sobreviven al período de observación y si las autopsias no revelan evidencia de infección por micobacterias presente en alguno de los animales de la Ensayo.

Si más del 20% de los animales muere, es posible llevar a cabo una repetición de la Ensayo como resultado de la investigación del fracaso de la Ensayo. La investigación consiste en autopsia integral y Ensayos específicas (cultivos, frotados y secciones pertinentes) para infección por micobacterias. Si las Ensayos específicas son negativas para micobacterias y la autopsia integral no muestra evidencia de tuberculosis, la Ensayo puede repetirse.

**Cumplimiento de Regulaciones Internacionales:**

No existe un lineamiento específico acerca de las muestras para Ensayo. Sin embargo, el CP 9110.355, descrito con anterioridad, es consistente con la *Ph. Eur.*, 3era. edición, 1977, 2.6.2. *Mycobacterium tuberculosis*. Este método de Ensayo ya no se describe en la mayoría de las ediciones recientes de la farmacopea, pero se ha continuado en todos los lotes de semilla pues proporciona seguridad adicional como se describió en la *Ph. Eur.* 2.6.16., Ensayos para agentes extraños en vacunas virales para uso humano.

**Validación del ensayo:**

Este ensayo no ha sido validado debido a que los parámetros de validación típicos no pueden aplicarse significativamente a Ensayos in vivo, como CP 9110.355. Siguiendo la Política Corporativa 9 de Merck, la compañía apoya la investigación de metodologías de Ensayo alternativas, científicamente válidas, y

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Fam. 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





reduce al mínimo el número de animales para investigación al emplear alternativas científicamente válidas que no contemplen la utilización de animales cuando sea posible.

En consecuencia, en lugar de la validación, el procedimiento ha sido revisado contra requerimientos y lineamientos regulatorios de todo el mundo y se observa que cumple con los requerimientos regulatorios señalados en la *Ph. Eur.*, Sección 2.6.2 (1997) *Mycobacterium tuberculosis*. Antes de 1995, los lotes de vacuna a granel de virus vivo se probaban en vivo de manera adicional a los lotes de semilla. Sin embargo, esta Ensayo posteriormente fue descontinuada por la OMS como requerimiento regulatorio. Así mismo, el *Código de Regulaciones Federales, Título XXI (21 CFR) 1996*, Estándares adicionales para vacunas virales, Parte 630.35(7) (sarampión) indica que la Ensayo de *Mycobacterium tuberculosis* in vitro es suficiente para dichas vacunas, y no se requieren Ensayos in vivo subsiguientes.

**Conclusión:**

El CP 9110.355 cumple con todos los requerimientos para la Ensayo de tuberculosis in vivo en las muestras de Ensayo.

**2.3.3.2.1.4.2 Procedimiento de control 9110.526: Ensayo de neurovirulencia**

El CP 9110.526, Ensayo de seguridad para neurovirulencia en monos para la producción de lotes de vacunas de virus vivos, se lleva a cabo para demostrar que la semilla madre, y en consecuencia el producto de la vacuna, no produce efectos neurotrópicos.

**Muestras para la Ensayo:**

- Placebo de Semilla Madre clarificado y sonicado.
- Semilla Madre colectada en perla, clarificada y sonicada
- Semilla Madre

**Referencias/Controles:**

- Control negativo: Ocho monos inyectados con placebo
- Control de contacto: Cuatro monos de contacto susceptibles, uninoculados

**Líneas celulares/Animales de Ensayo:**

- Mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*) 1.8 - 2.4 kg, de cualquier sexo
- Mono rhesus (*Macaca mulatta*) 1.8 - 2.4 kg, de cualquier sexo
- Mono cynomolgus (*Macaca fascicularis*) de 1.8 a 2.4 kg, de cualquier sexo

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC

Fdmt. MARIA GENILIA CAMPOS  
DIRECTORA TÉCNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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





**Procedimiento:**

La Ensayo in vivo para neurovirulencia en monos requiere inyección de semilla madre o placebo en *Macaca exentus* de virus (rhesus o cynomolgus) o monos *Cercopithecus* (verde africano) que sean de cualquier sexo y que pesen entre 1.8 y 2.4 kg. Un grupo de control de contacto de monos, que no son inoculados, se intercalan entre la población inoculada con vacuna. Antes de ser inyectados, se toma una muestra de sangre a los monos, a fin de verificar la presencia de anticuerpos a los antígenos del VVZ. Cada mono en los grupos de vacuna y placebo reciben las siguientes inyecciones de vacuna o placebo: inyección intratálamica de 1.0 ml, inyección intraespinal de 0.5 ml e inyección intramuscular de 1.0 ml. Así mismo, cada mono recibe intramuscularmente 4.0 ml de acetato de cortisona e intramuscularmente 1.0 ml de penicilina procaina.

Después de la inoculación, los monos se colocan en observación por 17 a 21 días, en busca de evidencia de trastornos neurológicos. Para que la Ensayo sea considerada como válida, un total del 70% de los monos deben sobrevivir las primeras 48 horas; y hasta el 30% de los monos se puede reemplazar con un número igual de monos clasificados. Todo mono que no sobreviva después de las primeras 48 horas se pesa y se somete a autopsia. Adicionalmente, por lo menos el 90% de los animales inyectados con la vacuna deben sobrevivir al período de Ensayo sin perder más del 25% de su peso corporal. Por otra parte, al menos el 80% de los animales inyectados con la vacuna que sobrevivan más de las primeras 48 horas deben mostrar evidencia gruesa o microscópica de trauma por inoculación en el área talámica del cerebro y la región lumbar de la médula espinal. Por último, para que la Ensayo sea considerada como válida, por lo menos el 80% de los monos inyectados con la vacuna deben mostrar conversión serológica de anticuerpos para el VVZ.

Después de terminar el período de Ensayo, se extrae sangre a los monos inoculados con la vacuna y el placebo, para finalmente practicarse la autopsia. Se colecta cerebro y médula espinal de cada mono para examinarse, tanto de manera gruesa como microscópica, para verificar si hay presencia de cambios neurológicos. Se considera que se pasa la Ensayo si no hay evidencia de cambios en el sistema nervioso central, tanto en monos inyectados con vacuna como en inyectados con placebo, atribuibles a la presencia de neurotropismo inusual o replicación del virus de semilla, y no hay evidencia de agentes neurotrópicos extraños. Las muestras de suero de los monos de control de contacto, extraídas al

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.  
 Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
 DIRECTORA TECNICA  
 MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.  
 Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
 DIRECTOR APODERADO PARA  
 ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
 MAT. NAC. 51.525





momento de inocular el virus de semilla y 10 días después del último día de observación, deben estar exentas de anticuerpos para el virus. Los monos de contacto no son sacrificados.

**Cumplimiento de Regulaciones Internacionales:**

El CP 9110.526 ha sido revisado contra requerimientos y lineamientos regulatorios de todo el mundo y es consistente con:

Ph. Eur. *Farmacopea Europea*, 2.6.18 Ensayos para neurovirulencia de vacunas de virus vivos

OMS Serie de reportes técnicos de la Organización Mundial de la Salud, Número 840, 1994, Anexo 3, *Ensayos en lotes de semilla de virus, Ensayos para neurovirulencia*, III.A.4.2.1

**Validación del ensayo:**

Los parámetros de validación típicos no son aplicables a este CP ya que no se aplican significativamente a Ensayos in vivo. En consecuencia, este ensayo no ha sido validado. Siguiendo la Política Corporativa 9 de Merck, la compañía apoya la investigación de metodologías de Ensayo alternativas, científicamente válidas, y reduce al mínimo el número de animales para investigación al emplear alternativas científicamente válidas que no contemplen la utilización de animales cuando sea posible. En consecuencia, en lugar de la validación, el procedimiento ha sido revisado contra requerimientos y lineamientos regulatorios de todo el mundo. El procedimiento es consistente con los siguientes requerimientos regulatorios: Serie de reportes técnicos de la Organización Mundial de la Salud, Número 840, 1994, Anexo 3, *Ensayos en lotes de semilla de virus, Ensayos para neurovirulencia*, III.A.4.2.1 y Ph. Eur., 2.6.18 Ensayos para neurovirulencia de vacunas de virus vivos.

**Conclusión:**

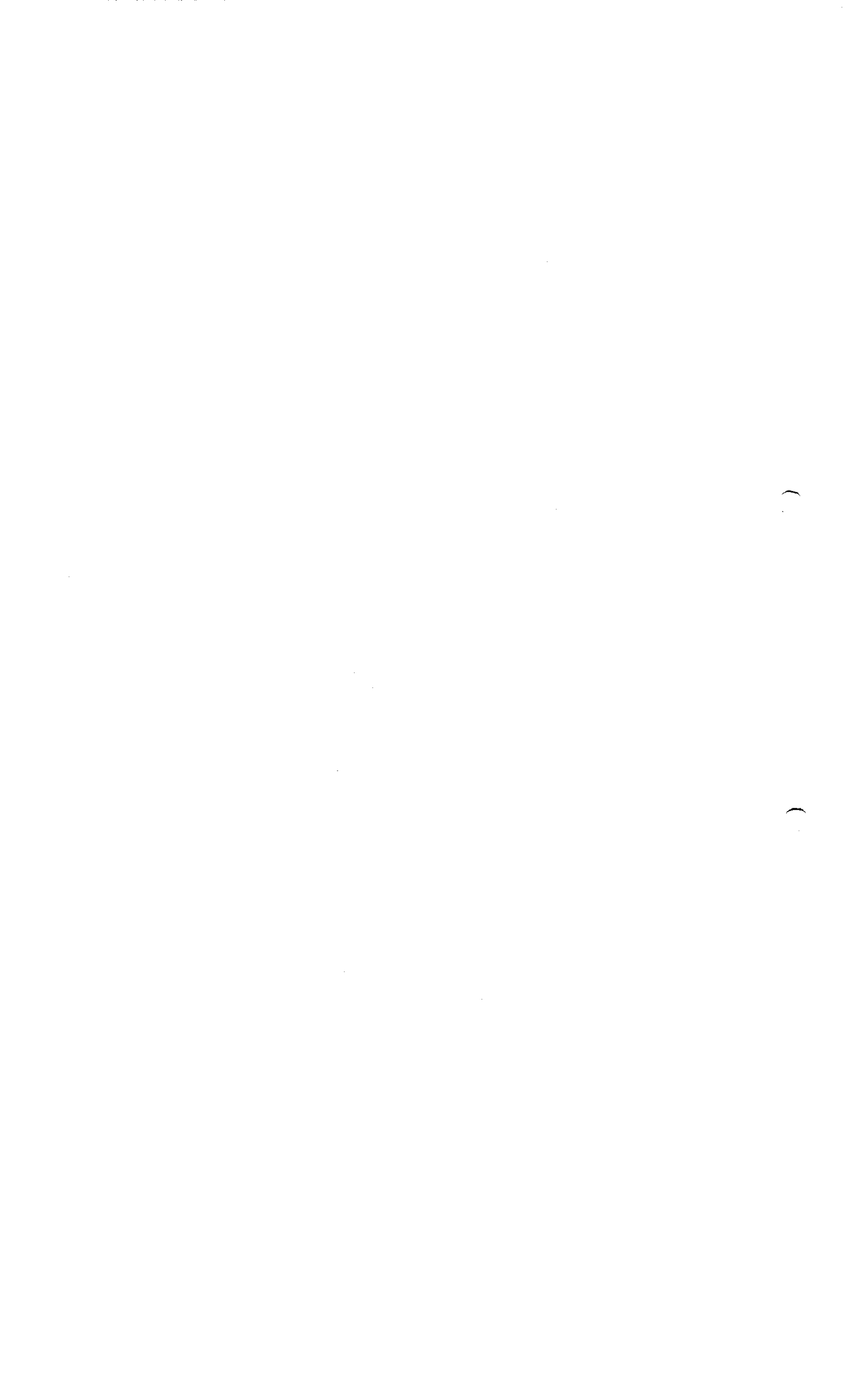
El CP 9110.526 cumple con todos los requerimientos regulatorios para Ensayo de neurovirulencia de semillas de virus. Se considera que las muestras de Ensayo son adecuadas para usarse como muestras en este CP.

**2.3.3.2.1.5 Ensayo de liberación en Semilla Madre, Lote 21902**

Los resultados de la Ensayo de liberación realizada en la Semilla Madre Lote 21902 se muestran en la [Tabla 10]. La semilla se probó de acuerdo con los *Puntos a considerar en la caracterización de líneas celulares empleadas para elaborar productos biológicos* (1993) del Centro de evaluación de investigación

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.  
Farm. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECCIÓN TÉCNICA  
MATRÍCULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.  
Dr. SANTIAGO RODRIGUE  
DIRECTOR APODERADO PARA  
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS  
MAT. NAC. 81.525



biológica (1993) y la *Ph. Eur.* Sección 2.6.16, Ensayos para agentes extraños en vacunas virales para uso humano. Los Ensayos de identidad se realizan después de la sonicación de la vacuna a granel, una vez que la neutralización de anticuerpo puede realizarse de manera confiable.

Tabla 10: Ensayo de liberación en Semilla Madre Lote 21902

Productos intermedios y Ensayo	Especificación	Procedimiento de control	Semilla Madre Lote 21902
<b>Semilla asociada a célula</b>			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	Sin crecimiento
Titulación de la infectividad	Para información	9110.551	6.54 x 10 <sup>5</sup> UFPa/ml
<b>Semilla preclarificada y sonicada</b>			
Micoplasma, Caldo/Agar	No debe haber crecimiento	9110.113	Sin crecimiento
Micoplasma, Hoechst	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	Sin fluorescencia extranuclear
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vitro	No debe haber crecimiento	9110.117	Sin crecimiento
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vivo	No debe haber crecimiento	9110.355	Sin crecimiento
Ratones adultos	Supervivencia de ratones ≥80%	9110.115	≥80% de los ratones sobrevivieron
Ratones lactantes	Supervivencia de ratones ≥80%	910.115	≥80% de los ratones sobrevivieron
Cultivo de células vero	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MRC-5	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células HeLa	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células LLC-MK <sub>2</sub>	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Embrión de huevo - alantoico	No debe haber muertes de huevo o anomalías gruesas/ni hemaglutinación <sup>b</sup>	9110.409	No hubo muerte de huevos o anomalías gruesas/ni hemaglutinación <sup>b</sup>
Embrión de huevo - saco de yema	No debe haber muertes de huevos o anomalías gruesas <sup>c</sup>	9110.410	No hubo muertes de huevos o anomalías gruesas <sup>c</sup>
Bacteriófagos	No se deben detectar bacteriófagos	9110.220	No se detectaron bacteriófagos
<b>Semilla clarificada y sonicada</b>			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Neurovirulencia de monos	No debe haber evidencia de neurovirulencia	9110.526	No hubo evidencia de neurovirulencia

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Fam. MARIA CECILIA CAMPOS  
DIRECTORA TECNICA  
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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

