

2.3.3.3.2 Preparación de semilla de almacenamiento Pasaje 29

Un frasco de células de MRC-5 del Banco de Células de Trabajo del Fabricante se derrite y expande en medio de cultivo. Al momento de la inoculación, los frascos de semilla madre se retiran del almacenamiento a $\leq -120^{\circ}\text{C}$ y se funden. La suspensión de células de semilla madre Pasaje 28 se diluye de manera continua y se usa para infectar las células MRC-5 en botellas "roller". Las botellas "roller" infectadas con virus se incuban por aproximadamente 2 días, a aproximadamente 35.5°C .

Al momento de la recolección, se colectan las células infectadas con virus de cada botella "roller" añadiendo tripsina-citrato al 0.25%, incubando y posteriormente neutralizando la tripsina con medio de cultivo. La suspensión de células se centrifuga y las pellet celulares resultantes se resuspenden en medio de cultivo que contenga DMSO al 10% (p/p).

La suspensión de células resuspendidas constituye la semilla de almacenamiento del Pasaje 29. La semilla de almacenamiento se dispensa, sella y congela para almacenamiento a largo plazo a $\leq -120^{\circ}\text{C}$. La semilla de almacenamiento se distribuye en varios congeladores en la planta de Merck, en West Point, Pennsylvania, EE.UU.

2.3.3.3.3 Ensayos de control analítico para la Semilla de Almacenamiento del Pasaje 29

Las descripciones de los procedimientos de control analítico realizados a la Semilla de Almacenamiento del Pasaje 29 se mencionan en el punto 4.2; excepto por tuberculosis in vivo que se describe en punto 2.3.3.2.1.4.1, embrión de huevo (ruta alantoica) que se describe en punto 2.3.2.1.2.3, embrión de huevo (ruta de saco de yema) que se describe en la 2.3.2.1.2.4, y Ensayo de bacteriófagos que se describe en la 2.3.2.1.2.5.

2.3.3.3.4 Ensayo de liberación en Semilla de Almacenamiento del Pasaje 29

Los resultados de la Ensayo de liberación realizada en la Semilla de Almacenamiento de Varicela Lote 2029764 se proporcionan en la [Tabla 14]. La Ensayo de liberación de la semilla de almacenamiento se realiza de acuerdo con los *Puntos a considerar en la caracterización de líneas celulares empleadas para elaborar productos biológicos* (1993), del Centro de evaluación e investigación biológica (CBER) y la *Ph. Eur.*, Sección 2.6.16, Ensayo para agentes extraños en vacunas virales para uso humano, con excepción de la Ensayo de identificación de virus. La Ensayo de identidad de virus no se realizó porque el virus de semilla está asociado a la célula y no se puede inactivar adecuadamente usando anticuerpos del suero. En lugar de eso, la Ensayo de identidad se realiza después de la sonicación de la vacuna a granel, cuando la neutralización de anticuerpos se puede realizar con confianza.

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. 51.525

H

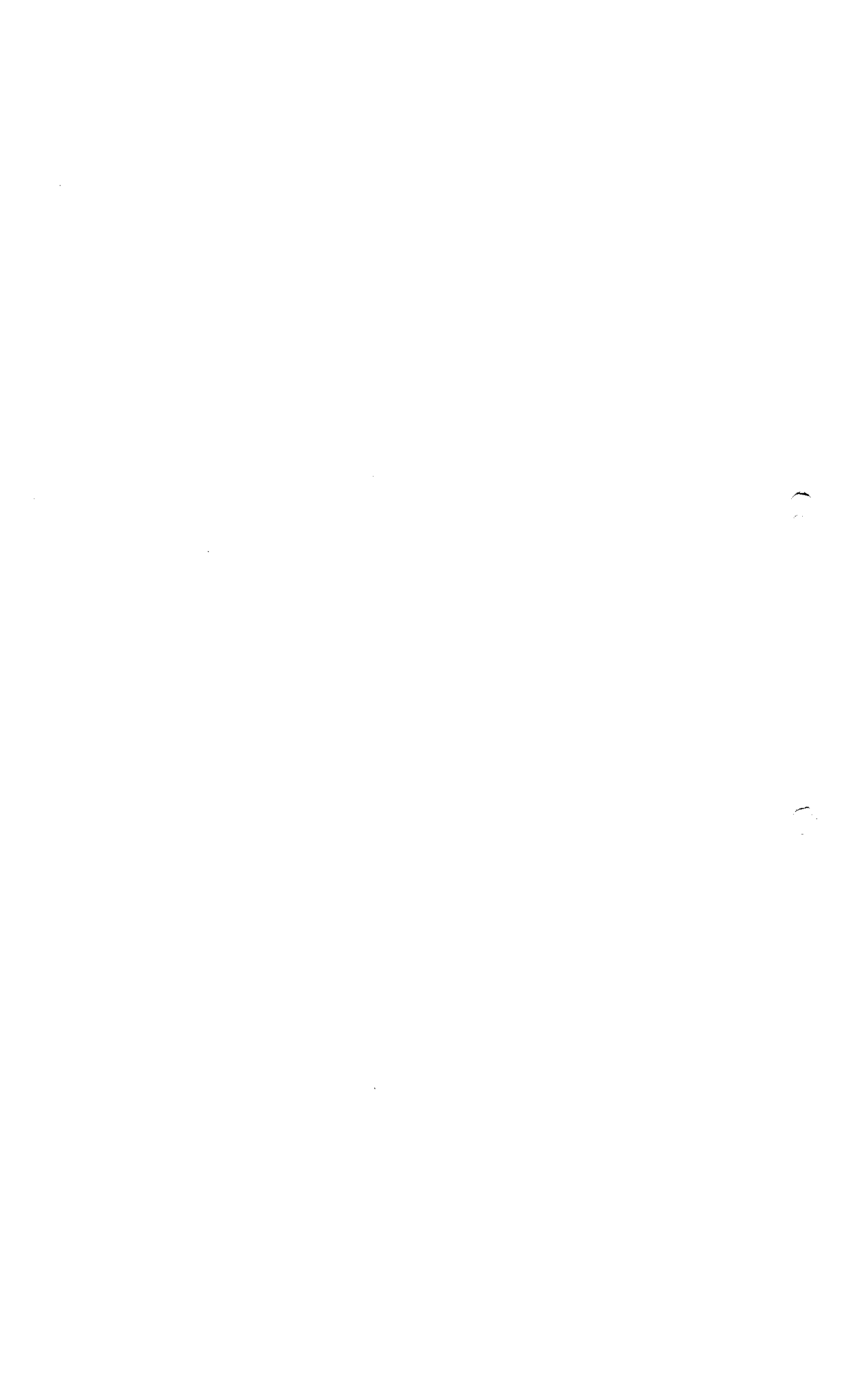


Tabla 14: Ensayo de liberación en semilla de almacenamiento del Pasaje 29

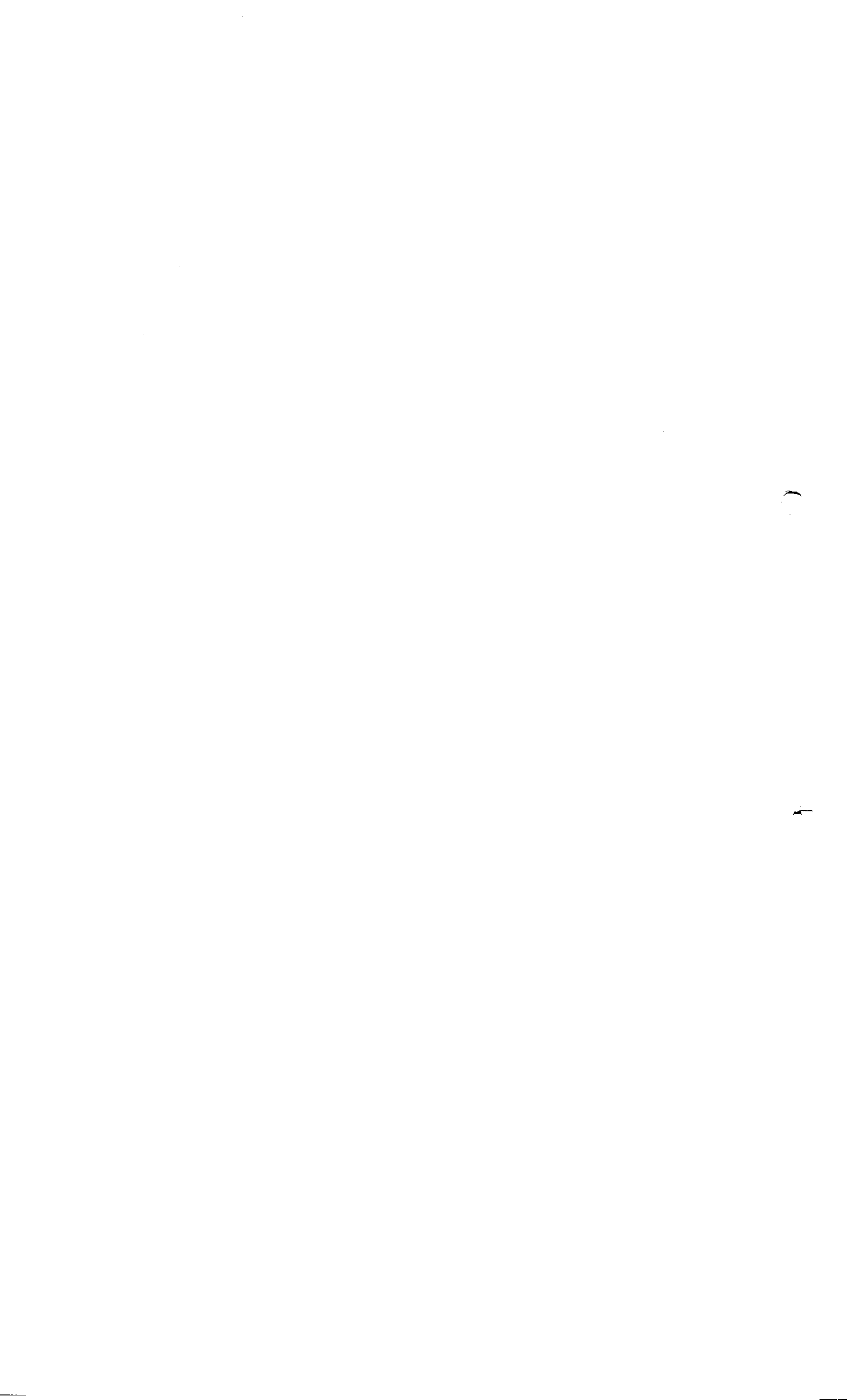
Productos intermedios y Ensayo	Especificación	Procedimiento de control	Semilla de almacenamiento Lote 2029764
Semilla asociada a célula			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Titulación infectividad	Para información	9110.551	2.4 x 10 ⁶ UFP _a /ml
Semilla sonicada			
Micoplasma, Caldo/Agar ^b	No debe haber crecimiento	9110.113	No hubo crecimiento
Micoplasma, Hoechst ^b	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	No hubo fluorescencia extranuclear
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vitro	No debe haber crecimiento	9110.117	No hubo crecimiento
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vivo ^c	No debe haber crecimiento	9110.355	No hubo crecimiento
Ratones adultos	≥80% de los ratones debe sobrevivir	9110.115	≥80% de los ratones sobrevivió
Ratones lactantes	≥80% de los ratones debe sobrevivir	9110.115	≥80% de los ratones sobrevivió
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 ₂	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Embrión de huevo-Ruta alantoica	No debe haber muertes de huevo o anomalidades gruesas/sin hemaglutinación ^d	9110.409	No hubo muertes de huevo o anomalidades gruesas/sin hemaglutinación ^d
Embrión de huevo-Ruta saco de yema	No debe haber muertes de huevo o anomalidades gruesas ^e	9110.410	No hubo muertes de huevo o anomalidades gruesas ^e
Bacteriófagos	No deben detectarse bacteriófagos	9110.220	No se detectaron bacteriófagos

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. 51.525





el Pasaje 29 se lleva a cabo exactamente como se describió previamente para la semilla de almacenamiento del Pasaje 29. El Pasaje 30 se modeló a partir del proceso actual.

2.3.3.4.1 Diagrama de flujo del proceso

En la [Figura 6] se resumen los pasos del proceso de manufactura para la producción de la semilla de almacenamiento del Pasaje 30. Las Ensayos de liberación se indican en los puntos correspondientes del proceso.

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

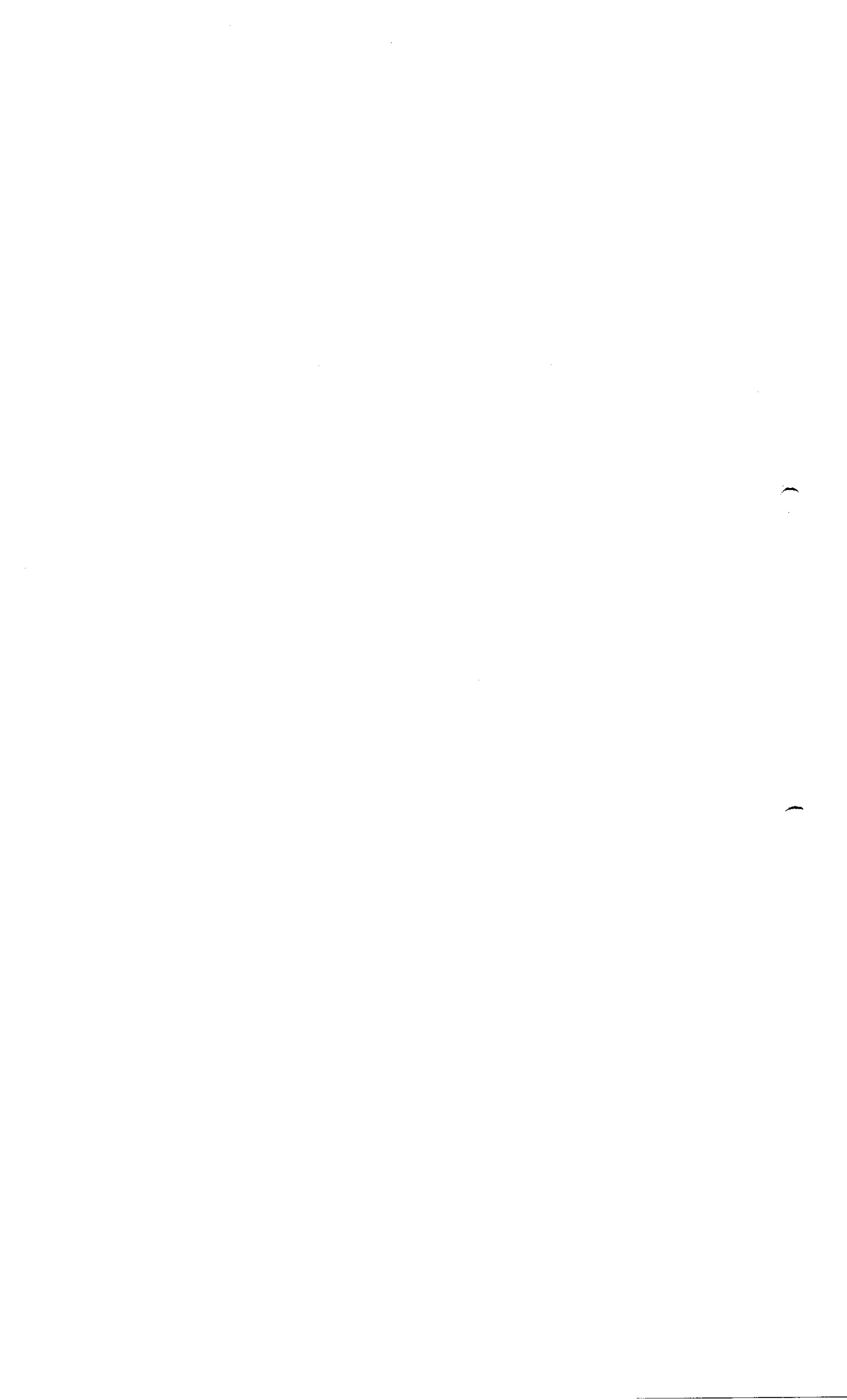
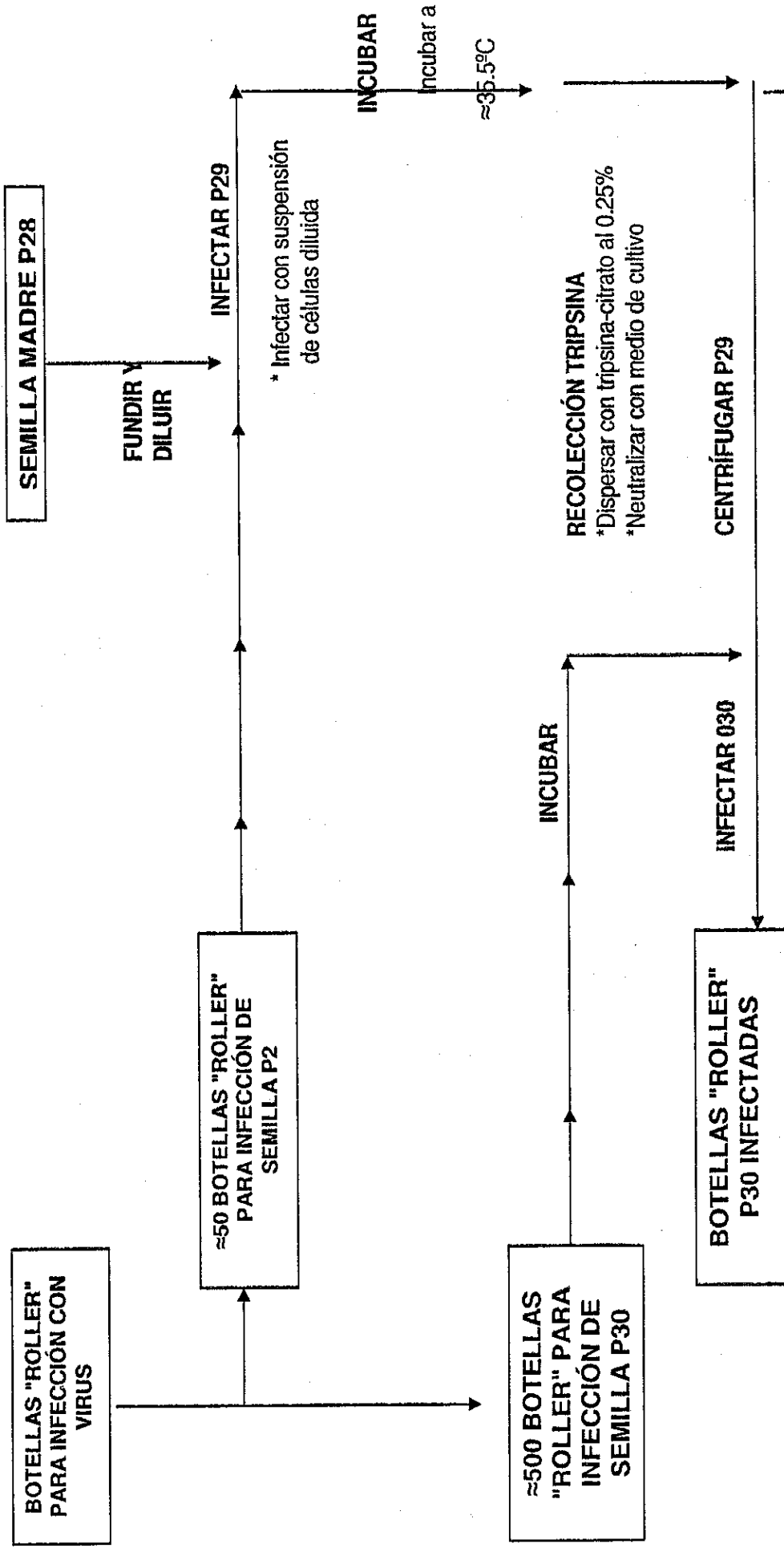


Figura 6:
Infección de la semilla de almacenamiento del Pasaje 30 y proceso de recolección



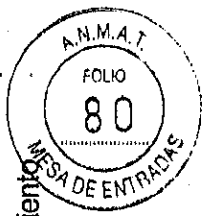
MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Faith. MARIA CECILIA CAMPOS
DIRECTORA TÉCNICA
MATRÍCULA NACIONAL 12374

*Infectar con suspensión de células P29

*Descartar sobrenadante
*Diluir con medio de mantenimiento

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.
Dr. SANTIAGO RODRIGUE
DIRECTOR APODERADO PARA
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS
MAT. NAC. 51.528



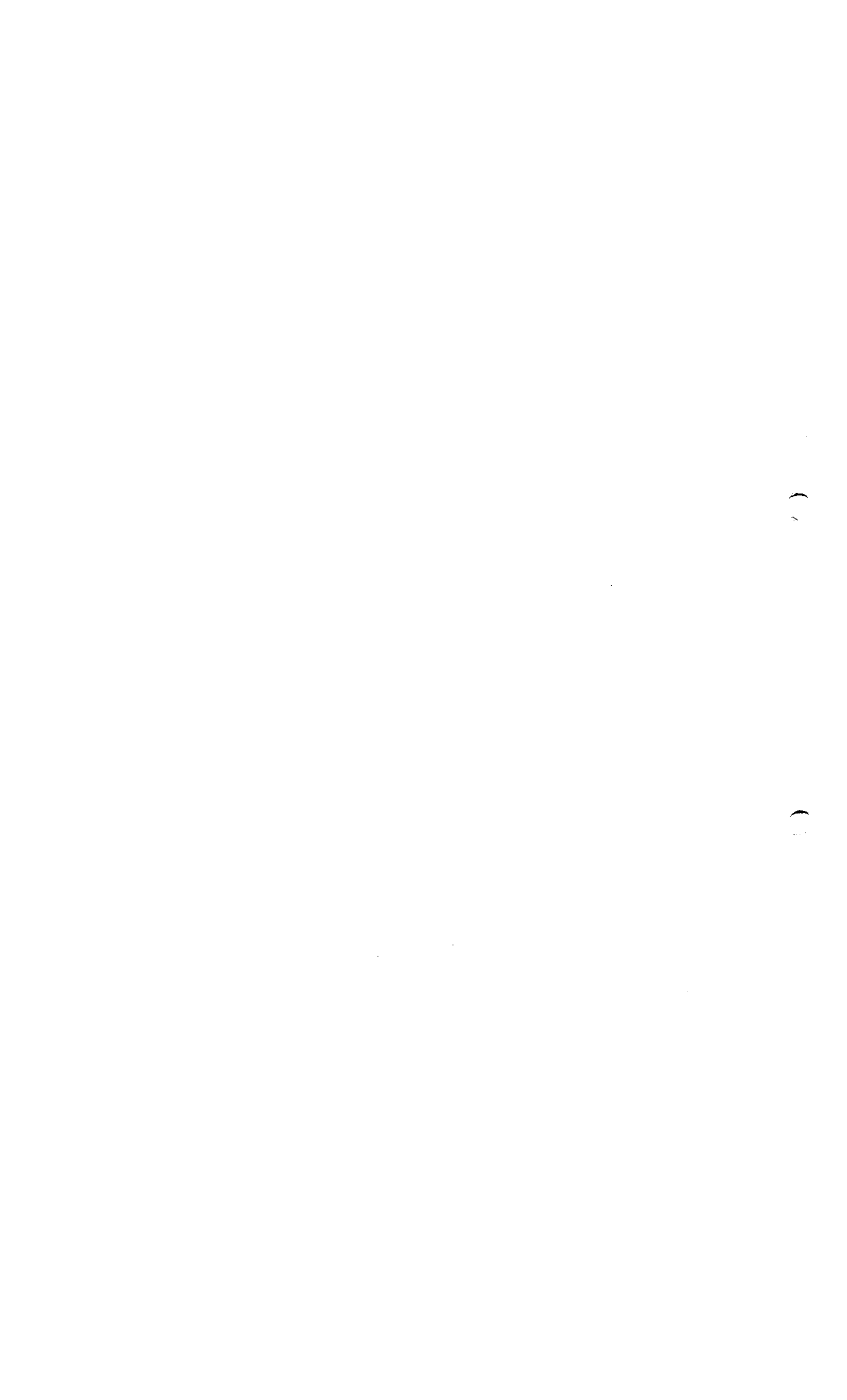
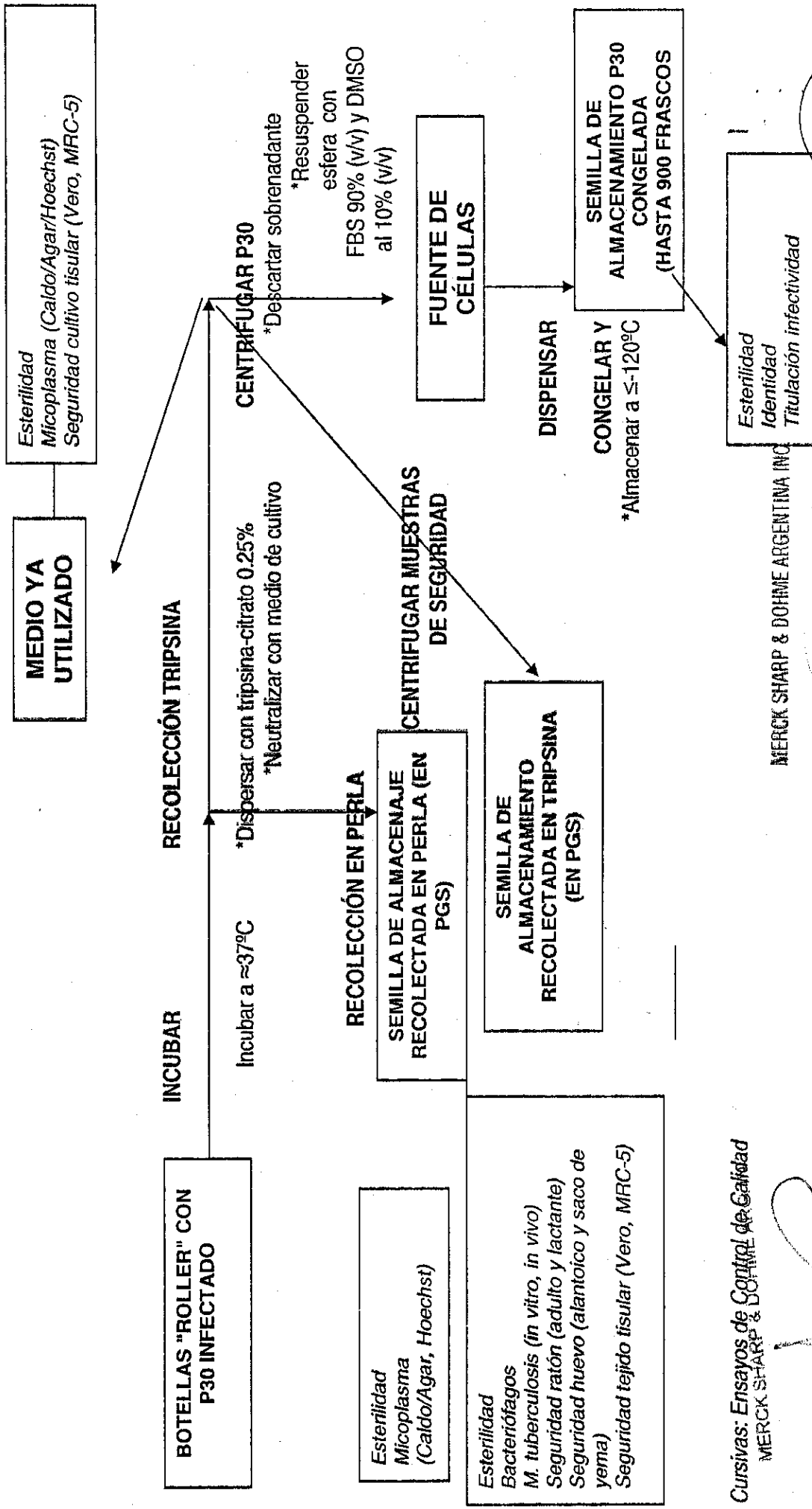


Figura 6 (Cont.): Infección de la semilla de almacenamiento del Pasaje 30 y proceso de recolección



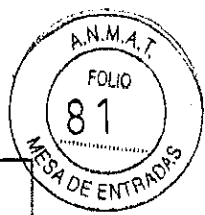
Cursivas: Ensayos de Control de Calidad

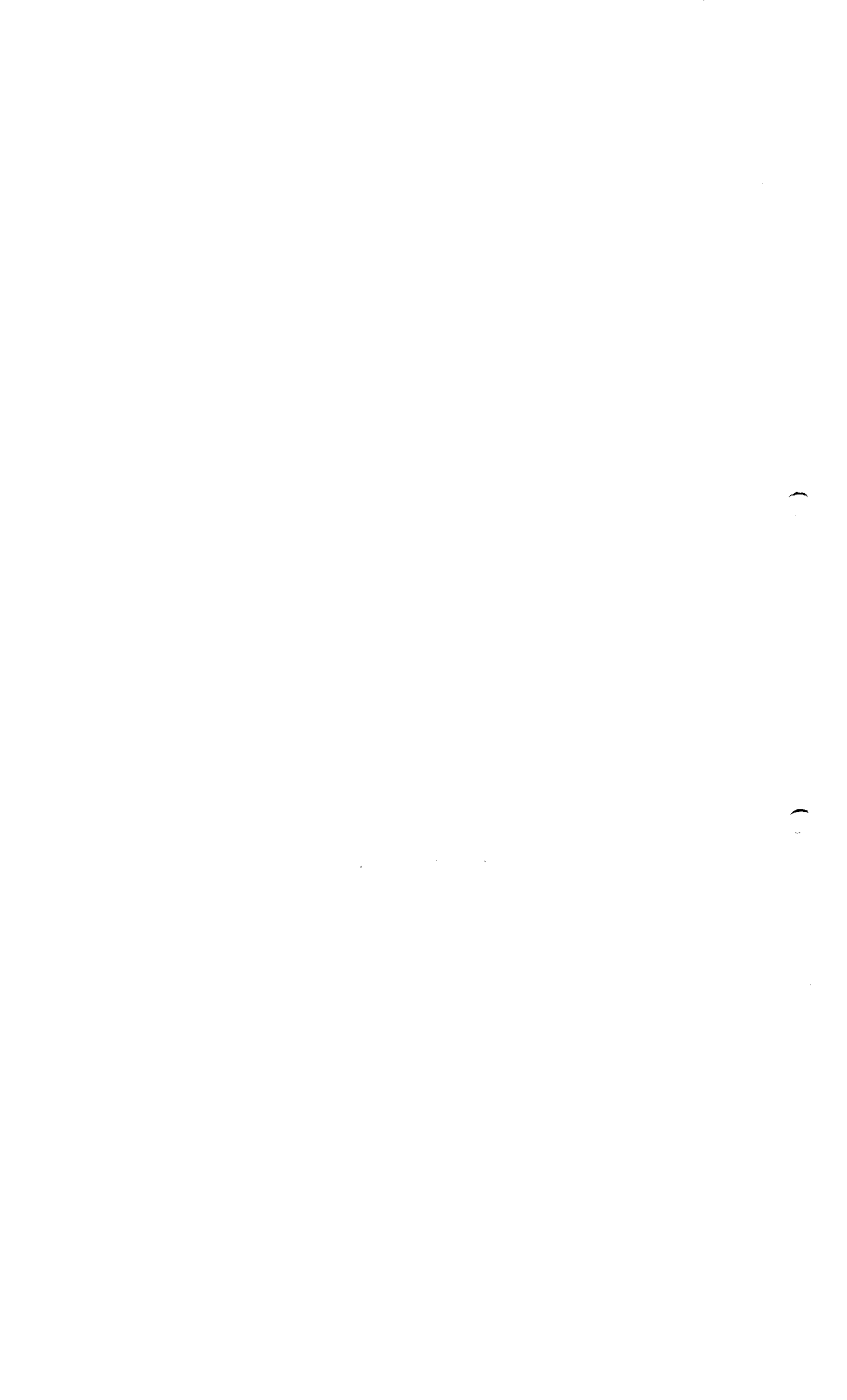
MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC

Fam. MARÍA SECELIA CAMPOS
DIRECTORA TÉCNICA
MATRÍCULA NACIONAL 12574

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC

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







2.3.3.4.2 Preparación de la semilla de almacenamiento del Pasaje 30

2.3.3.4.2.1 Banco de Células MRC-5

Un frasco de células MRC-5 del Banco de Células de Trabajo del Fabricante se funde y expande en medio de cultivo. Al momento de la inoculación del virus, los frascos de semilla madre del Pasaje 28 se retiran de su almacenamiento a $\leq -120^{\circ}\text{C}$ y se funden. La suspensión de semilla madre del Pasaje 28 se diluye con medio de mantenimiento y las células se infectan con semilla madre diluida. Las botellas "roller" infectadas con el virus se incuban aproximadamente a 35.5°C .

Las células infectadas con virus semilla del Pasaje 29 se colectan de cada botella "roller" incubando el cultivo de células con tripsina-citrato al 0.25% y después neutralizando la actividad de la tripsina con medio de cultivo. La suspensión de células se centrifuga y las pellet de células resultantes se resuspenden en medio de mantenimiento.

Las botellas "roller" con semilla del Pasaje 30 se infectan con células semilla del Pasaje 29 y se incuban aproximadamente a 37°C .

Al momento de la recolección, las células infectadas con virus del Pasaje 30 son recolectadas de cada botella por incubación con tripsina-citrato al 0.25% y neutralización posterior de la actividad de la tripsina con medio de cultivo. La suspensión de células se centrifuga y las pellet de células resultantes se resuspenden en suero bovino fetal (FBS) al 90% (v/v) inactivado por calor, irradiado con UV y DMSO al 10% (v/v).

La suspensión de células resuspendidas constituye la semilla de almacenaje del Pasaje 30. La semilla de almacenamiento se dispensa en frascos que se sellan y congelan para almacenamiento a largo plazo a $\leq -120^{\circ}\text{C}$. La semilla de almacenamiento se distribuye en varios refrigeradores en las instalaciones de Merck en West Point, Pennsylvania, EE.UU.

2.3.3.4.3 Ensayo de control analítico para la semilla de almacenamiento del Pasaje 30

Las descripciones de los procedimientos de control analítico realizados en la Semilla de Almacenamiento del Pasaje 30 se muestran en la Sección 3.2.S.4.2-varicela, excepto por tuberculosis in vivo que se describe en el ítem 2.3.3.2.1.4.1, embrión de huevo (ruta alantoica) que se describe en el ítem

MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

Firma. MARTA CECILIA CAMPOS
DIRECTORA TÉCNICA
MATRÍCULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Dr. SANTIAGO RODRIGUE
DIRECTOR APODERADO PARA
ASUNTOS MEDICOS Y REGULATORIOS
MAT. NAC. 51.529





2.3.2.1.2.3, embrión de huevo (ruta de saco de la yema) que se describe en el ítem 2.3.2.1.2.4 y Ensayo para bacteriófagos que se describe en el ítem 2.3.2.1.2.5.

2.3.3.4.4 Ensayo de liberación en semilla de almacenamiento del Pasaje 30

La Ensayo de liberación en semillas de almacenaje se realiza de acuerdo con los *Puntos a considerar en la caracterización de líneas celulares empleadas para elaborar productos biológicos* (1993) del CBER, y la Sección 2.6.16 de la *Ph. Eur.*, Ensayos para agentes extraños en vacunas virales para uso humano.

Los resultados de la Ensayo de liberación en los dos lotes de semilla de almacenamiento del Pasaje 30 se muestran en la [Tabla 15]. La Semilla de Almacenamiento, lote 2067149, del Pasaje 30 se fabricó a partir de Semilla Madre, Lote 21902. La Semilla de Almacenamiento, Lote 2063706, del Pasaje 30 se fabricó a partir de Semilla Madre, Lote 2061149.

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. 51.525

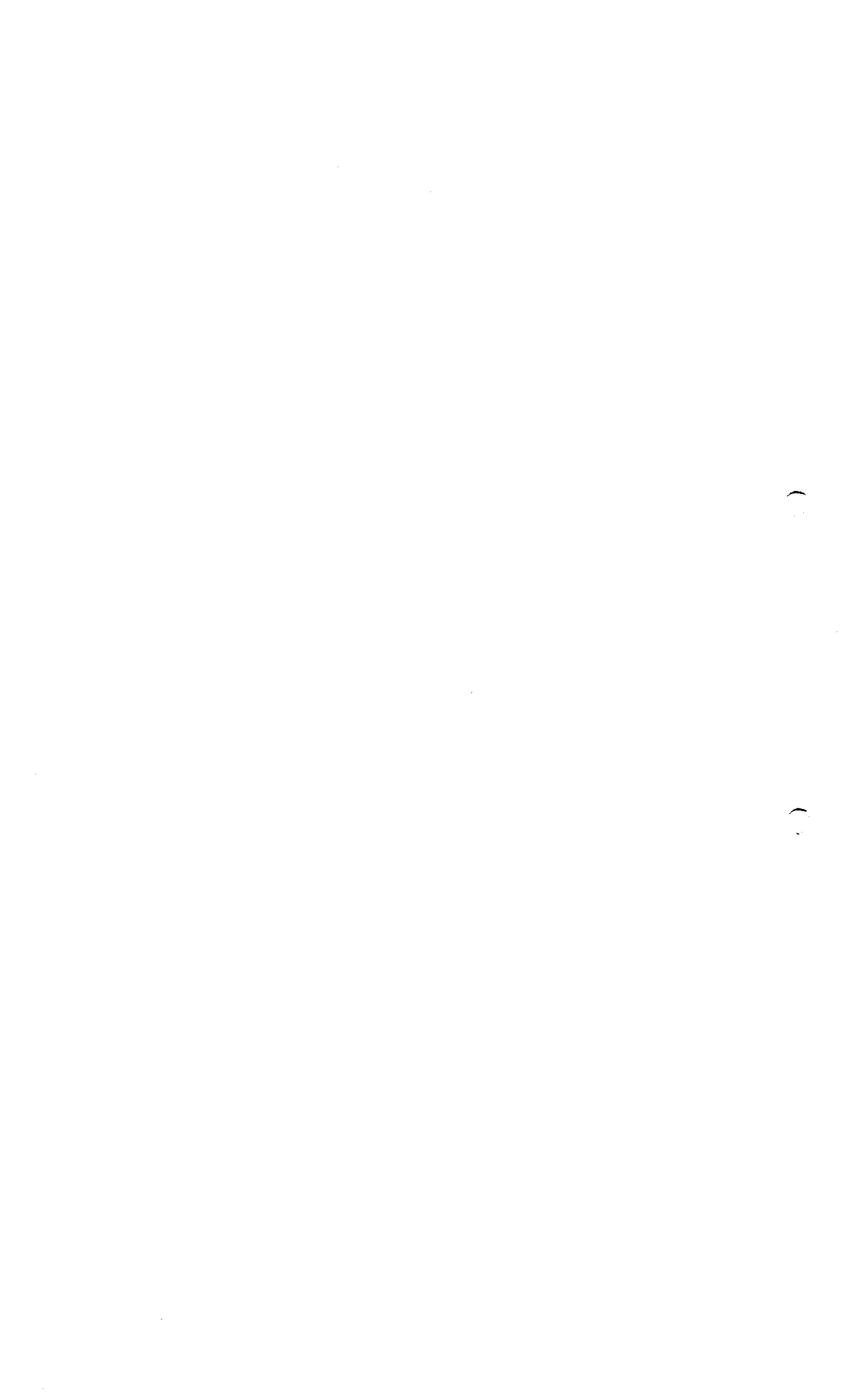


Tabla 15: Ensayo de liberación en lotes de Semilla de Almacenamiento del Pasaje 30

Producto intermedio y Ensayo	Especificación	Procedimiento de control	Semilla de Almacenamiento Pasaje 30, Lotes
Semilla asociada a célula			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Identidad	Reducción $\geq 90\%$ en título con fluido ascítico específico anti-varicela	9110.551	Reducción $\geq 90\%$ en título con fluido ascítico específico anti-varicela
Titulación infectividad	Para información	9110.551	1.4×10^6 UFP ₅₀ /ml
Semilla recolectada en perla			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Micoplasma, Caldo/Agar	No debe haber crecimiento	9110.113	No hubo crecimiento
Micoplasma, Hoechst	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	No hubo fluorescencia extranuclear
Medio ya utilizado			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Micoplasma, Caldo/Agar	No debe haber crecimiento	9110.113	No hubo crecimiento
Micoplasma, Hoechst	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	No hubo fluorescencia extranuclear
Cultivo de células Vero	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MRC-5	No se debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Suspensión de semilla recolectada-tripsina			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vitro	No debe haber crecimiento	9110.117	No hubo crecimiento
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> in vivo ^b	No debe haber crecimiento	9110.355	No hubo crecimiento
Ratones adultos	$\geq 80\%$ de los ratones deben sobrevivir	9110.115	$\geq 80\%$ de los ratones sobreviven
Ratones lactantes	$\geq 80\%$ de los ratones deben sobrevivir	9110.115	$\geq 80\%$ de los ratones sobreviven

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. 51.525



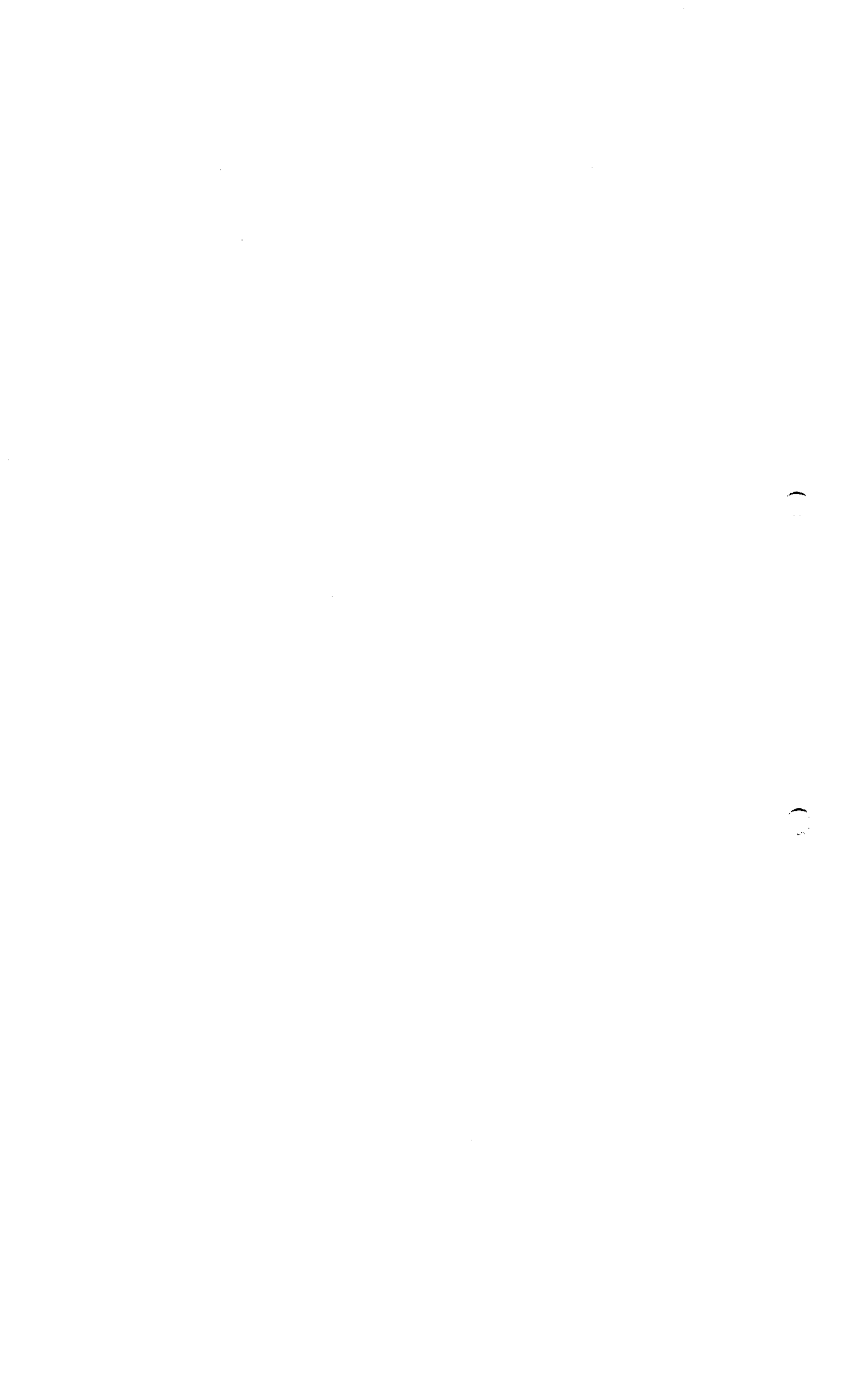


Tabla 3.2.S.2.3-varicela: 15 (Cont.)
Ensayo de liberación en lotes de Semilla de Almacenamiento del Pasaje 30

Producto intermedio y Ensayo	Especificación	Procedimiento de control	Semilla de Almacenamiento Pasaje 30, Lotes
Suspensión de semilla recolectada-tripsina (Cont.)			
Cultivo de células Vero	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MFC-5	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Embrión de huevo-Ruta atlántica	No debe haber muertes de huevo o anomalías sin hemaglutinación ^c	9110.409	No hubo muertes de huevo o anomalías gruesas/sin hemaglutinación ^c
Embrión de huevo-Ruta saco de yema	No debe haber muertes de huevo o anomalías gruesas ^d	9110.410	No hubo muertes de huevo o anomalías gruesas ^d
Bacteriófagos	No deben detectarse bacteriófagos	9110.220	No se detectaron bacteriófagos
Células de control			
Identidad cariológica	Humana, macho	9110.744	Humana, macho
Hemadsorción	No se detectó ninguna	9110.527	No se detectó ninguna
Recolección de control			
Esterilidad	No debe haber crecimiento	9110.001	No hubo crecimiento
Micoplasma, Caldo/Agar	No debe haber crecimiento	9110.113	No hubo crecimiento
Micoplasma, Hoechst	No debe haber fluorescencia extranuclear	9110.339	No hubo fluorescencia extranuclear
Cultivo de células Vero	No debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático
Cultivo de células MFC-5	No se debe observarse un efecto citopático	9110.668	No se observó un efecto citopático

^aUFP: Unidades formadoras de placa

^bEl procedimiento de control (CP) 9110.355, Ensayo in vivo para tuberculosis (*Mycobacterium avium* y *Mycobacterium tuberculosis*) describe una Ensayo in vivo para tuberculosis realizada en muestras de semilla de almacenamiento y semilla madre para vacuna de virus vivo. Los parámetros probados en este procedimiento de control cumplen con los requerimientos establecidos en la *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)* 2.6.16, Ensayos para agentes extraños en vacunas virales para uso humano.

^cLa especificación ha sido actualizada a lo siguiente: sin muertes de huevo o anomalías gruesas, negativa para agentes extraños transmisibles, sin hemaglutinación.

^dLa especificación ha sido actualizada a lo siguiente: sin muertes de huevo o anomalías gruesas, negativa para agentes extraños transmisibles.

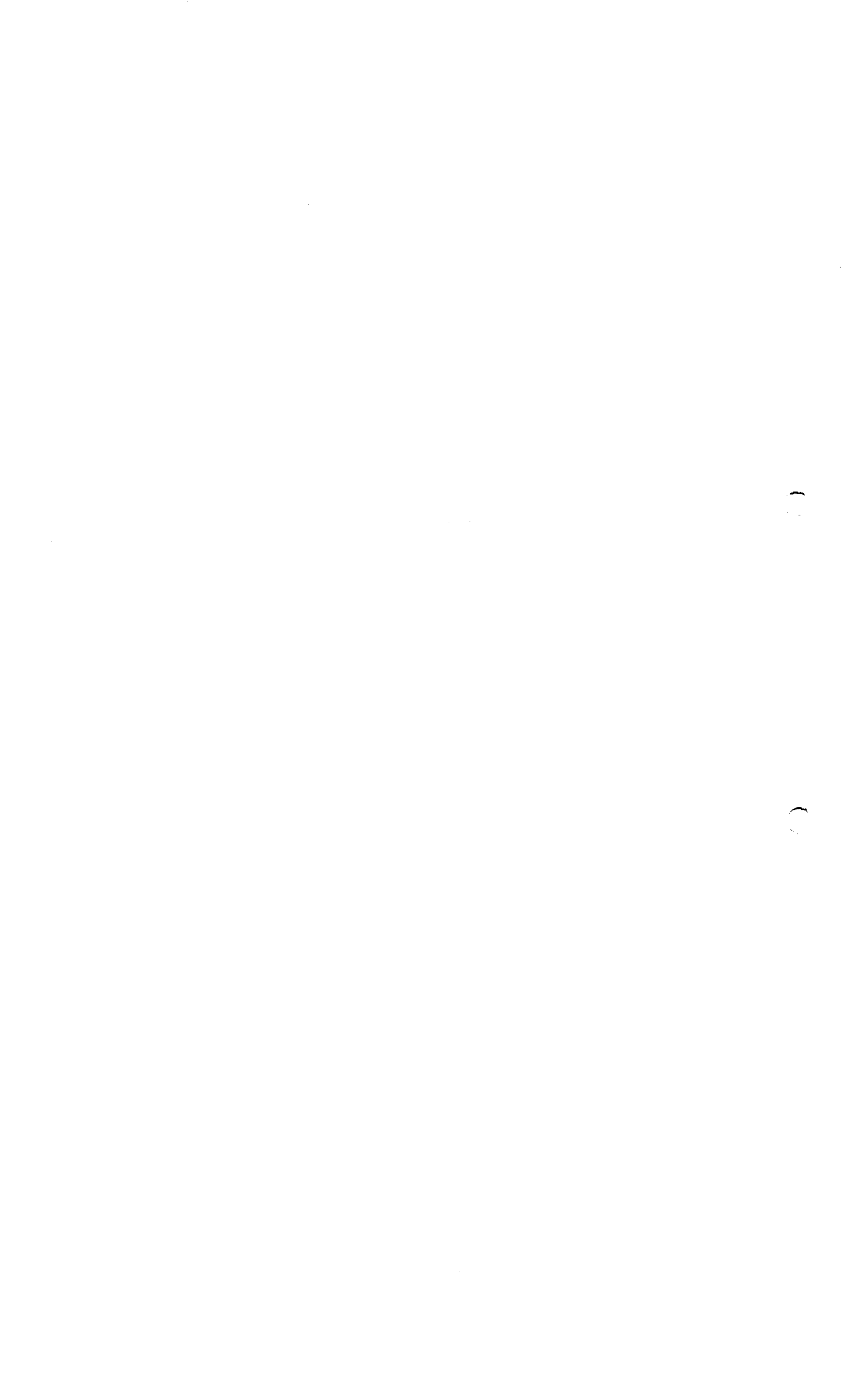
MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

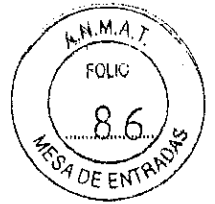
Fam. MARIA CECILIA SAMPOS
DIRECTORA TÉCNICA
MATRICULA NACIONAL 12374

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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







2.4 Control de los pasos críticos y procesos intermedios

Para asegurar un desempeño consistente del proceso se establecieron parámetros críticos del proceso (CPP) y atributos de calidad críticos (CQA).

2.5 Validación y/o Evaluación del proceso

El proceso de manufactura de la vacuna a granel se revisó en 1998 y se validó prospectivamente. La validación del proceso se dividió en tres partes que son representativas de los tres procesos de lote empleados en la fabricación del granel dispensado. El primer proceso de lote es la expansión de las células MRC-5; el segundo proceso de lote es la manufactura de los fluidos de virus recolectados (HVF); y el tercer proceso de lote es la manufactura del granel dispensado. Dentro de cada paso del proceso de manufactura se determinaron metas, parámetros críticos del proceso (CPP) y atributos de calidad críticos (CQA), así como especificaciones y criterios de aceptación adecuados.

Los parámetros críticos del proceso (CPP) sirven para demostrar que tanto la consistencia como el control se mantuvieron durante todo el proceso de manufactura de la vacuna a granel. Los CPP se establecieron a partir de experimentos de desarrollo, lotes piloto a pequeña escala y lotes piloto a gran escala. Las especificaciones individuales para cada CPP se derivaron de la capacidad del equipo para el proceso, las restricciones logísticas de la manufactura o de resultados de experimentos para validar el proceso.

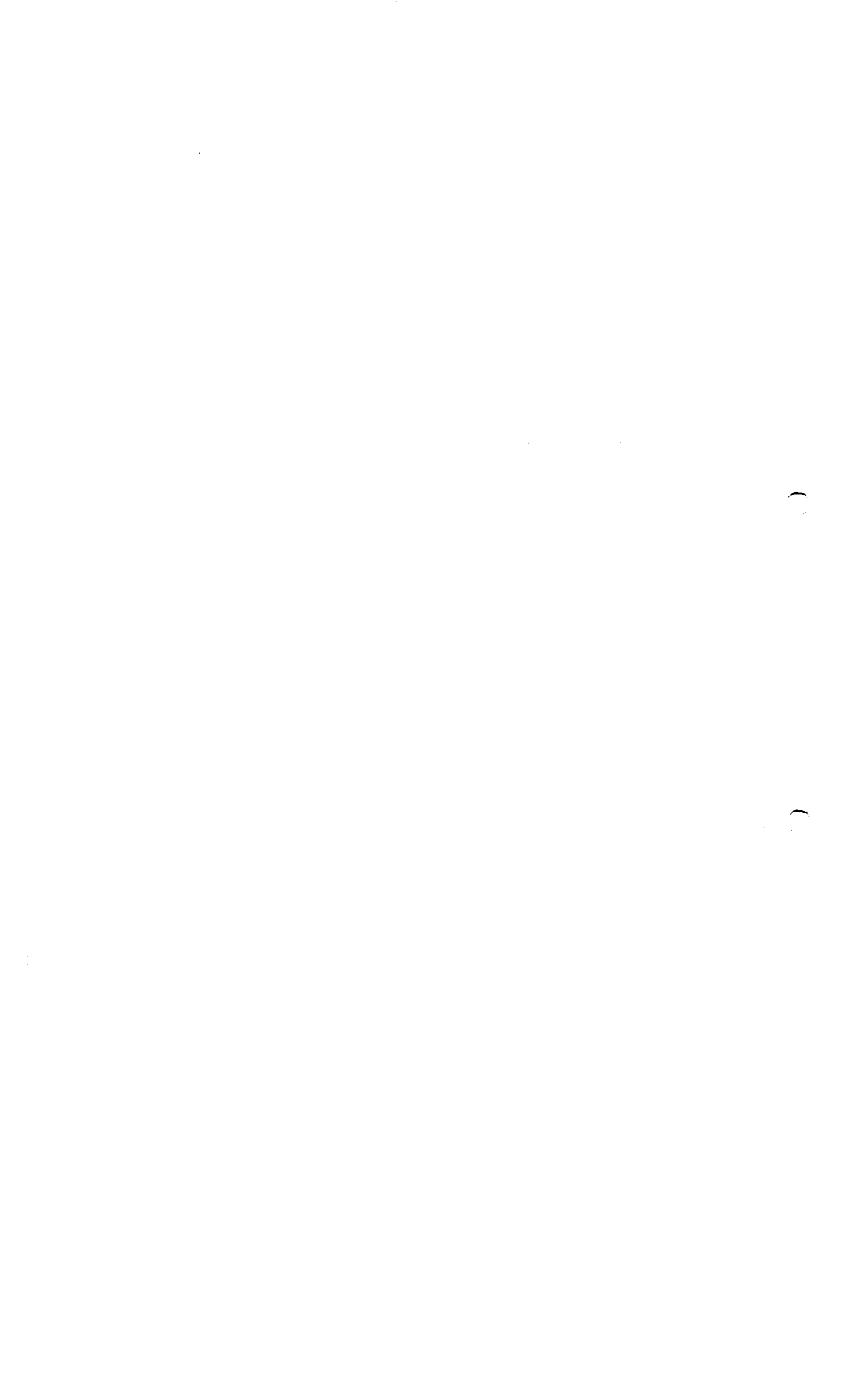
Los atributos de calidad críticos (CQA) se derivaron de consideraciones acerca de la configuración del proceso, experimentos para validar el proceso, la capacidad del proceso o las especificaciones del producto. La capacidad del proceso se define como un límite de control de la desviación estándar de 3 respecto a la media de cada parámetro, dando el rango de la experiencia típica del proceso. Estos rangos se determinaron a partir del análisis estadístico de datos experimentales o de producción, o una combinación de ambos (principalmente para los conteos de células y los títulos virales).

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. 81.525



El proceso de manufactura de los fluidos de virus recolectados (HVF) se dividió en los siguientes pasos importantes:

Expansión celular	El objetivo de la fase de expansión celular es incrementar los números de células MRC-5 lo suficientemente como para permitir que se plante el número deseado de botellas "roller" con semilla de producción y de trabajo.
Producción y recolección de virus	El objetivo de la fase de producción y recolección de virus es llevar al máximo la cantidad de virus infeccioso y eliminar los residuos derivados del cultivo, en particular las proteínas del suero bovino y la neomicina, de los fluidos de virus recolectados.
Congelamiento del granel	La meta de la fase de almacenamiento del producto recolectado es congelar, almacenar y fundir los fluidos de virus recolectados, llevando al máximo la recuperación del virus infeccioso.

El proceso de manufactura del granel dispensado se dividió en los siguientes pasos importantes:

Fundición y combinación de fluido de virus recolectado	La meta es reducir al mínimo la pérdida de virus vivo al evitar el sobrecalentamiento del fluido de virus durante la fundición.
Sonicación	La meta del paso de sonicación es romper los restos celulares grandes en partículas pequeñas y fáciles de homogenizar.
Clarificación	El objetivo del paso de clarificación es recuperar el virus del granel pre-clarificado y sonicado.
Dispensación y congelamiento	El objetivo de este paso es congelar el granel dispensado y al mismo tiempo reducir al mínimo la pérdida de título del virus.

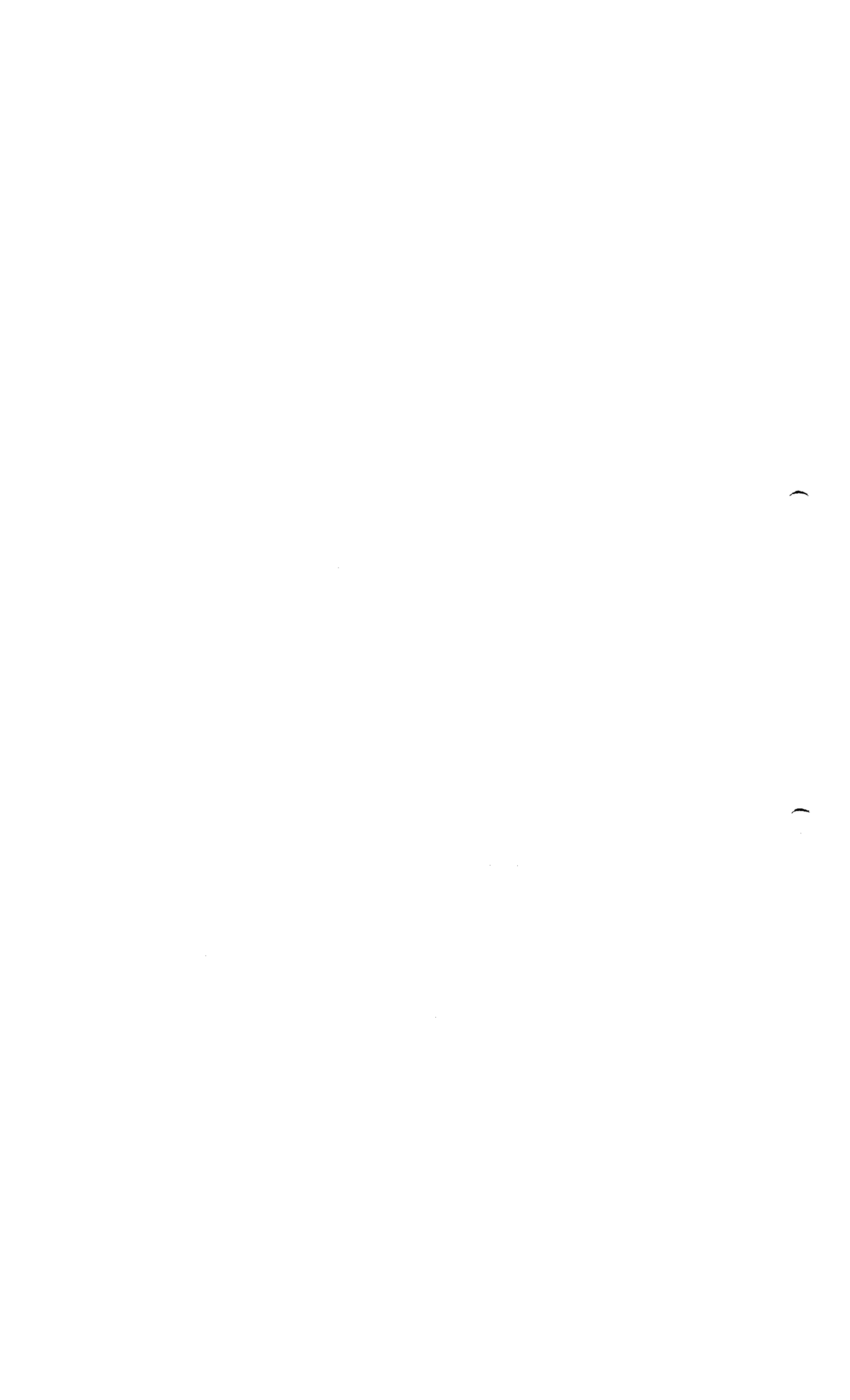
La validación del proceso de manufactura de la vacuna a granel contra la varicela ha sido completada con éxito.

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

Farm. MARIA CECILIA CAMPOS
DIRECTORA TÉCNICA
MATRICULA NACIONAL 12574

MERCK SHARP & DOHME ARGENTINA INC.

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





2.6 Caracterización

2.6.1 Elucidación de la estructura y otras características

2.6.1.1 Forma física del virus

El virus varicela-zóster (VVZ) es un virus alpha herpes, miembro del género *Varicellovirus* en la familia de virus *Herpesviridae*. Los viriones se componen de una nucleocápside icosaédrica que contiene el genoma de ADN lineal de doble hebra, que sucesivamente es envuelta por un tegumento que contiene proteína y una cubierta lipídica derivada del huésped. El componente activo de la vacuna es una forma viva y atenuada de la cepa del VVZ Oka/Merck.

2.6.1.2 Información sobre la estructura

El componente activo de la vacuna a granel es una forma viva y atenuada del VVZ que tiene un complemento bien caracterizado de proteínas, genes, lípidos y otros constituyentes. La información física más fundamental que describe a cualquier organismo es la secuencia de nucleótidos de su genoma.

Debido a que la vacuna Oka/Merck es un lisado clarificado de células infectadas, contiene célula huésped y ADN viral. Para caracterizar el tamaño y la cantidad de ADN presente en la vacuna a granel, se extrajeron los ácidos nucleicos de la vacuna a granel para el desarrollo y la validación del proceso, a fin de retirar los excipientes. El ADN total se midió por absorbancia a 260 nm y por un ensayo de tinción fluorescente que sólo reconoce el ADN de doble hebra y no el ADN o ARN de hebra sencilla. El rango de tamaño del ADN extraído se determinó por electroforesis en gel de agarosa en presencia de bromuro de etidio (visualización ultravioleta (UV)). Estos estudios mostraron que el ADN de la vacuna migra a un rango de tamaño de <600 pares de bases a aproximadamente 23,000 pares de bases. El tamaño del ADN genómico se reduce probablemente como consecuencia del proceso de sonicación empleado para romper las células y homogenizar la vacuna.

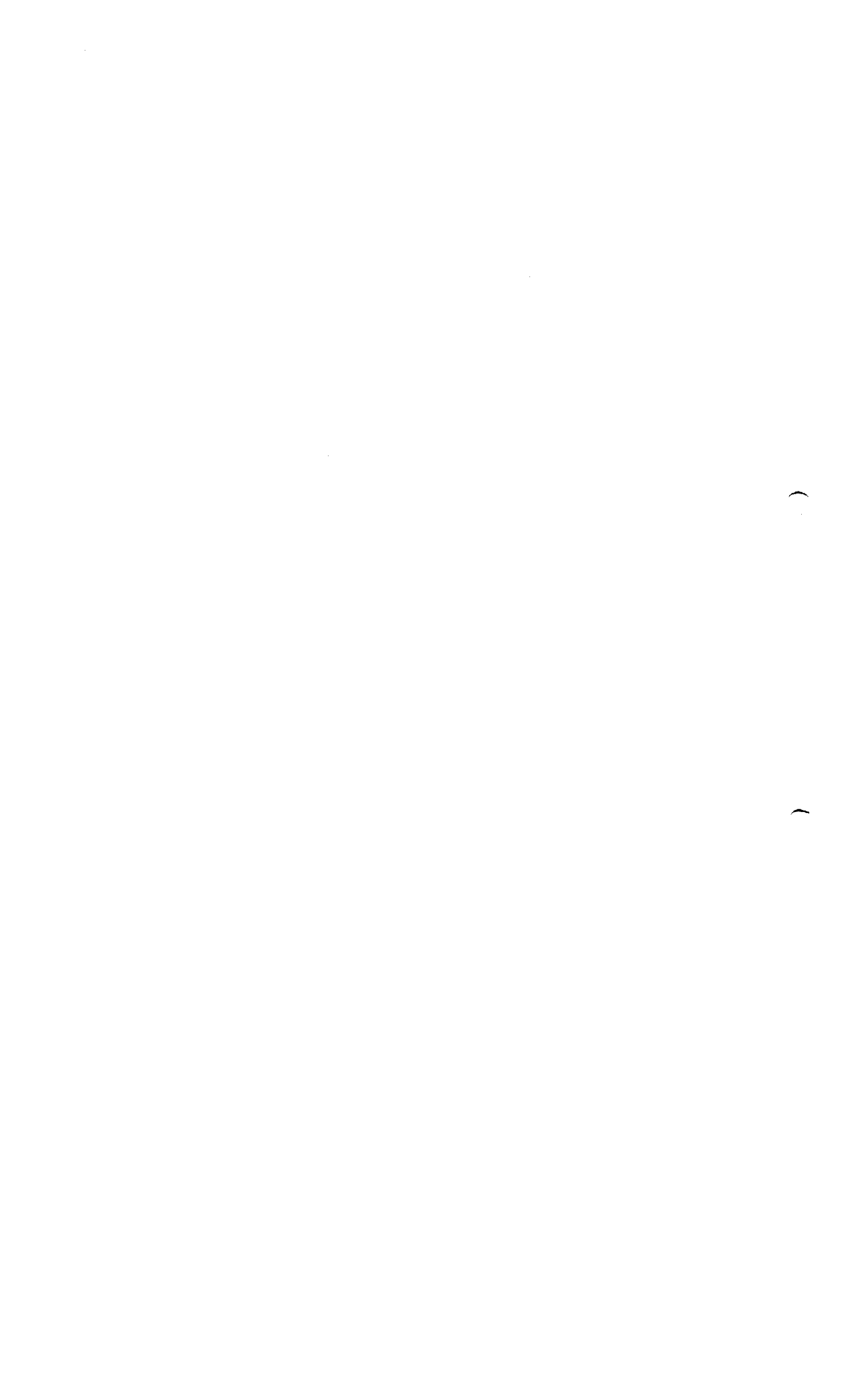
La secuencia genómica del ADN de un aislado clínico tipo salvaje del VVZ fue publicada por Davidson y Scott en 1986. Las secuencias completas de la cepa Oka/Merck y la cepa padre Oka tipo salvaje han sido determinadas. La secuencia para el Gen 62 es el gen que distingue a la cepa Oka/Merck de otras cepas. Existen muy pocas diferencias entre la secuencia padre Oka de tipo salvaje y la secuencia de la vacuna Oka/Merck. Un grupo significativo de diferencias entre las secuencias de la cepa padre y de la vacuna se encuentra en un marco de lectura abierta (ORF) 62, un gen que codifica una proteína activadora transcripcional, específica para los promotores del gen del VVZ. En el aislado padre de Oka,

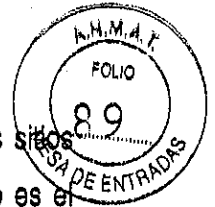
MERCK SHARP & DOHME ARG. INC.

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





la secuencia para el Gen 62 es homogénea. En la cepa Oka/Merck, la secuencia contiene seis sitios polimórficos donde la secuencia de la población consenso tiene dos nucleótidos diferentes; uno es el mismo que el de la cepa padre y el otro es diferente. Así mismo existen cinco posiciones donde la cepa padre y la cepa Oka/Merck difieren entre sí en el Gen 62.

La existencia de secuencias mixtas en seis posiciones muestra que la cepa Oka/Merck es una población mixta de virus. Esta mezcla de poblaciones de virus ha sido confirmada por Gomi et. al. para la vacuna Oka producida por Biken. Además de las diferencias en el Gen 62, el Gen 64 contiene un solo cambio de base que puede diferenciar al padre Oka de la vacuna por análisis del sitio de restricción. En todos los casos, la vacuna a granel del proceso actual y un proceso previo contuvieron el sitio de restricción esperado.

2.6.1.3 Evidencia de la sustancia activa

La presencia e identidad del VVZ en el granel final se confirman mediante el Procedimiento de Control (CP) 9110.551, Ensayo en Placa de Vacuna de Varicela en Cultivos Celulares MRC-5 para Potencia, Identidad y Análisis de Fluido de Control.

Para la inmunización de individuos que previamente no han sido expuestos al virus, al parecer la seroconversión y protección contra la infección requieren la presencia de virus vivo, tal como lo sugirieron los primeros estudios clínicos en los cuales se trató a niños con vacuna que había sido semi-inactivada por calentamiento. Los niños que recibieron vacuna parcialmente inactivada generaron respuestas serológicas más débiles que aquellos que recibieron vacuna sin tratar, a pesar del hecho de que el contenido de antígeno de las vacunas fue similar en los lotes empleados en dicho estudio.

2.7 Impurezas

2.7.1 Impurezas y contaminantes relacionados con el proceso

A continuación se discuten las impurezas potenciales surgidas de los procesos de manufactura de la vacuna a granel. En cada caso, se aborda el método de Ensayo empleado para medir el nivel o para asegurar la ausencia de la impureza.

2.7.2 Suero bovino

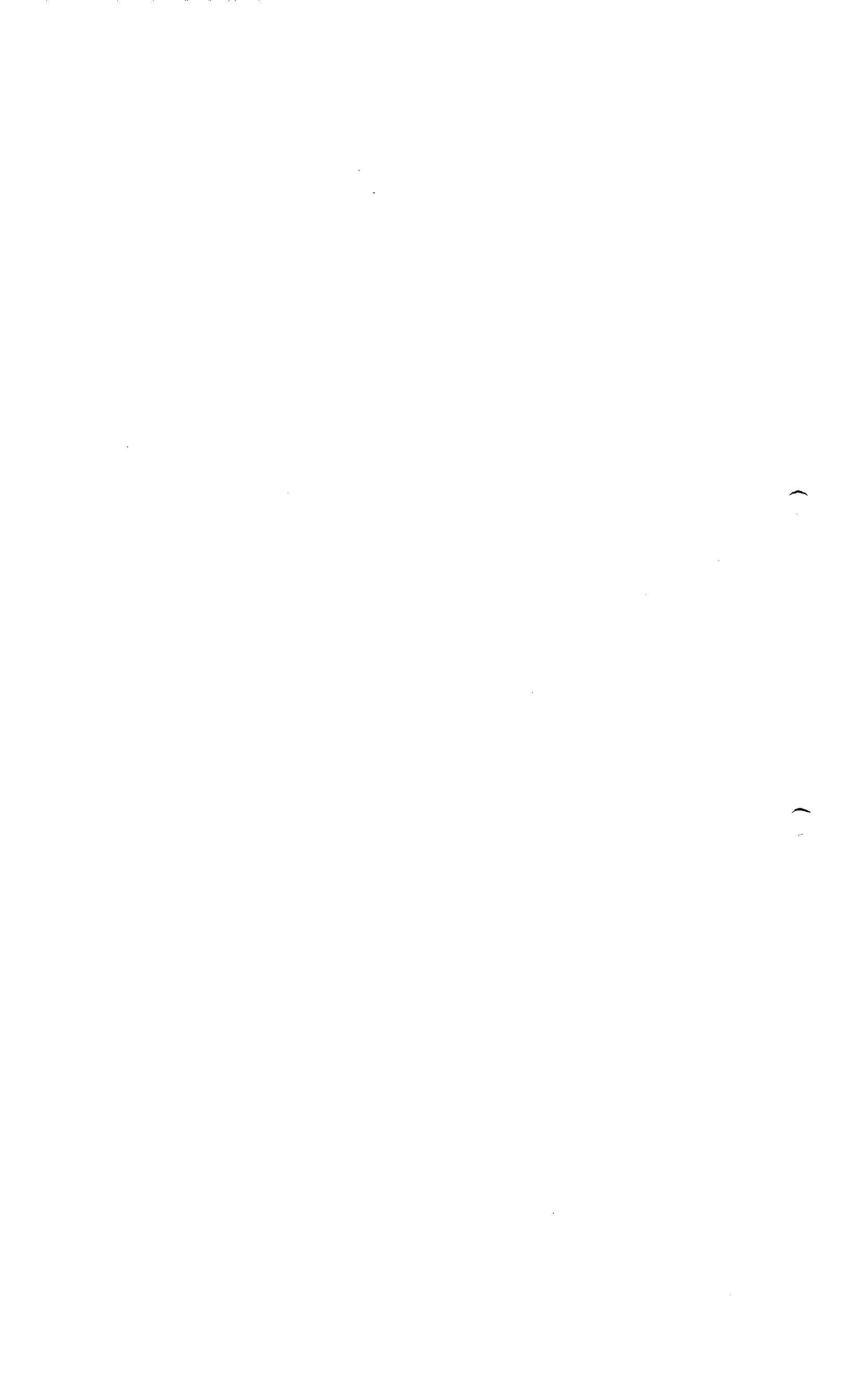
Debido a que el proceso de la vacuna para varicela zóster (VVZ) usa medio de crecimiento celular que contiene suero bovino fetal (FBS), se han tomado medidas para reducir al mínimo la concentración de las proteínas del suero bovino en la vacuna a granel. La depuración de la proteína sérica se realiza al

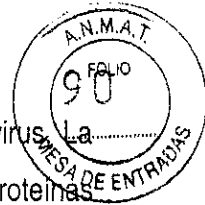
MERCK SHARP & DOHME ARG. INC

Fam. MARIA CECILIA 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





enjuagar las capas celulares a fin de retirar el máximo suero posible antes de recolectar el virus. La concentración de albúmina sérica bovina (BSA) se usa como marcador sustituto para otras proteínas séricas bovinas. Cada granel final se Ensayo para albúmina sérica bovina mediante un inmunoensayo enzimático (EIA) usando el Procedimiento de Control (CP) 9110.736, Cuantificación de Albúmina Sérica Bovina Residual en Vacunas de Virus Vivo a Granel por Inmunoensayo Enzimático en el ítem.4.2.11. El contenido de albúmina sérica bovina de cada vacuna a granel empleada en la formulación de la vacuna zóster se emplea para calcular la cantidad de albúmina sérica bovina presente en los lotes de vacuna envasada, que deben contener $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ de BSA después de la reconstitución.

2.7.3 Neomicina

Las células MRC-5 empleadas para fabricar la vacuna a granel se cultivan en medio que contiene neomicina a $50 \mu\text{g/ml}$. La depuración de la neomicina se logra al enjuagar las capas celulares para retirar al máximo posible el medio de cultivo original, antes de la recolección del virus. La neomicina no se mide en la liberación rutinaria de la vacuna a granel, pero previamente se midió como Ensayo de carácter informativo para validar la depuración. Los tres lotes para la validación del proceso se probaron usando el ensayo de difusión en agar y todos contuvieron $\leq 1.28 \mu\text{g/ml}$. Este número es el límite de detección para el ensayo de neomicina. La depuración se validó y la Ensayo en consecuencia ha quedado descontinuada.

2.7.4 Impurezas relacionadas con el producto

La vacuna a granel es un producto no purificado cuya potencia se mide mediante un ensayo biológico para la sustancia activa, más que a través de la evaluación de la integridad de la forma física. Los productos de degradación no han sido identificados ni cuantificados.

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

