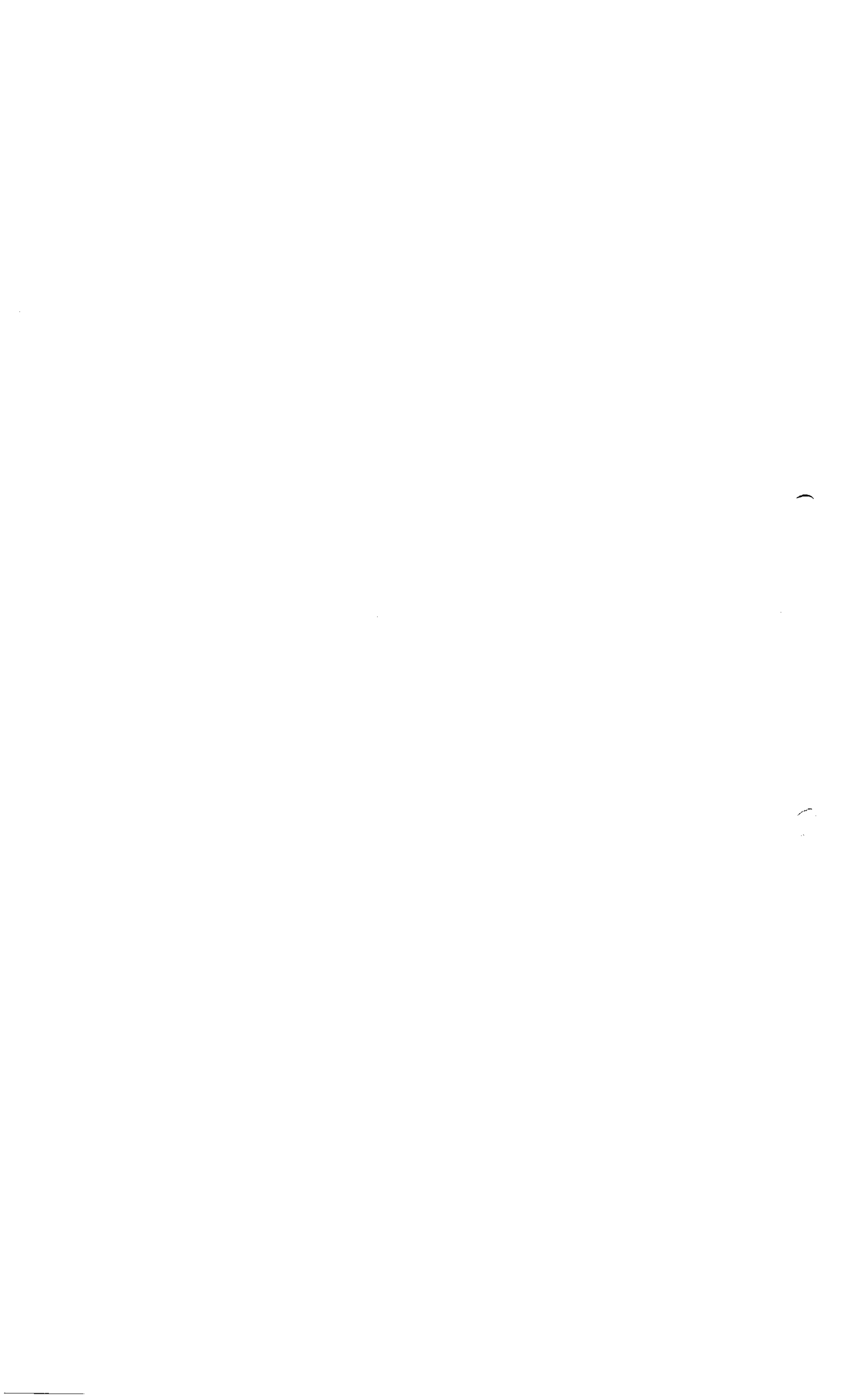


Sección 3.2.S.2.3 Control de materiales

Sistema de lotes de siembra, caracterización y pruebas

Índice

Lista de tablas	3
Lista de figuras	4
1 Panorama del sistema de lotes de siembra.....	5
1.1 Preparación del lote de presiembra maestra.....	7
1.2 Preparación del lote de siembra maestra (MSL).....	7
1.3 Preparación de los lotes de siembra de trabajo (WSL).....	9
2 Medios de cultivo y soluciones utilizadas para la elaboración de los lotes de siembra	12
2.1 Caldo de tripcasa de soja.....	12
2.2 Medio de Bordet Gengou.....	12
3 Pruebas de control de calidad para los lotes de siembra.....	13
3.1 Especificaciones.....	13
3.2 Procedimientos analíticos	14
3.2.1 Prueba de pureza.....	14
3.2.1.1 Principio	14
3.2.1.2 Método	14
3.2.1.3 Criterios de aceptación.....	14
3.2.2 Prueba de identidad	15
3.2.2.1 Características de crecimiento.....	15
3.2.2.1.1 Principio.....	15
3.2.2.1.2 Método.....	15





3.2.2.1.3 Criterios de aceptación..... 15

3.2.2.2 Morfología y tinción de Gram..... 15

3.2.2.2.1 Principio..... 15

3.2.2.2.2 Método 15

3.2.2.2.3 Criterios de aceptación..... 15

3.2.2.3 Características bioquímicas..... 16

3.2.2.3.1 Principio..... 16

3.2.2.3.2 Método 16

3.2.2.3.3 Criterios de aceptación..... 16

3.2.2.4 Características antigénicas 16

3.2.2.4.1 Principio..... 16

3.2.2.4.2 Método 16

3.2.2.4.3 Criterios de aceptación..... 16

4 Datos de control de calidad de los lotes de siembra de *Bordetella pertussis*..... 17

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
AP/GERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Lista de tablas

Tabla 1: Especificaciones para *Bordetella pertussis* (pre-MSL, MSL y WSL)13
Tabla 2: Datos de control de calidad para la *Bordetella pertussis*17





Lista de figuras

Figura 1: Sistema de lote de siembra de <i>Bordetella pertussis</i>	5
Figura 2: Preparación del pre-MSL de <i>Bordetella pertussis</i>	6
Figura 3: Preparación del lote de siembra maestra (MSL)	9
Figura 4: Preparación del lote de siembra de trabajo (WSL)	11



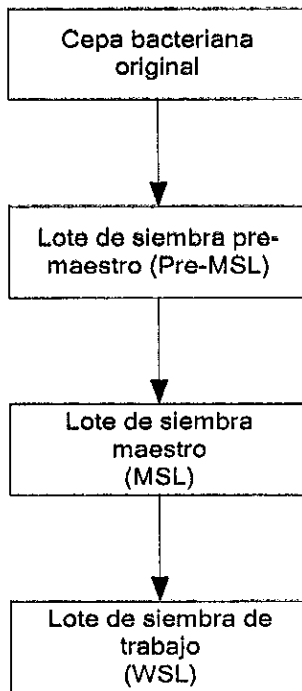
Lista de abreviaturas: vea la sección 2.3 Resumen general de calidad, Introducción.

1 Panorama del sistema de lotes de siembra

La producción del principio activo (toxoides pertúsicos purificados y FHA) se basa en un sistema de lotes de siembra según la descripción que se muestra a continuación y en la Figura 1:

- Lote de presiembra maestra (Pre-MSL)
- Lote de siembra maestra (MSL)
- Lote de siembra de trabajo (WSL)

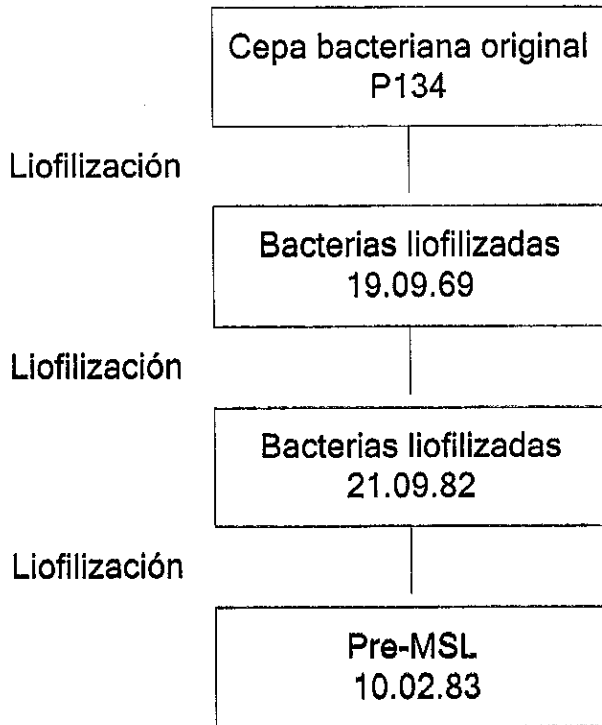
Figura 1: Sistema de lote de siembra de *Bordetella pertussis*

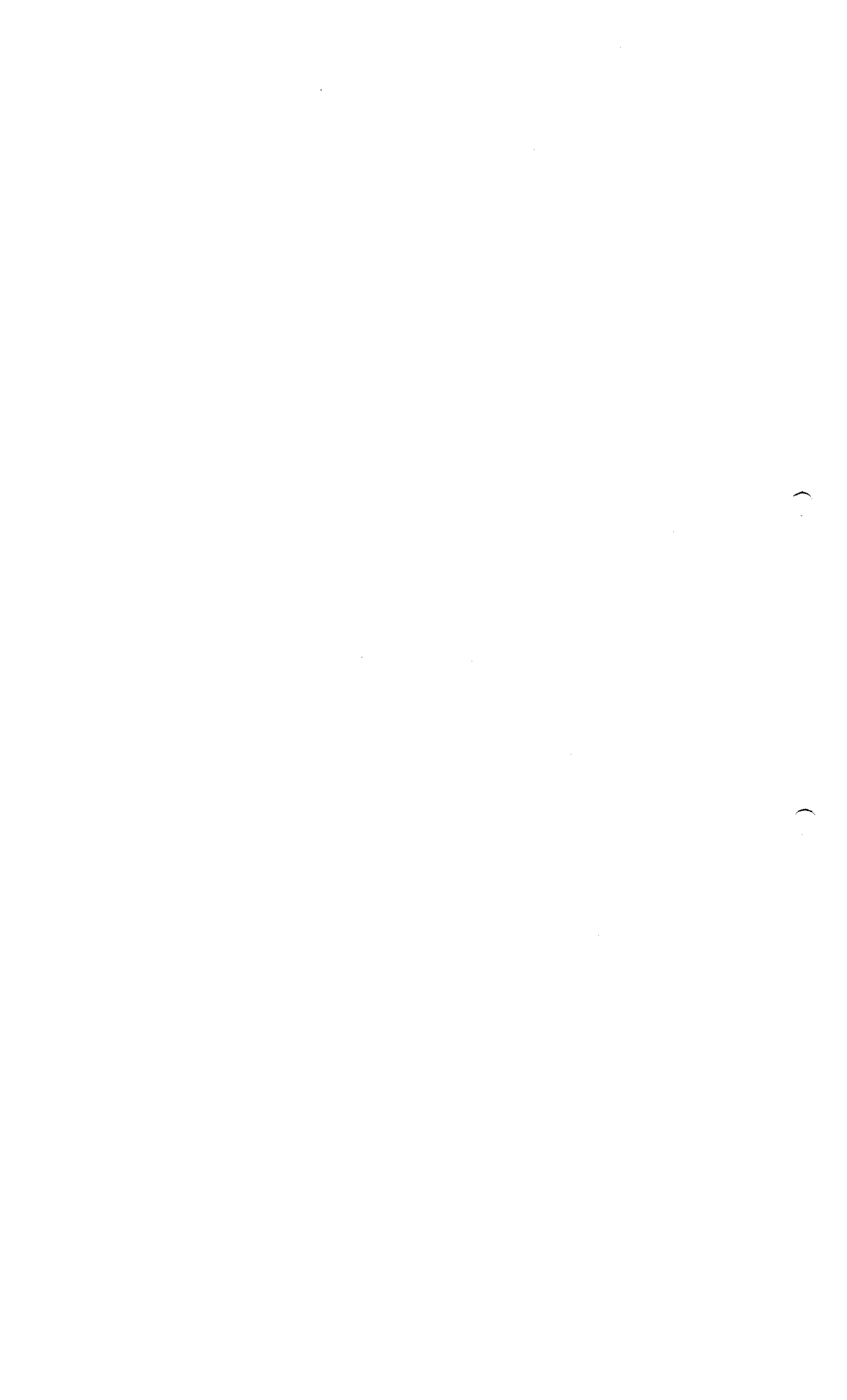




La preparación del pre-MSL de *B. pertussis* se resume en la Figura 2.

Figura 2: Preparación del pre-MSL de *Bordetella pertussis*





1.1 Preparación del lote de presiembra maestra

Se preseleccionaron varias cepas de fase I de *Bordetella pertussis* para elegir la mejor cepa de producción de FHA y PT

Esta cepa la proporcionó el Dr. Preston, Universidad de Manchester, como una ampolla liofilizada, el 7 de marzo de 1969 y se registró en el tipo de recolección de sanofi pasteur (anteriormente Institut Mérieux) como cepa de *Bordetella* n° 1591.

A partir de la ampolla original, se realizó una primera liofilización (en leche descremada) el 19 de septiembre de 1969; se constituyó un lote de siembra y se controló la pureza. Se determinó que el serotipo era 1, 3.

Se realizaron dos liofilizaciones más para obtener el lote de presiembra maestra final (lote 10.02.83).

La cepa de *Bordetella pertussis* se mantiene liofilizada en ampollas de vidrio selladas al vacío. Estas ampollas se almacenan a $+ 5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.2 Preparación del lote de siembra maestra (MSL)

Se utilizó una ampolla del lote de siembra premaestra número 10.02.83 para generar MSL.

- Primer cultivo:

Para amplificar las células bacterianas, la cepa se suspende en tampón de casamino ácido y se cultiva, en medio de Bordet Gengou con sangre ovina desfibrinada (vea la composición en 3.2.S.2.2 Cultivo celular y cosecha), durante 46 a 50 horas a $+ 37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Segundo cultivo:

El primer cultivo se suspende en tampón de casamino ácido y se cultiva en Bordet Gengou con sangre ovina desfibrinada durante 22 a 26 horas a $+ 37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Tercer cultivo:

El segundo cultivo se suspende en tampón de casamino ácido y se cultiva en Bordet Gengou con sangre ovina desfibrinada durante 20 a 24 horas a $+ 37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pasaje en ratones

Luego de la resuspensión en tampón de casamino ácido, la suspensión bacteriana se inyecta a ratones (hembra, de 6 semanas) sin patógenos específicos (SPF) por vía intracerebral.

Se toma una muestra intracerebral entre el 3° y 5° día de incubación y la suspensión se inocula en Bordet Gengou con sangre ovina desfibrinada.

Este cultivo se incuba de 64 a 76 horas a $+ 37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se suspende en una solución de leche descremada estéril.



Liofilización

La suspensión bacteriana se transfiere a ampollas (0,2 mL por ampolla) bajo un flujo de aire laminar vertical y luego se liofiliza.

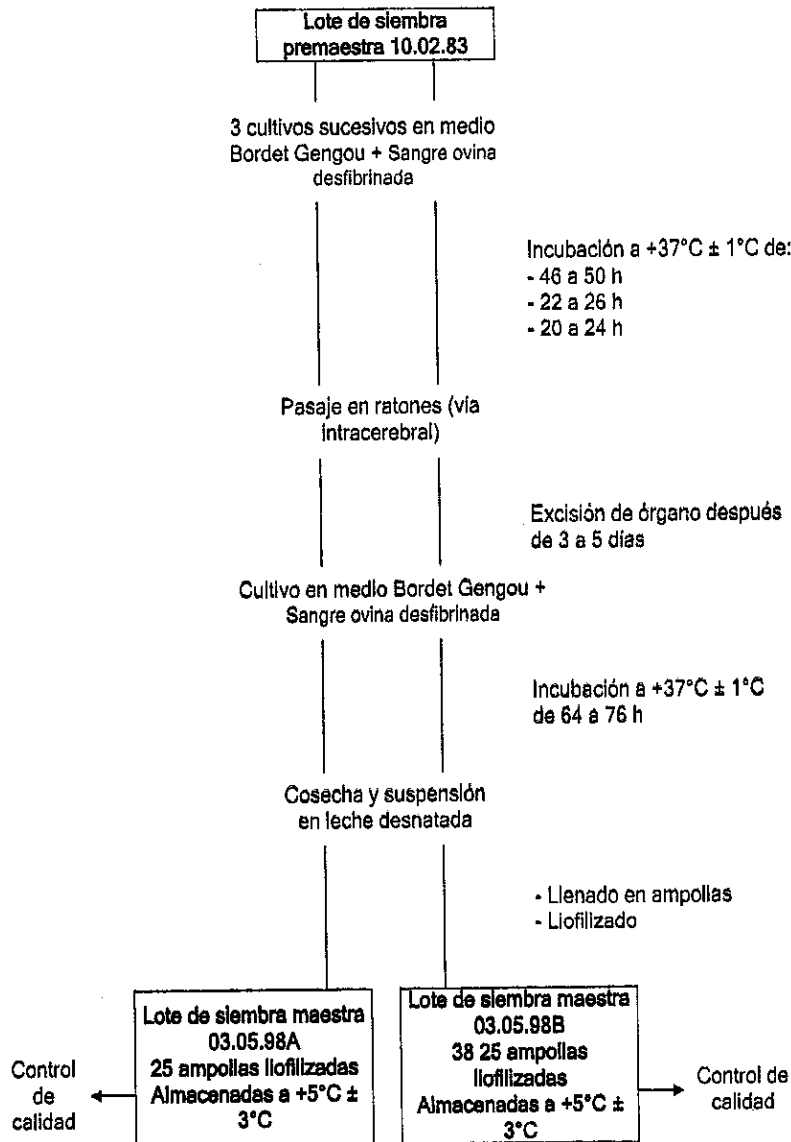
Al final de la etapa de liofilización, las ampollas se sellan al vacío y se mantienen a $+ 5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se produjeron los MSL (03.05.98A y 03.05.98B) y actualmente se utilizan para la elaboración de los lotes WSL.

A algunas ampollas se les realizan pruebas de control de calidad tal como se describirá más adelante (vea el párrafo 3.2).



Figura 3: Preparación del lote de siembra maestra (MSL)



1.3 Preparación de los lotes de siembra de trabajo (WSL)

Una ampolla del lote de siembra maestra (03.05.98) se utiliza para producir los lotes de siembra de trabajo.

- Primer cultivo:

El MSL se suspende en caldo de tripcasa de soja y se cultiva en Bordet Gengou con sangre ovina desfibrinada de 64 a 76 horas a + 37 °C ± 1 °C.

