



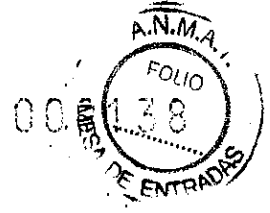


3.2.S.1.1

Nomenclatura - Tetánico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Sección 3.2.S.1.1 Nomenclatura

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

- Nombre internacional: Vaccinum tetani adsorbatum

Nombre en la Farmacopea Europea: Toxoide tetánico purificado a granel [(Monografía No. 0452, Vacuna antitetánica (adsorbida)].

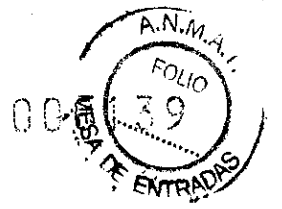
- Nombre de la Organización Mundial de la Salud:

Toxoide tetánico purificado a granel [proporcionado en TRS No. 800, anexo 1, 1990 (Requisitos para las vacunas contra difteria, tétanos, tos ferina y vacunas combinadas)] enmendado en 2003 por el TRS No. 927, anexo 5 (Recomendaciones para las vacunas contra difteria, tétanos, tos ferina y vacunas combinadas)].

- Nombre interno de la compañía (que se utilizará en el CTD):

Toxoide tetánico purificado, abreviado PTT.





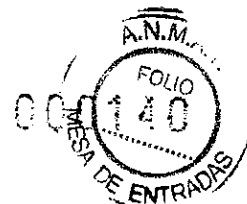
3.2.S.1.2

Estructura - Tetánico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

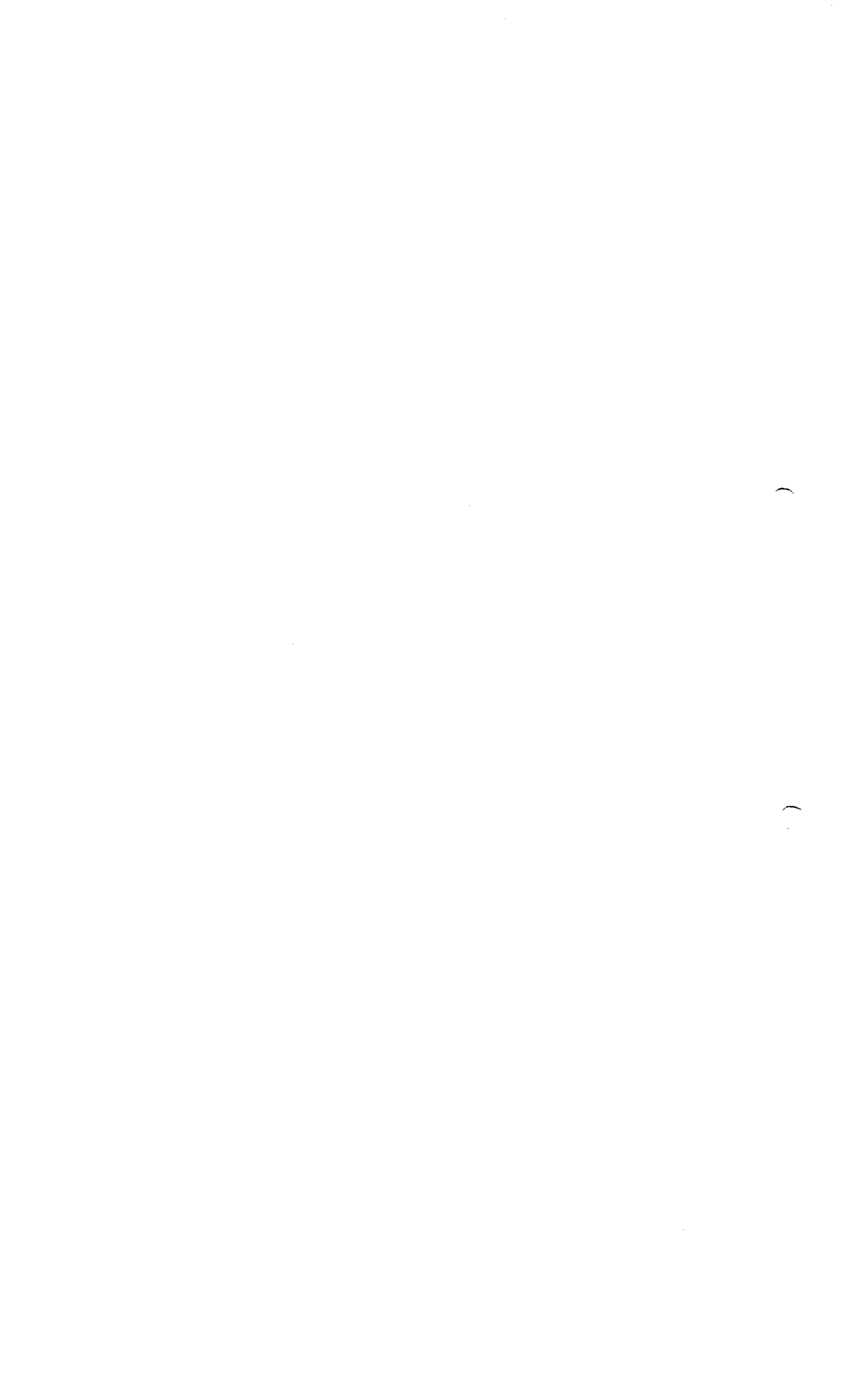




Sección 3.2.S.1.2 Estructura

Lista de figuras

Figura 1: Organización de los diversos campos de la toxina tetánica.....	2
Figura 2: Acción del formaldehído.....	3
Figura 3: Reacción química del proceso de detoxificación.....	4





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

El toxoide tetánico (TT) se produce por el crecimiento del *Clostridium tetani*, un bacilo gram positivo, móvil y anaerobio, que forma esporas. La toxina tetánica es la principal causa del tétanos.

La TT es una proteína heterodimérica covalente altamente tóxica con un peso molecular aparente de aproximadamente 150 kDa.

Este polipéptido presenta seis agrupamientos tiol (-SH) y dos uniones disulfuro (-S-S-).

Esta exotoxina bacteriana es sintetizada como una sola cadena de polipéptidos de 1315 residuos de amino ácidos.

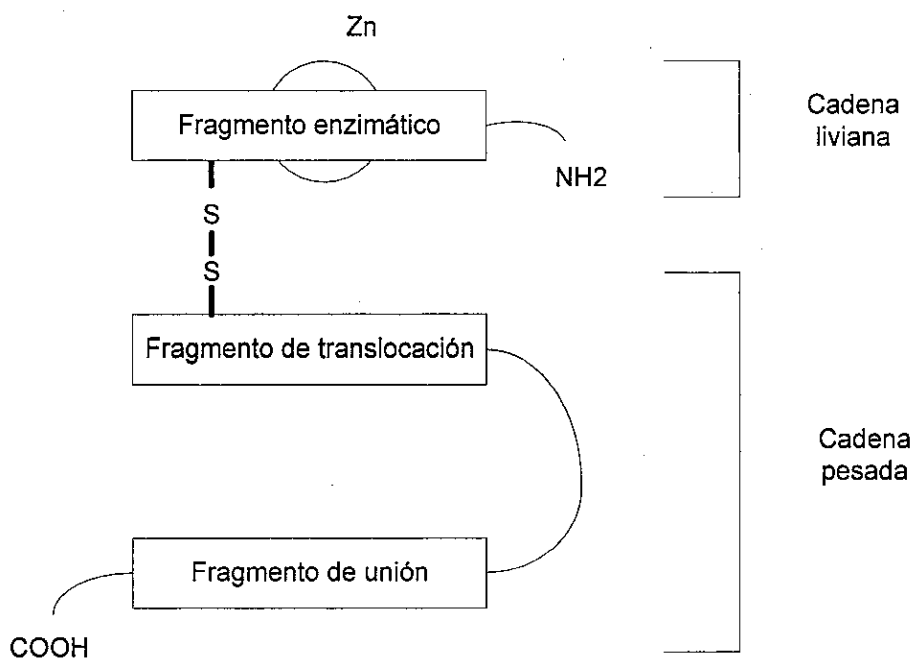
En el momento de la liberación celular, la TT es dividida por la proteasa para formar una cadena ligera (porción tóxica) con un peso molecular de aproximadamente 52 kDa y una cadena pesada (porción de unión) de aproximadamente 98 kDa. Estas dos cadenas están unidas por un enlace disulfuro.

La cadena ligera está compuesta por los 457 residuos amino N-terminal y contiene un centro catalítico de la proteasa dependiente del zinc.

La cadena pesada está compuesta por los 858 residuos restantes con una función COOH terminal. Está compuesta por un fragmento N-terminal de 407 residuos que interviene en la translocación de la cadena ligera y un fragmento C-terminal que interviene en las propiedades de unión.

La estructura cristalina de la cadena pesada reveló dieciséis hebras beta y cuatro hélices en el dominio N-terminal. El dominio C-terminal muestra un motivo trébol beta.

Figura 1: Organización de los diversos campos de la toxina tetánica







La TT se convierte en toxoide mediante la adición de formaldehído. A esta detoxificación sigue un paso de purificación. El PTT (toxoide tetánico purificado) obtenido pierde su toxicidad (la capacidad de unirse a las células y la acción activa) pero conserva sus propiedades antigénicas.

El proceso de detoxificación es el mismo para varias toxinas como la toxina tetánica, la toxina diftérica o la toxina de *Helicobacter pylori*: la conformación del espacio de la parte tóxica se modifica por medio de la formación de uniones metileno (vea la figura 2) utilizando formaldehído y la molécula pierde su toxicidad.

Como se explica en la figura 3, la reacción química inducida por el tratamiento con formaldehído se lleva a cabo en dos pasos.

Figura 2: Acción del formaldehído

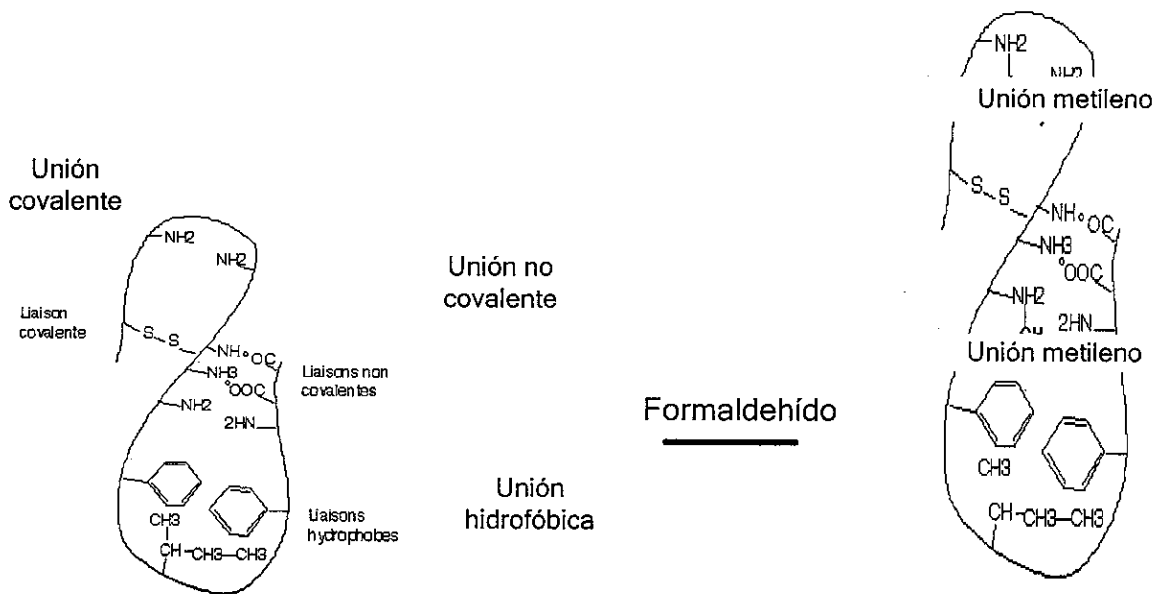
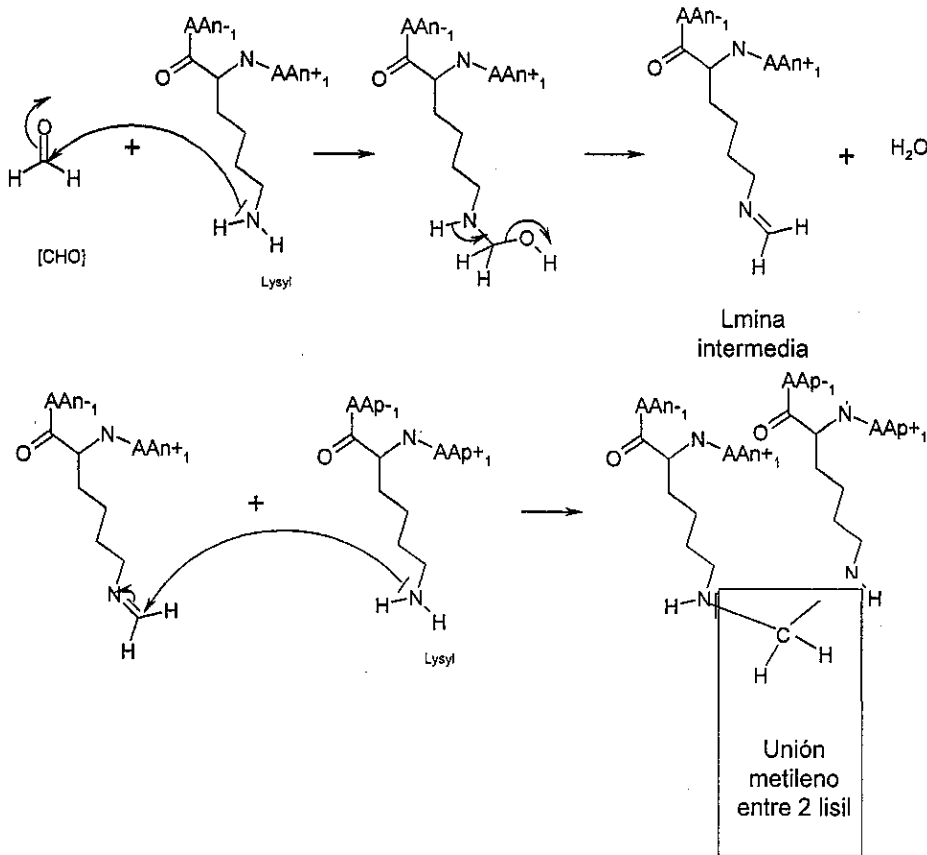
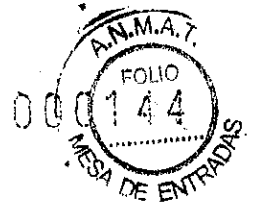




Figura 3: Reacción química del proceso de detoxificación







3.2.S.1.3

Información General - Tetánico


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

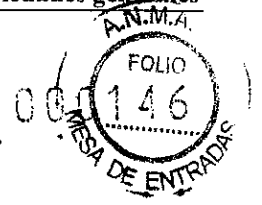




Sección 3.2.S.1.3 Propiedades generales

Índice

1	Descripción general.....	2
2	Propiedades fisicoquímicas.....	2
3	Actividad biológica.....	2
3.1	Propiedades biológicas.....	2
3.2	Evaluación cualitativa.....	3
3.3	Evaluación cuantitativa.....	3



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

1 Descripción general

El toxoide tetánico purificado (PTT) se obtiene mediante la detoxificación y purificación de la toxina tetánica (TT), una proteína altamente tóxica producida por la cepa Harvard 49205 de *Clostridium tetani* durante su fermentación de crecimiento.

El *Clostridium tetani* es un bacilo gram positivo, anaerobio y que forma esporas. La secuencia de codificación de la toxina tetánica (TT) se ubica en el plásmido pCL1 de la cepa de *Clostridium tetani*.

La detoxificación se lleva a cabo mediante la reacción del formaldehído en la TT para obtener el toxoide tetánico crudo. Luego se purifica esta sustancia para producir el PTT.

2 Propiedades fisicoquímicas

La proteína tetánica tóxica es sintetizada como una sola cadena de polipéptidos de 1315 residuos de amino ácidos. El punto isoeléctrico (pI) de la TT es: 6,0.

Después de la liberación celular, las proteasas separan la toxina tetánica para formar una cadena ligera de aproximadamente 52 kDa y una cadena pesada de aproximadamente 98 kDa. Las dos cadenas están unidas por una sola unión disulfuro.

Las modificaciones químicas de la TT (enlace cruzado de las dos subunidades) que produce el formaldehído durante el proceso de detoxificación contribuyen a incrementar el peso molecular aparente del principio activo (150kDa).

3 Actividad biológica

3.1 Propiedades biológicas

El fragmento N-terminal de 407 residuos de la cadena pesada de la TT (vea la sección 3.2.S.1.2 Estructura) interviene en la traslocación de la cadena ligera, el fragmento tóxico, a través de la membrana vesicular y hacia el interior del citosol neuronal.

El fragmento C-terminal de 451 residuos de la cadena pesada de la TT mostró propiedades de unión con la membrana presináptica de la motoneurona periférica y también de transporte axonal retrógrado y presináptico al sistema nervioso central.

La cadena ligera de la TT muestra una actividad enzimática de la metaloproteasa que depende del zinc. Este fragmento interfiere con la actividad neuronal. También es el fragmento que le proporciona las propiedades antigénicas a la sustancia medicamentosa.



FOLIO
000147
ENTRADAS

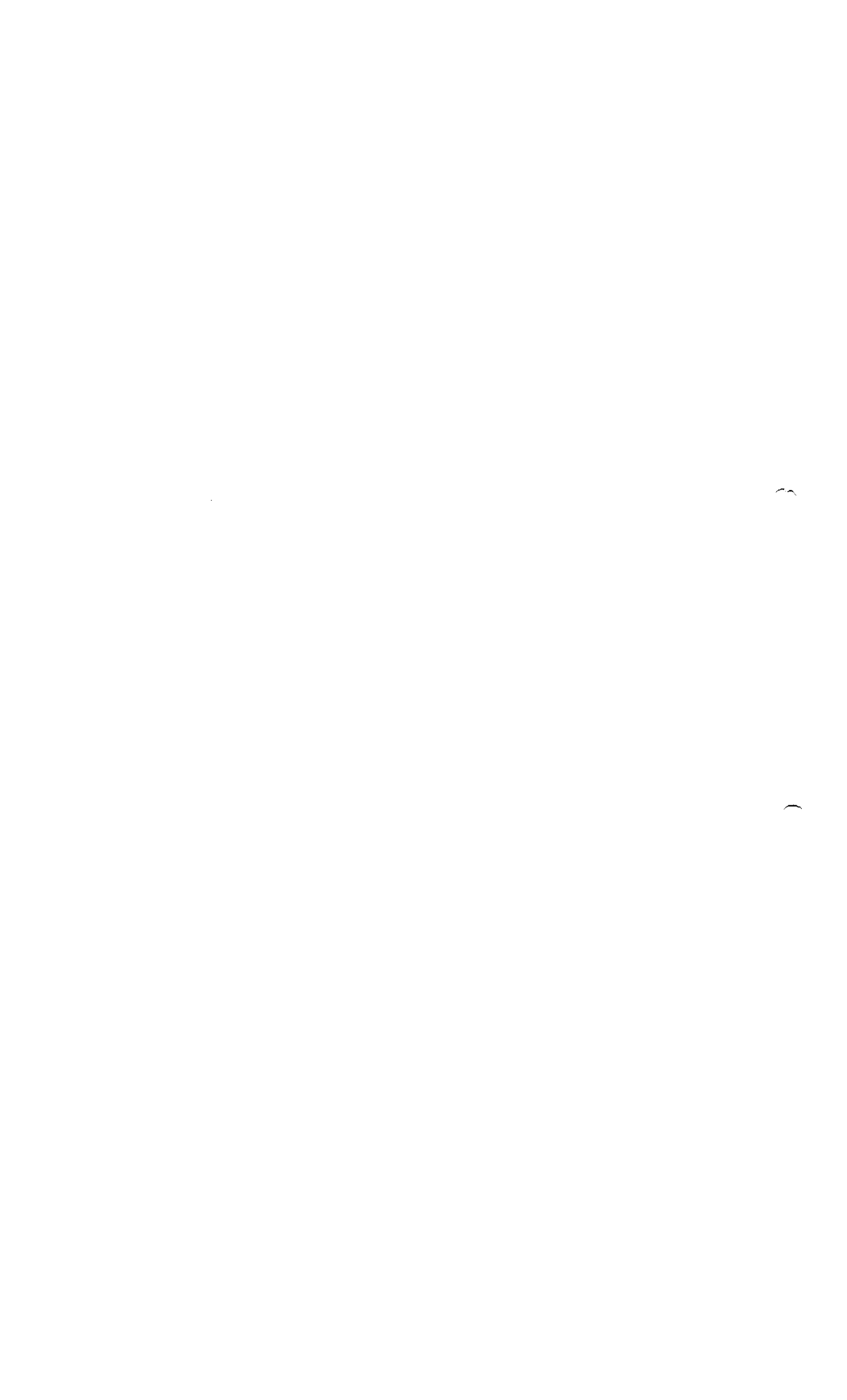
Mediante el tratamiento con formaldehído de la TT, la toxina pierde su toxicidad pero conserva sus propiedades de antigenicidad y permite inducir una respuesta inmunitaria después de la vacunación.

3.2 Evaluación cualitativa

Después de la detoxificación y purificación de la toxina tetánica, se verifica la ausencia de la toxina tetánica remanente y la irreversibilidad del toxoide (controles de liberación de calidad de la sustancia medicamentosa).

3.3 Evaluación cuantitativa



- Después de la detoxificación y purificación de la toxina tetánica, se verifica la pureza antigénica del toxoide tetánico purificado (control de liberación de calidad de la sustancia medicamentosa) mediante el cálculo de la razón entre el título de floculación y el contenido de nitrógeno proteico.
- Se lleva a cabo una prueba de potencia en la vacuna formulada utilizando toxoide tetánico purificado mediante la medición de la actividad tetánica *in vivo* (control de liberación del producto medicinal).



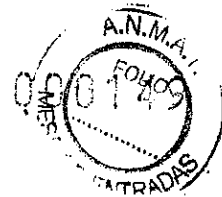


3.2.S.2.1

Fabricante(s) - Tetánico

 
ROXANA MONTEMILONE CHRISTIAN DOMINGUEZ
DIRECTORA TÉCNICA APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A. SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.2.1 Fabricante(s)

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

1 Nombre y dirección del fabricante

Dirección de la planta de elaboración y pruebas:

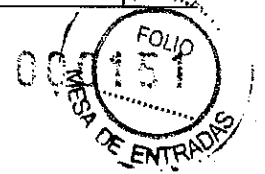
Sanofi pasteur
1541, avenue Marcel Merieux
69280 – Marcy L'Etoile – Francia

3.2.S.1.1

Nomenclatura - FHA PTxd


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TECNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Sección 3.2.S.1.1 Nomenclatura

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

- Nombre internacional:

Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum.

- Nombre de la Farmacopea Europea:

Componentes pertúsicos purificados para la vacuna contra la tos ferina, acelular, de dos componentes de sanofi pasteur:

Toxoide pertúsico (PTxd)

Hemaglutinina filamentosa (FHA)

[(Monografía n.º 1356, Vacuna contra la tos ferina (acelular, de componentes, adsorbida)].

- Nombre de la Organización Mundial de la Salud (OMS):

Componente pertúsico acelular de la vacuna combinada [TRS n.º 878, anexo 2, 1998 (Guideline for the production and control of the acellular pertussis component of monovalent or combined vaccines)].

- Nombre interno de la compañía (que se utilizará en el CTD):

Vacuna contra la tos ferina, acelular, de dos componentes, constituida por:

- FHA purificada adsorbida
- Toxoide pertúsico purificado adsorbido



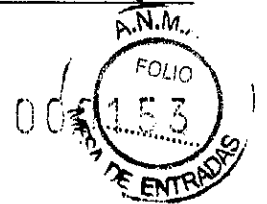
3.2.S.1.2

Estructura - FHA PTxd


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Sección 3.2.S.1.2 Estructura

Lista de abreviaturas: vea 2.3 Resumen general, Introducción.

- El principio activo de la vacuna acelular contra la tos ferina de dos componentes está constituido por dos proteínas antigénicas:
 - Toxoide pertúsico purificado adsorbido (PTxd);
 - Hemaglutinina filamentosa purificada adsorbida (FHA).

La toxina pertúsica y la hemaglutinina filamentosa se elaboran y se extraen de un cultivo único de *Bordetella pertussis*. Cada proteína se purifica individualmente. Luego la toxina pertúsica purificada se detoxifica con glutaraldehído y ambos antígenos se adsorben en hidróxido de aluminio.

- La toxina pertúsica es una proteína multimérica de 105 kDa, la cual está compuesta por 5 subunidades (de la S1 a la S5, cada complejo contiene dos copias de S4) y es producida por la *Bordetella pertussis*. Las subunidades forman una estructura de dos sitios, a saber:
 - El sitio catalítico A está formado por la subunidad S1 y posee una actividad ribosiladora de ADP;
 - El sitio de unión celular B está compuesto por las subunidades S2-S5 y contiene la porción de unión al receptor.

La masa de cada subunidad de la toxina pertúsica se presenta en la tabla 1.

Tabla 1: Peso molecular de las 5 subunidades de la toxina pertúsica

Subunidades	S1	S2	S3	S4	Pre-S5
Peso molecular teórico (Da)	26 222	21 922	21 870	12 058	11 758

- La hemaglutinina filamentosa (FHA) es una proteína muy inmunogénica, larga y con forma de bastoncillo, asociada a la superficie y secretada por la misma, que produce la *Bordetella pertussis*. Esta proteína se sintetiza como un precursor de >350 kDa y sufre un evento de separación proteolítica de la secuencia C-terminal durante su proceso de transporte y translocación, lo que da como resultado la formación de la proteína FHA madura de ≈220 kDa.

