

FARMACOPEA MERCOSUR: VACUNA DE FIEBRE AMARILLA ATENUADA

VISTO: El Tratado de Asunción, el Protocolo de Ouro Preto y las Resoluciones N° 31/11 y 22/14 del Grupo Mercado Común.

CONSIDERANDO:

Que la Farmacopea MERCOSUR tiene como objetivo establecer los requisitos mínimos de calidad y seguridad de los insumos para la salud, especialmente de los medicamentos, apoyando las acciones de reglamentación sanitaria y promoviendo el desarrollo técnico, científico y tecnológico regional.

Que las especificaciones farmacopeicas establecen, por medio de monografías, requisitos mínimos para el control de seguridad y calidad de los insumos, especialidades farmacéuticas, plantas medicinales y derivados producidos o utilizados en los Estados Partes.

Que las especificaciones farmacopeicas son utilizadas como parámetro para las acciones de vigilancia sanitaria, incluyendo el registro de medicamentos, inspecciones y análisis de laboratorio.

Que la Farmacopea MERCOSUR y la producción de patrones propios de calidad favorecen al desarrollo científico y tecnológico de los Estados Partes, contribuyendo a la disminución de la dependencia de proveedores extranjeros y promoviendo a la industria regional.

Que la Farmacopea MERCOSUR debe ser primordialmente sanitaria, con énfasis en la salud pública, y presentar una metodología analítica accesible a los Estados Partes, buscando su reconocimiento y respetabilidad internacional.

Que el diálogo regulatorio y la integración entre los Estados Partes promueven el acceso de la población a medicamentos con mayor calidad y seguridad.

Que el Acuerdo N° 08/11 de la Reunión de Ministros de Salud del MERCOSUR constituye un marco de referencia para la Farmacopea MERCOSUR.

**EL GRUPO MERCADO COMÚN
RESUELVE:**

Art. 1 - Aprobar, en el marco de lo establecido en la Resolución GMC N° 22/14, la monografía "Farmacopea MERCOSUR: "Vacuna de Fiebre Amarilla Atenuada", que consta como Anexo y forma parte de la presente Resolución.

Art. 2 - Los Estados Partes indicarán en el ámbito del SGT N° 11 los organismos nacionales competentes para la implementación de la presente Resolución.

Art. 3 - Esta Resolución deberá ser incorporada al ordenamiento jurídico de los Estados Partes antes de...

XLIII SGT N° 11 – Brasilia, 10/IV/15.

ANEXO

VACUNA DE FIEBRE AMARILLA ATENUADA

Vaccinum febris flavae vivum

DEFINICIÓN

La vacuna fiebre amarilla atenuada está constituida de virus vivos atenuados, presentándose en forma liofilizada. Después de la reconstitución con un diluyente apropiado, presenta aspecto de suspensión homogénea pudiendo presentar coloración debido a la presencia de un indicador de pH.

PRODUCCIÓN

La producción de la vacuna se basa en el sistema de lotes semilla primaria de la cepa 17 D, del cual por medio de pasajes en huevos embrionados de gallina SPF (libres de patógenos específicos), se origina el lote semilla secundario.

Cada lote semilla primario de virus debe ser sometido a pruebas de identificación, agentes adventicios (esterilidad bacteriana y fúngica, micoplasmas y micobacterias), virus de leucosis aviar e inoculación en monos para verificar viscerotropismo, inmunogenicidad y neurotropismo.

Cada lote semilla secundario de virus deberá ser sometido a pruebas de identificación, agentes adventicios (inoculación en cobayos y ratones, esterilidad bacteriana y fúngica, micoplasmas y micobacterias, cultivo celular y virus aviares), virus de leucosis aviar e inoculación en monos para verificar viscerotropismo, inmunogenicidad y neurotropismo.

La replicación del virus se lleva a cabo en huevos embrionados de gallina, libres de patógenos específicos. Si la producción de la vacuna se produce en huevos embrionados, un 2% y no menos de 20 huevos y no más de 80 huevos no infectados con la cepa de la vacuna deben demostrar la ausencia de patógenos específicos para aves.

La suspensión viral es clarificada por un método apropiado para la eliminación de los residuos celulares y de algunas sustancias estabilizadoras que se han demostrado se pueden añadir sin alterar la eficacia y seguridad del producto. Ninguna proteína humana puede ser agregada a la suspensión viral en ninguna etapa durante la producción.

A la suspensión viral o la mezcla de suspensiones virales individuales se les realiza ensayo de identificación, esterilidad bacteriana y fúngica, micoplasma y micobacterias, y concentración viral.

Ensayo en cultivos celulares para otros agentes adventicios. Se inoculan 5 mL de muestra de los extractos de los huevos control en cultivos de células de riñón de mono y de fibroblastos de embrión de pollo. Se incuban las células a una temperatura de 36 ± 1 °C y se observan durante 14 días. No se deberá evidenciar la

presencia de cualquier agente adventicio y al menos el 80% del cultivo celular debe seguir siendo viable.

Virus aviar. Inocular 0,1 mL de los extractos de huevos control por la vía alantoidea en cada uno de 10 huevos SPF embrionados de 9 a 10 días. Proceder de la misma manera, inoculando en el saco vitelino, 10 huevos embrionados SPF de 5 a 7 días. Al final de 7 días de incubación, por lo menos el 80% de los huevos inoculados deben permanecer viables, así como no deben ser evidenciados agentes hemaglutinantes y/o patologías macroscópica típicas en los embriones y en las membranas corio-alantoideas.

VACUNA FINAL A GRANEL

El producto se ensaya para esterilidad, concentración de virus y nitrógeno proteico.

Contenido de nitrógeno proteico (XXX): Máximo 0,25 mg por dosis antes de la adición de cualquier estabilizante.

El producto se envasa en recipientes adecuados, es liofilizado y rotulado, y se somete a los controles exigidos.

PRODUCTO FINAL

IDENTIFICACIÓN

La vacuna cuando se neutraliza con suero que contiene anticuerpo específico para el virus de la fiebre amarilla, inhibe la formación de unidades formadoras de placa (UFP) en células susceptibles, como se describe en *Potencia*. Se pueden utilizar métodos de biología molecular, tales como secuenciación y amplificación de ácidos nucleicos.

ENSAYOS FISICOQUÍMICOS

Pérdida por secado (xxx). A partir de 80 mg de muestra, en una atmosfera de pentóxido de fósforo anhidro a 5 mmHg de presión 60 °C, durante 3 horas. El pesafiltro es enfriado en un desecador con silica gel e inmediatamente pesado. Máximo 3%.

ENSAYOS DE PUREZA

Ovoalbúmina residual. Tres viales del mismo lote de vacuna liofilizada y estándar de la ovoalbúmina son sometidas a método inmunoenzimático de ELISA. Preparar una curva estándar de ovoalbúmina en concentraciones de 100 µg a 0,5 µg. Diluir la vacuna utilizando el factor 2 en solución tamponada fosfato salina conteniendo Polisorbato 20 0,05% y leche en polvo descremada al 0,2-0,5% (PBS-P20-0,05% L-0,2- 0,5%). Sembrar por duplicado cada dilución comenzando con una dilución 1:10 y utilizando factor de 2 en una placa de 96 pocillos previamente sensibilizada con anticuerpos anti - ovoalbúmina (conejo) en tampón carbonato - bicarbonato de sodio 0,1 M pH 9,6 y bloqueada con albúmina de suero bovino 3% (p/v). Incubar durante 30 minutos a 37 °C. Lavar las placas con solución tamponada fosfato salina conteniendo Polisorbato 20 0,05 % (PBS- P20 0,05 %) y añadir los anticuerpos anti-

ovoalbúmina (conejo) conjugados con peroxidasa en PBS-T 0,05% L-0,2- 0,5%. Incubar durante 30 minutos a 37 °C y lavar nuevamente. Revelar la reacción con el sustrato para la peroxidasa tetrametil bencidina (TMB) en tampón de fosfato-citrato de pH 5,0 y detener con ácido sulfúrico 2 M. Realizar la lectura en un lector de microplacas a una longitud de onda de 450 nm.

El contenido de ovoalbúmina residual se calcula a partir de la curva estándar.

La vacuna se considera aceptable si el contenido de ovoalbúmina residual es menor o igual a 5 µg/ dosis.

ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Endotoxina bacteriana (XXX). Máximo 5 UE por dosis humana.

Esterilidad (XXX). Cumple con el ensayo.

POTENCIA

Para la determinación de la potencia de la vacuna debe utilizarse una vacuna de referencia calibrada en unidades internacionales (UI).

Al menos tres viales de la vacuna liofilizada y una de la vacuna de referencia se someten al ensayo de unidades formadoras de placa (UFP). Diluir la vacuna mediante un factor de 4 y sembrar cada dilución por lo menos en triplicado en placas de seis pocillos sobre una monocapa de células Vero previamente sembradas. La concentración de la línea celular puede variar de 150000 a 300000 células por mL, dependiendo del día de su utilización. Después de la adsorción durante 90 minutos a una temperatura de 36 °C ±1°C, en atmósfera de 5 % de CO₂, retirar los inóculos y adicionar un medio de cultivo que contiene agarosa o carboximetilcelulosa de concentración apropiada. Incubar las placas durante cinco a siete días a una temperatura de 36 °C ±1°C, en atmósfera de CO₂ al 5%. Después del período de incubación, eliminar el medio de crecimiento, fijar las células con formaldehído y teñir con un colorante vital.

Calcular la media del número de placas de los viales de vacuna del ensayo y de la referencia, por métodos estadísticos probados. Comparar la concentración viral de la vacuna del ensayo con la de la vacuna de referencia y expresar el resultado en Unidades Internacionales (UI) por dosis. La potencia mínima debe ser 3,0 log₁₀ UI por dosis.

Para que la determinación se considere válida, es necesario que (a) el control de cultivo de células monocapa se presente sin cambios (b) la variación de la potencia entre las tres muestras de la vacuna no sea mayor que 0,3 log₁₀ UI; (c) la potencia de la vacuna de referencia no varíe más de 0,5 log₁₀ UI de su título establecido, (d) el número de UFP disminuya con las diluciones crecientes.

El ensayo debe repetirse si no cumple con los requisitos.

TERMOESTABILIDAD

La prueba se realiza en paralelo con la *Potencia*. Incubar, por lo menos tres viales de vacuna durante 14 días a 37°C ± 1°C y analizar según se describe en *Potencia*. La vacuna no puede perder más de 1,0 log₁₀ en relación con el título determinado en la muestra conservada en condiciones adecuadas de temperatura. Además no debe presentar título inferior al especificado para la potencia del producto.

ACONDICIONAMIENTO Y ALMACENAMIENTO

De acuerdo con la normativa vigente por la Autoridad Regulatoria Nacional.

ROTULADO

De acuerdo con la normativa vigente por la Autoridad Regulatoria Nacional.