



“2025, Año de la Mujer Indígena”

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de agosto y hasta el 30 de septiembre de 2025, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: [consultas@farmacopea.org.mx](mailto:consultas@farmacopea.org.mx).

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: \_\_\_\_\_  
Institución o empresa: \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_

Cargo: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Correo electrónico: \_\_\_\_\_

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Debe decir | Justificación* |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <b>TOXOIDE DIFTÉRICO PURIFICADO</b><br>El toxoide diftérico <del>es preparado</del> se prepara mediante la des <del>to</del> toxificación de la toxina producida durante el crecimiento de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> . La fabricación del toxoide se <del>basa</del> origina en el sistema de lote semilla<br>El toxoide diftérico se utiliza para la inmunización, combinado con el toxoide tetánico (Td, DT), o con toxoide tetánico y pertussis de células completas (DTP), o con toxoide tetánico y antígenos de pertussis acelular ( <del>DTaP-DTPa/TdPA</del> ). El toxoide diftérico se utiliza también en otras vacunas combinadas que pueden contener, además de antígenos de tétanos y pertussis, poliovirus inactivados, conjugados de polisacárido capsular de <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b (Hib) y antígeno de superficie de la hepatitis <del>b B o alguna combinación de estos en varias combinaciones posibles</del> . Si se emplea como acarreador del Hib, el |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Debe decir | Justificación* |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <p>toxoides diftérico purificado debe cumplir con los requisitos descritos en esta monografía, además de aquellos específicos de la monografía correspondiente.</p> <p>Actualmente todas las vacunas <del>contra la difteria</del> que contienen <b>toxoides diftéricos</b> emplean hidróxido <del>de aluminio</del> o fosfato de aluminio, como adyuvante. Las vacunas de refuerzo contra la difteria aplicadas a niños mayores, adolescentes y adultos están formuladas con menor cantidad de toxoides diftéricos en comparación con las vacunas para inmunización primaria; estas dosis más bajas para las vacunas de refuerzo se señalan con una "d" minúscula, mientras que las destinadas a la inmunización primaria se señalan con una "D" mayúscula.</p> |            |                |
| <b>FABRICACIÓN</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |                |
| <p><b>Cepas de producción y lotes semilla.</b> <del>Las cepas utilizadas en la producción del toxoide estarán identificadas mediante un registro completo de su historia, incluyendo origen, pruebas realizadas para verificar sus características y su manipulación subsiguiente. Se utilizan cepas que han demostrado ser altamente toxigénicas. Los cultivos de los lotes semilla de trabajo tendrán las mismas características que los cultivos de la cepa de la cual fue derivada la semilla maestra. Especificar el número máximo de pases del lote semilla, basado en la obtención de un producto que sea seguro y efectivo. La consistencia de producción será demostrada y podrá verificarse con la determinación del</del></p>                         |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Debe decir | Justificación* |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <p><del>contenido de unidades de floculación por mililitro.</del><br/>Las cepas utilizadas en la producción del toxoide estarán identificadas mediante un registro completo de su historia, incluyendo su origen y las pruebas realizadas para verificar sus características iniciales y su manipulación subsiguiente. Se utilizan cepas que han demostrado ser altamente toxigénicas. La consistencia de producción será demostrada y podrá verificarse con la determinación del contenido de límites de floculación (Lf) por mililitro. Los cultivos de los lotes semilla de trabajo tendrán las mismas características que los cultivos de la cepa de la cual fue derivada la semilla maestra. Especificar el número máximo de pases del lote semilla, basado en la obtención de un producto que sea seguro y eficaz.</p> <p>Sólo los lotes semilla de trabajo que cumplan con los siguientes requisitos serán utilizados para propagación</p> |            |                |
| <p><b>IDENTIDAD.</b> Las cepas serán identificadas mediante técnicas microbiológicas. Pueden utilizarse <b>además</b> pruebas moleculares, bioquímicas o genéticas para su identificación <b>y caracterización.</b></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |            |                |
| <p><b>OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.</b> MGA 0921.<br/>Sus características morfológicas corresponden a las del cultivo maestro para cada una de las cepas en estudio.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |            |                |
| <p><b>PUREZA.</b> MGA 0381. Cumple los requisitos.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Debe decir | Justificación* |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <b>Medio de cultivo para la producción de toxina.</b> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> será cultivado en un medio líquido apropiado para el crecimiento de la bacteria y asegurar una buena producción de toxina diftérica.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |            |                |
| El medio de cultivo estará libre de agentes adventicios, y componentes que puedan causar reacciones alérgicas en <b>los seres</b> humanos. No debe utilizarse sangre humana o productos derivados de la sangre. Si el medio se prepara <b>a partir</b> de hidrolizado de caseína o músculo digerido, <b>tomar se tomarán</b> precauciones para asegurar que la digestión se ha realizado completamente. Los materiales o componentes de origen animal empleados y su uso cumplirán con las directrices <b>que</b> sobre las encefalopatías espongiformes transmisibles <b>que</b> han sido establecidas. Los métodos para la detección de estas sustancias y cualquier cambio en los medios utilizados estarán aprobados por la <b>Autoridad Agencia</b> Regulatoria Nacional. |            |                |
| <b>Cosechas individuales.</b> Se demostrará la consistencia de la producción. Este proceso implica <b>medidas el control</b> de la pureza del cultivo, <b>la</b> cinética de crecimiento, <b>el</b> pH, <b>el</b> período de incubación, <b>la</b> temperatura y <b>el</b> rendimiento de toxina producida, entre otros. Cualquier cultivo que presente <b>anomalías desviaciones</b> en las características de crecimiento debe investigarse y <b>se</b> demostrará que es satisfactorio antes de ser aceptado como una cosecha individual. Los cultivos contaminados                                                                                                                                                                                                         |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Debe decir | Justificación* |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| serán desechados.<br>Las cosechas individuales que cumplen los criterios de aceptación podrán <del>ser mezcladas</del> <b>mezclarse</b> para preparar el granel de toxoide purificado. Los tiempos de almacenamiento estarán sustentados por los datos obtenidos de estudios de estabilidad.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |            |                |
| <b>Control de pureza bacteriana.</b> Se usarán <del>Mmuestras de los cultivos celulares utilizados para la preparación de las</del> cosechas individuales <del>serán para verificardas en su</del> pureza bacteriana, mediante el examen microscópico de frotis teñidos y por inoculación en medios de cultivo adecuados o por otro procedimiento apropiado. Las cosechas individuales se desechan si ha ocurrido contaminación en cualquier etapa de la fabricación. El medio de cultivo que contiene la toxina será colectado asépticamente o de manera que se minimice la biocarga. Se utilizarán condiciones y medidas adecuadas de almacenamiento para minimizar el crecimiento de microorganismos. |            |                |
| <b>Filtración.</b> Después de que el medio de cultivo ha sido muestreado para controlar <del>su de</del> pureza, se procede <del>tan pronto como sea posible</del> a la filtración para separar <del>el medio</del> asépticamente <del>el medio</del> de la masa bacteriana <del>tan pronto como sea posible</del> . Se puede adicionar un preservativo, a excepción del fenol. Para facilitar la filtración, los cultivos pueden ser centrifugados, tomando las precauciones adecuadas para evitar la formación de aerosoles potencialmente peligrosos.                                                                                                                                                 |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Debe decir | Justificación* |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <b>Determinación de la concentración de la toxina cruda.</b> En el sobrenadante del cultivo previo a la destoxificación, se determina el contenido de toxina mediante la prueba de floculación ( <i>MPB 0925</i> ). <del>Incluir un material de referencia calibrado en Lf contra el estándar internacional para el toxoide diftérico para pruebas de floculación y los resultados se expresarán en unidades Lf.</del> La medida del contenido de la toxina (definido en Lf /mL) es un buen indicador de la consistencia de la producción y los límites de aceptación <del>deben definirse-se definen</del> para propósitos de monitoreo.                                                                                                                                                                                                                                  |            |                |
| Es preferible que los filtrados de cultivo contengan al menos 50 Lf/mL de toxina. <del>,aunque concentraciones más bajas han sido utilizadas por algunos fabricantes con resultados satisfactorios.</del>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |            |                |
| <b>Destoxificación y purificación.</b> La destoxificación de la toxina diftérica <del>se realiza en</del> puede llevarse a cabo a partir de la toxina cruda (filtrado del cultivo) o de la toxina purificada. <del>mediante un proceso validado. La purificación de la toxina antes de la destoxificación resulta en un producto más puro y permite quitar componentes que son susceptibles de causar reacciones adversas en seres humanos, aunque el punto de mayor cuidado será durante la destoxificación, porque puede aumentar el riesgo de reversión a la toxicidad. El proceso de purificación estará validado.</del> El formaldehído es el reactivo <del>destoxificante</del> más utilizado, y se puede adicionar lisina o glicina para facilitar los enlaces cruzados de moléculas de toxina y evitar la reversión. Las condiciones de <del>destoxificación</del> |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Debe decir | Justificación* |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| estarán bien definidas y controladas con respecto a la temperatura, tiempo, concentración de reactivo <del>de</del> toxificante, concentración de toxina y cualquier otro parámetro crítico, con el fin de producir <del>de</del> manera consistente <del>consistencia y que el</del> toxoide inactivado <del>sea de que posea</del> la inmunogenicidad deseada.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |            |                |
| <p>Pese a ser un proceso validado, la velocidad de detoxificación puede variar de lote a lote, por lo que se debe monitorear la toxicidad residual durante la detoxificación.</p> <p>La purificación de la toxina antes de la detoxificación da como resultado un toxoide más puro, del que se han eliminado componentes que pueden causar reacciones adversas en humanos, aunque debe ponerse especial cuidado a la detoxificación en este caso, porque puede aumentar el riesgo de reversión a la toxicidad.</p> <p>El toxoide crudo puede <del>ser concentrado</del> concentrarse mediante ultrafiltración <del>antes de la</del> con anterioridad a su purificación por fraccionamiento con sulfato de amonio, diálisis, <del>filtración en gel de filtración</del>, cromatografía de intercambio iónico, o una combinación de estos métodos. También <del>pueden realizarse es</del> conveniente llevar a cabo pruebas de carga microbiana después de la purificación para <del>asegurar</del> confirmar que <del>se han minimizado</del> los niveles <del>potenciales</del> de contaminación <del>se han</del> mantenido a un grado aceptable, <del>para ya que</del> los pasos posteriores <del>que</del> no se realizan asépticamente. <del>En la vacuna final a granel se</del></p> |            |                |





“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Debe decir | Justificación* |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <del>determina, la cantidad de formaldehído libre residual después de la destoxificación y purificación, MPB-0500. Determinación de formaldehído libre, no más de 0.02 % (m/v) por cualquiera de los dos métodos descritos.</del> Las cosechas individuales <del>son</del> tratadas como agente detoxificante se considera <del>como</del> potencialmente tóxicas y <del>están</del> sujetas a las restricciones de seguridad apropiadas, hasta que se haya demostrado que la <del>destoxificación</del> es completa, <del>a través por medio</del> de una prueba de toxicidad específica como el ensayo en células Vero o un método <del>equivalente apropiado</del> validado. |            |                |
| <b>GRANEL PURIFICADO</b><br>El granel purificado corresponde a la mezcla estéril de una o varias cosechas individuales. Se puede adicionar un preservativo que no afecte la seguridad e inmunogenicidad del toxoide. Cada lote de granel purificado cumplirá con los siguientes requisitos antes de utilizarse en la preparación del <del>un</del> granel final.<br>Es recomendable esterilizar el granel purificado por filtración.<br>La consistencia en la producción garantiza la calidad del producto.                                                                                                                                                                     |            |                |
| <b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Cumple los requisitos.<br><del>Utilizar por lo menos 10 mL del granel purificado para cada medio.</del><br><del>Si se ha añadido un preservativo al producto purificado, se deben tomar las medidas adecuadas para evitar cualquier interferencia en la prueba de esterilidad.</del>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |            |                |





“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Debe decir | Justificación* |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <b>PRESERVATIVO.</b> Cuando aplique, determinar por un método validado. Cumple los requisitos, el contenido no es menor a la mínima cantidad establecida que es efectiva.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |            |                |
| <b>PUREZA ANTIGÉNICA.</b> Cada granel de toxoide purificado debe analizarse en pureza antigénica mediante la determinación de la concentración de antígeno en Lf (MPB 0940, Método 2-B. Prueba de floculación para toxinas y toxoides, Lf/mL) y la concentración de nitrógeno proteico no dializable (MPB 0840. Determinación de proteínas por Kjeldahl), la concentración de antígeno será determinada por comparación con un material de referencia calibrado contra el estándar internacional de toxoide diftérico para la prueba de floculación. El método de prueba también estará aprobado por dicha Autoridad. El granel purificado cumple los requisitos si contiene no menos de 1 500 Lf/mg de nitrógeno proteico. No menos de 1 500 Lf/mg de nitrógeno proteico. Esta pureza antigénica se calcula en términos relativos a partir de la determinación de la concentración de antígeno en Lf (MPB 0925) y la concentración de nitrógeno proteico no dializable (MPB 0840). |            |                |
| La prueba de floculación es adecuada para medir el contenido de antígeno. Se pueden emplear métodos de análisis fisicoquímicos como electroforesis en gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, MGA 0311) y la cromatografía líquida de alta resolución (MGA 0241, CLAR) pueden utilizarse para monitorear la pureza, antigénica y proporcionar información                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Debe decir | Justificación* |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <del>adicional sobre</del> la integridad, <del>del antígeno</del> y el grado de agregación y proteólisis <del>del antígeno</del> . Estas pruebas adicionales de caracterización deben realizarse cada vez que se introduce una nueva semilla de trabajo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                |
| <b>TOXICIDAD ESPECÍFICA</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |            |                |
| <del>Prueba en cobayos.</del> Inocular por vía subcutánea 1.0 mL de una dilución del toxoide que contenga al menos 500 Lf, en cada uno de al menos cinco cobayos de 250 a 350 g. Observar a los animales en prueba diariamente durante 42 días. El granel pasa la prueba si ningún cobayo muestra signos de toxicidad específica y si al menos el 80 % de los animales sobrevive dentro del período de prueba. Si más de un animal muere por causas no específicas la prueba se repite utilizando al menos cinco cobayos más. Si muere más de un animal en la segunda prueba, el granel de toxoide no cumple.               |            |                |
| <del>Prueba en células Vero.</del> Un método alternativo es el cultivo en células Vero, utiliza una dilución del granel del toxoide purificado que no contiene adyuvante, preservativo y otros excipientes que pueden causar toxicidad inespecífica en células Vero. Se realiza una titulación por duplicado en presencia de antitoxina diftérica para confirmar que cualquier signo de citotoxicidad es específico y verdadero ante la presencia de toxina diftérica. Para que la sensibilidad del ensayo sea confirmada, se incluirá un testigo de toxina diftérica purificada, diluida en un granel de toxoide diftérico |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Debe decir | Justificación* |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <del>purificado que previamente ha demostrado ser no tóxico para las células Vero.</del>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                |
| <b>REVERSIÓN A LA TOXICIDAD</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                |
| <del><b>Prueba en cobayos.</b> Con el mismo diluyente utilizado para formular la vacuna, preparar diluciones del toxoide de prueba que represente la concentración más baja y la más alta que la vacuna tendrá en la formulación final incluyendo las condiciones químicas que tendrá, excepto por la presencia del adyuvante. Dividir la solución en dos partes iguales, incubar una parte entre 2 y 8 °C y la otra entre 34 y 37 °C durante 6 semanas. Posterior al período de incubación, inocular por vía subcutánea a cada uno de cinco cobayos de 280 a 300 g, con 5 mL (10 dosis individuales humanas, utilizando varios sitios de inoculación) de cada solución. Pesar los animales al inicio, al tercer día después de la inoculación y cada semana hasta finalizar el período de observación durante 42 días. El producto pasa la prueba si ningún cobayo muestra signos de toxicidad específica.</del> |            |                |
| <del><b>Prueba en células Vero.</b> Realizar la prueba en células Vero para detectar la presencia de toxina diftérica activa, utilizando 50 µL/pozo de las muestras incubadas a las dos diferentes temperaturas, las cuales no deberán contener preservativo y agente destoxificante, la toxicidad inespecífica se puede eliminar por diálisis. Utilizar un cultivo fresco, tripsinizado, de células Vero a una concentración de <math>2.5 \times 10^5</math>/mL y una preparación de referencia de toxina diftérica diluida en toxoide diftérico con 100 Lf/mL. La referencia de</del>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Debe decir | Justificación* |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| <p><del>toxina diftérica contiene 100 DL<sub>50</sub>/mL o de 67 a 133 Lr/100/Lf y 25 000 a 50 000 Dosis Mínimas Reactantes por Lf determinada en la piel de cobayos. Preparar diluciones al doble de la toxina diftérica, distribuir las en los pozos de una microplaca que contienen 50 µL/pozo de medio de cultivo, e incluir la muestra concentrada. Correr en paralelo diluciones de la toxina neutralizada con una solución de Antitoxina Diftérica conteniendo 100 UI/mL. Adicionar la suspensión celular a cada pozo, sellar la placa e incubar a 37 °C durante 5 a 6 días. Incluir controles positivos, negativos y de células. El efecto citotóxico se presenta donde existe la inhibición metabólica de las células, lo cual es visible: a) el color rojo del indicador del medio de cultivo permanece, b) observación microscópica del efecto citopático y, c) tinción de las células muertas con cristal violeta.</del></p> |            |                |
| <p><b>TOXICIDAD ESPECÍFICA (AUSENCIA DE TOXINA) E IRREVERSIBILIDAD DEL TOXOIDE</b></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                |
| <p><del>Con el mismo diluyente utilizado para formular la vacuna final, pero sin adyuvante, preparar una solución a 100 Lf/mL de toxoide purificado a granel. Dividir la solución en 2 partes iguales. Mantener una parte entre 2 y 8°C y la otra entre 34 y 37°C durante 6 semanas. Realizar una prueba en células Vero para detectar la toxina diftérica activa en ambas muestras. La muestra no debe contener preservativos antimicrobianos, y los agentes detoxificantes deben estar por debajo de la concentración tóxica para las células.</del></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |                |



*“2025, Año de la Mujer Indígena”*

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Debe decir | Justificación* |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| La monografía del ensayo incluye criterios de validez basados en la mínima concentración de toxina a la cual debe observarse efecto citopático. Cabe destacar que diferentes preparaciones de toxina pueden mostrar distintos niveles de sensibilidad, por lo que se deben establecer internamente criterios de validez adecuados cuando sea necesario. La toxina diftérica seleccionada para el ensayo debe ser titulada por cada laboratorio en una prueba preliminar con células Vero para determinar la sensibilidad del ensayo en términos de la dosis mínima citopática (DMC) de la toxina. El valor de densidad óptica (DO) del 50 %, empleando el colorante metabólico MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), en los 4 pozos que contienen células Vero y el toxoide de control puede utilizarse para cuantificar cualquier efecto citopático observado tras la incubación con muestras de toxoide purificado a granel. Posteriormente, la toxina de referencia debe incluirse en cada placa del ensayo con células Vero para confirmar la sensibilidad. |            |                |
| Preparar diluciones seriadas por duplicado de la toxina diftérica diluida y utilizar muestras de prueba sin diluir (50 µL por pozo). Distribuirlos en los pozos de una microplaca estéril que contenga un medio adecuado para células Vero. Para comprobar que cualquier efecto citotóxico observado es específico de la toxina diftérica, preparar diluciones en paralelo donde la toxina se neutralice con una concentración adecuada de                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Debe decir | Justificación* |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| antitoxina diftérica, por ejemplo, 100 UI/mL. Incluir pozos de control sin toxoide o toxina y con toxoide no tóxico diluido a 100 Lf/mL en PBS en cada placa para verificar el crecimiento celular normal. Añadir la suspensión celular a cada pozo, sellar las placas e incubar a 37 °C durante 5 a 6 días. Se considera que hay efecto citotóxico cuando hay inhibición metabólica completa de las células Vero, mostrada por el indicador de pH del medio. Confirmar el efecto citopático mediante examen microscópico u otro procedimiento adecuado, tal como el uso del colorante metabólico MTT. |            |                |
| <b>Criterio de <del>aceptación</del> validez.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |            |                |
| La prueba es válida si:<br>1. La dilución de la toxina diftérica en 100 Lf/mL de toxoide diftérico que contiene la DMC, presenta efecto citopático y es neutralizada por la antitoxina diftérica.<br>2. <del>El toxoide diftérico cumple sí, no existe toxicidad neutralizable por antitoxina diftérica en ninguna muestra.</del> Los otros pozos control deben mostrar el comportamiento esperado.                                                                                                                                                                                                    |            |                |
| <b>Criterio de aceptación</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                |
| El toxoide diftérico cumple sí no existe toxicidad neutralizable por antitoxina diftérica en ninguna muestra.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                |
| <b>ALMACENAMIENTO DEL GRANEL PURIFICADO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |            |                |
| El tiempo de almacenamiento del granel purificado estará soportado por los estudios de estabilidad. El toxoide diftérico obtenido hasta esta etapa del proceso de fabricación, <del>corresponde al granel</del>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |                |



“2025, Año de la Mujer Indígena”

| Dice                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Debe decir | Justificación* |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|
| purificado, y servirá como base para la preparación del granel final de <del>la</del> vacunas que <del>lo</del> <b>contengan de manera será</b> adsorbida <del>a en</del> un acarreador mineral tal como hidróxido <del>de aluminio</del> o fosfato de aluminio, <del>o como parte de un polisacárido conjugado</del> , y se le <del>puede</del> <b>adicionará</b> un preservativo que no sea del tipo fenólico ya que afecta la actividad antigénica.<br>El granel final será formulado según el tipo de vacuna combinada a fabricar. |            |                |

\*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.