

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

**COMENTARIOS**

Con fundamento en el numeral 4.11.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2010, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de febrero y hasta el 31 de marzo de 2020, 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. Fax: 5207 6890

Correo electrónico: [consultas@farmacoepa.org.mx](mailto:consultas@farmacoepa.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>ANTIPOLIOMIELÍTICA ORAL, VACUNA</b>		
La vacuna es una preparación que contiene cepas atenuadas tipo Sabin de poliovirus tipos 1, 2 y/o 3 propagadas en cultivos primarios de células de riñón de mono, células diploides humanas o líneas celulares continuas. Actualmente se podrán utilizar vacunas <del>trivalentes</del> , bivalentes o monovalentes.		
<b>FABRICACIÓN</b>		
La producción de la vacuna se basa en un sistema de lote semilla. Cuando se usan líneas celulares continuas o células diploides, éstas se manejan de acuerdo a un sistema de banco celular y cuando se usan cultivos primarios de riñón de mono, los cultivos celulares cumplen con los requisitos indicados en esta monografía. Al menos que se justifique y autorice lo contrario el virus en la vacuna final no tendrá más de dos ciclos de replicación a partir de la semilla maestra. A partir de las semillas maestras que proporciona la OMS, se pueden preparar semillas maestras secundarias por un solo pase y posteriormente la semilla de trabajo.		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<b>SUSTRATO PARA LA PROPAGACIÓN DEL VIRUS</b>		
El virus se propaga en: células diploides humanas, líneas celulares continuas o cultivos primarios de riñón de mono (incluyendo subcultivos a partir de los cultivos primarios de células renales de mono).		
<p><b>Cultivos de células diploides o líneas celulares continuas utilizadas como sustrato de propagación de virus.</b> Los bancos celulares cumplirán con los requisitos establecidos en esta farmacopea.</p> <p>Si se usa suero de origen animal para propagar las células, se demostrará que está libre de contaminación por bacterias, hongos, micoplasmas, virus infecciosos, fagos y endotoxinas.</p> <p>El suero cumplirá con los requisitos relacionados con disminución de riesgo de transmisión de encefalopatías espongiiformes. No se utilizará penicilina ni otros betalactámicos en ninguna etapa de producción.</p> <p>La tripsina para preparar cultivos celulares deberá estar libre de bacterias, hongos, micoplasmas y virus, especialmente virus bovinos o parvovirus porcinos.</p>		
<b>LOTE SEMILLA DE VIRUS</b>		
Las semillas virales más comúnmente utilizadas para la producción de vacuna antipoliomielítica oral derivan de las cepas originales de Sabin. Las semillas maestras han sido denominadas SO+1, un pase adicional a partir de estas permite obtener las semillas de trabajo (SO+2) y la producción de vacuna implicaría un pase más (SO+3). Para el caso del poliovirus tipo 3 pueden utilizarse semillas de virus recuperados a partir de RNA infeccioso a nivel de pase SO+5, que han sido denominadas RSO1 para diferenciarse del SO tipo 3. Las cepas de poliovirus que se usan en la producción serán identificadas mediante registros históricos que incluyan el origen y las manipulaciones subsecuentes. Los lotes de semilla de trabajo se preparan en		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
cantidades grandes mediante un sólo pase de la semilla maestra. Los lotes de virus semilla se almacenan a temperaturas inferiores o iguales a 60 °C bajo cero. Las semillas virales cumplirán con los siguientes requisitos:		
<b>IDENTIDAD.</b> Cada lote de semilla viral de trabajo será identificado como el serotipo específico de poliovirus usando anticuerpos <del>tipo</del> específicos <b>o por algún método molecular validado.</b>		
<b>CONCENTRACIÓN DE VIRUS TITULACIÓN VIRAL.</b> MPB 1100. Determinar el título viral en cada lote semilla para calcular la cantidad de virus que se utilizará en la prueba de neurovirulencia.		
<b>PRUEBA DE NEUROVIRULENCIA.</b> MPB 1080. Cada lote semilla maestra o de trabajo, cumplirá con la prueba de neurovirulencia que se aplica a la vacuna antipoliomielítica oral. La prueba puede realizarse <b>alternativamente</b> en ratón transgénico (TgmNVT) <b>en semillas de trabajo</b> cuando la prueba ha sido autorizada para la liberación de lotes de vacuna, cuando se trata de la misma semilla viral maestra y cuando no existen cambios en el proceso de producción de la semilla viral de trabajo. <b>El procedimiento de neurovirulencia en ratón transgénico a seguir es el descrito por la OMS en un procedimiento estándar.</b>		
<b>AGENTES ADVENTICIOS.</b> MPB 1300. Cumple los requisitos. Las semillas virales de trabajo estarán libres de secuencias de ADN de virus SV40 utilizando técnicas <b>validadas</b> de amplificación de ácido nucleico.		
<b>MARCADORES GENÉTICOS.</b> Cada lote de semilla viral de trabajo se evaluará para demostrar la consistencia de sus características, ya sea a través de pruebas como rct40 que se describe en el granel monovalente o <b>alternativamente</b> las <i>pruebas de análisis de mutantes mediante el uso de enzimas de restricción y PCR (MAPREC).</i> <b>En conformidad con la Autoridad Regulatoria Nacional,</b> por lo menos tres graneles consecutivos preparados de la semilla viral cumplirán		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><del>con estos requisitos:</del> con los criterios de aceptación de la prueba.</p>		
<p><b>PROPAGACIÓN Y COSECHA DEL VIRUS VACUNAL</b> Los cultivos celulares de producción se preparan en condiciones asépticas en áreas en donde no se manejen otras células. Para el crecimiento de las células se puede utilizar un suero animal (no humano) sin embargo el medio de mantenimiento usado para la multiplicación del virus no contendrá suero. El medio de cultivo puede contener un indicador de pH como el rojo de fenol y durante el crecimiento de las células se pueden utilizar antibióticos aprobados. Durante la producción del virus vacunal, el sustrato estará libre de antibióticos.</p>		
<p><b>CULTIVOS CONTROL DE CÉLULAS.</b> Cuando se utilizan células diploides o líneas celulares, el día de la inoculación de los cultivos de producción de la vacuna con el virus semilla se separa el 5 % o 500 mL o 100 millones de células del total de los cultivos de producción y se mantienen sin infectar, como cultivos control de células. A estos cultivos control se les realizarán las siguientes pruebas:</p>		
<p><b>EFECTO CITOPÁTICO.</b> Los cultivos sin inocular permanecerán bajo las mismas condiciones de incubación que los cultivos utilizados en producción por lo menos durante 2 semanas y serán examinados durante este periodo de tiempo para buscar la presencia de efecto citopático. Para que la prueba sea válida no más de 20 % de los cultivos control pueden ser descartados por razones no específicas. Al final del periodo de observación, los cultivos celulares control no mostrarán degeneración asociada a agentes adventicios. <b>VIRUS HEMADSORBENTES. MPB 1300.</b> Al final del periodo de observación, el 25 % de las células</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
control se probarán para buscar la presencia de virus hemadsorbentes utilizando eritrocitos de cobayo.		
<b>IDENTIDAD.</b> Las células se identifican por métodos <b>validados</b> como análisis de isoenzimas, marcadores inmunológicos, genéticos o citogenéticos.		
<b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Un volumen de 20 mL de las mezclas de los líquidos sobrenadantes de los diferentes envases de los cultivos celulares se probarán para demostrar la ausencia de contaminación por bacterias, hongos y micoplasmas.		
<b>AGENTES ADVENTICIOS. MPB 1300.</b> El día de inoculación con el virus, cada envase de cultivo será examinado para asegurarse que no existe degeneración asociada a agentes infecciosos. En caso contrario, los cultivos no se utilizarán para producción. Al final del periodo de observación se prueba una muestra de la mezcla del medio agotado de los cultivos control en cultivos celulares para investigar <b>la presencia de</b> agentes adventicios.		
<b>COSECHAS INDIVIDUALES</b> Después de la inoculación de los cultivos celulares con la semilla viral de trabajo, todos los cultivos son incubados en las condiciones de temperatura establecida y no variará más de 0.5 °C. Cada fabricante define las condiciones de producción: pH, multiplicidad de infección, densidad celular y tiempo de incubación. La suspensión viral se cosecha no después de 4 días posteriores a la inoculación. Las muestras para pruebas se tomarán <b>inmediatamente</b> durante la cosecha.		
<b>IDENTIDAD.</b> Cada cosecha será identificada utilizando anticuerpos específicos por métodos inmunológicos, <b>o por métodos</b> moleculares <b>validados, como por ejemplo</b> secuenciación masiva.		
<b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Un volumen de por lo menos 10 mL de cada cosecha individual se utilizará		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
para demostrar la ausencia de bacterias, hongos y micoplasmas.		
<p><b>AGENTES ADVENTICIOS EN COSECHAS INDIVIDUALES NEUTRALIZADAS. MPB 1300.</b> Se utilizarán por lo menos 50 mL o el equivalente a 500 dosis de la vacuna final, lo que sea mayor. Un volumen de por lo menos 10 mL será utilizado para las pruebas de neutralización en cada prueba. La suspensión neutralizada será inoculada en botellas con cultivos celulares, de tal forma que la dilución resultante en el medio de dilución no exceda de 1:4. Incluir botellas de cultivo control <del>utilizando</del> usando únicamente el suero utilizado en la neutralización en el medio de cultivo. No más de 20 % de los cultivos celulares pueden desecharse por razones no específicas.</p>		
<p><b>TITULACIÓN <del>DEL CONTENIDO</del> VIRAL. MPB 1100.</b> Cumple los requisitos del fabricante.</p>		
<p><b>MICOBACTERIAS. MPB 0720.</b> Demostrar la ausencia de micobacterias por cultivo microbiológico o <del>alternativamente</del> por un ensayo molecular validado.</p>		
<p><b>CONSISTENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS VIRALES.</b> Se deberá demostrar la consistencia de las características virales, por las pruebas rct40 o <del>por la prueba de</del> MAPREC.</p>		
<p><b>GRANEL MONOVALENTE</b> Se prepara mezclando las cosechas individuales aprobadas del mismo tipo de poliovirus. El granel monovalente que provenga de líneas celulares continuas puede ser purificado. Cada granel se pasa a través de un filtro clarificador. Sólo el granel monovalente que cumpla con los siguientes requisitos, podrá ser utilizado para preparar el granel final de la vacuna.</p>		
<p><b>IDENTIDAD.</b> Cada granel monovalente estará identificado como un tipo de poliovirus, usando</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
anticuerpos específicos o por algún método molecular <del>aprobado</del> -validado.		
<b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Cumple los requisitos.		
<b>MICOBACTERIAS. MPB 0720.</b> Determinar la ausencia de micobacterias por cultivo microbiológico o <del>alternativamente</del> por un ensayo molecular validado.		
<del>CONCENTRACIÓN DE VIRUS. TITULACIÓN VIRAL MPB 1100. Usar el método descrito para titular la vacuna.</del> Este <del>concentración</del> título se toma como base para formular la vacuna final a granel, calcular la cantidad de virus que se va a usar en la prueba de neurovirulencia, y para establecer y vigilar la consistencia de la producción.		
<b>MARCADORES GENÉTICOS</b> Puede aplicarse cualquiera de los dos métodos siguientes: <b>rct40.</b> Determinar la capacidad de multiplicación del poliovirus del granel monovalente entre 36 y 40 °C en comparación con el lote semilla de virus o con una preparación de referencia apropiada del mismo tipo de poliovirus rct40 positiva y rct40 negativa. La variación en las temperaturas de incubación no será mayor a ± 0.1 °C. El granel monovalente pasa la prueba si el título que se determina en ambas preparaciones, la muestra en prueba y la referencia a 36 °C, es por lo menos 5.0 logaritmos mayor que <del>en</del> el que se determine a 40 °C. Si el título a 40 °C es tan bajo que no se pueda establecer una comparación válida, se puede usar una temperatura entre 39 y 39.5 °C, a dicha temperatura la reducción en el título de la preparación de referencia será del orden de 3.0 a 5.0 logaritmos de su valor a 36 °C. La reducción mínima aceptable se determina para cada cepa de virus a una temperatura determinada. Si los títulos obtenidos para una o más preparaciones de		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
referencia no corresponden a los esperados, la prueba deberá repetirse.		
<p><b>MAPREC.</b> Puede utilizarse para establecer la consistencia de la producción una vez que se ha validado y se han establecido los valores normales para el estándar, así como los criterios de aceptación y rechazo. Los resultados se expresarán en relación al estándar internacional.</p> <p>Para el tipo 3 (472-C), el lote no tendrá más de 1 % de mutantes. Para los tipos 2 y 3 los límites tendrán que ser establecidos por el fabricante y autorizados por la Autoridad Regulatoria Nacional.</p> <p>Si un granel falla la prueba de MAPREC no podrá ser <b>utilizado</b> para producción y será necesario revisar el proceso de producción. <b>La metodología a seguir es la descrita por la OMS en un procedimiento estándar.</b></p>		
<p><b>NEUROVIRULENCIA. MPB 1080.</b> Cada granel monovalente cumple con la prueba de neurovirulencia para vacuna antipoliomielítica oral.</p> <p>Si la producción de vacuna ha demostrado consistencia de calidad en la prueba de neurovirulencia en mono, podrá utilizarse como alternativa la prueba en ratón transgénico.</p>		
<p><b>GRANEL FINAL</b></p> <p>El granel final se prepara mezclando los graneles monovalentes aprobados, uno de cada tipo de poliovirus en proporciones calculadas para obtener la formulación establecida. Se pueden preparar vacunas monovalentes, bivalentes o trivalentes, con base en los poliovirus que se encuentran circulando en la población <b>y conforme los lineamientos de la OMS.</b> Se pueden adicionar estabilizadores.</p>		
<p><b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Cumple los requisitos.</p>		
<p><b>PRODUCTO TERMINADO</b></p>		
<p><b>DESCRIPCIÓN.</b> La vacuna antipoliomielítica <del>trivalente</del> oral es una preparación transparente, libre de</p>		



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*												
partículas y puede estar colorida debido a la presencia de un indicador de pH.														
<b>IDENTIDAD.</b> Se demostrará que la vacuna contiene el o los tipos de poliovirus con los que fue formulada, por neutralización de los virus en cultivos de células sensibles, usando anticuerpos específicos, o por métodos moleculares <del>validados</del> <b>aprobados</b> .														
<b>ESTERILIDAD.</b> MGA 0381. Cumple los requisitos.														
<b>POTENCIA.</b> MPB 1100. Cumple los requisitos. Para vacunas <del>trivalentes</del> <b>bivalente</b> la media del título de virus estimada por dosis individual humana no será menor de:														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo de virus</th> <th>Título de virus DICC<sub>50</sub></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td><math>1 \times 10^6</math></td> <td>1 000 000</td> </tr> <tr> <td><del>2</del></td> <td><del><math>1 \times 10^5</math></del></td> <td><del>100 000</del></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td><math>1 \times 10^{5.78}</math></td> <td>600 000</td> </tr> </tbody> </table>	Tipo de virus	Título de virus DICC <sub>50</sub>		1	$1 \times 10^6$	1 000 000	<del>2</del>	<del><math>1 \times 10^5</math></del>	<del>100 000</del>	3	$1 \times 10^{5.78}$	600 000		
Tipo de virus	Título de virus DICC <sub>50</sub>													
1	$1 \times 10^6$	1 000 000												
<del>2</del>	<del><math>1 \times 10^5</math></del>	<del>100 000</del>												
3	$1 \times 10^{5.78}$	600 000												
<b>ESTABILIDAD TÉRMICA.</b> Incubar muestras de la vacuna a 37 °C durante 48 h. Determinar la concentración de virus total de la muestra mantenida a 37 °C en paralelo con vacuna mantenida a 4 °C. La diferencia en la concentración de virus total entre ambas muestras no es mayor a <del>0.5</del> <b>0.6</b> log <sub>10</sub> DICC <sub>50</sub> por dosis individual humana <del>para vacunas bivalentes.</del> <b>Este requisito aplica a vacunas trivalentes.</b> Para el caso de vacunas monovalentes <del>e bivalentes</del> , la Autoridad Regulatoria Nacional lo aprobará con base en los estudios presentados por el fabricante.														
<b>pH.</b> Se determinará en una mezcla de vacuna de diferentes envases finales y cumplirá con el valor en el que se demuestre la estabilidad viral.														
<b>VARIACIÓN DE VOLUMEN.</b> MGA 0981. No menor de lo indicado en la etiqueta.														

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>A menos que se justifique y autorice de otra manera el volumen en mililitros y el número de gotas se determinará en al menos cinco envases.</p> <p><b>CONSERVACIÓN.</b> Mantener a una temperatura de 20 °C bajo cero o menos hasta la fecha de caducidad. Si se descongela dentro del periodo de caducidad del producto, se deberá mantener entre 2 y 8 °C por el tiempo indicado por el fabricante. No volver a congelar.</p>		
<p><b>VACUNA PREPARADA EN CULTIVOS PRIMARIOS DE RIÑÓN DE MONO</b></p>		
<p><b>Monos utilizados en la preparación de los cultivos</b> Cuando se utilizan cultivos primarios de riñón de mono, los monos que se usan para la preparación de los cultivos serán de una especie aprobada por la Autoridad Regulatoria Nacional, con buen estado de salud y no haber sido utilizados previamente para propósitos experimentales. Cuando los animales se reciben en el bioterio se someterán a un periodo de cuarentena de por lo menos 6 semanas en territorio nacional, <b>y de conformidad con los lineamientos establecidos por la Autoridad local competente</b>, en jaulas individuales, dentro de instalaciones limpias, ventiladas y con temperatura controlada. Los primates utilizados no tendrán anticuerpos contra los virus SV40, SIV, herpes virus 1 (virus B) y virus vacuolizantes. Los primates para nefrectomía serán anestesiados y examinados exhaustivamente para detectar infecciones por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y herpes virus 1 (virus B). Si se usan riñones de fetos las madres permanecerán en cuarentena hasta el final de la gestación. Los riñones que provienen de animales que no muestren signos patológicos se usarán para preparar los cultivos celulares. Sólo si los primates se mantienen en una colonia para la producción se podrán utilizar para hacer subcultivos a partir de los cultivos primarios para propagar el virus vacunal.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Cada grupo de cultivos, provenientes de un mono o de no más de 10 fetos cercanos al término se manejarán y probarán como grupos individuales.</p>		
<p><b>CULTIVOS PRIMARIOS DE CÉLULAS RENALES DE MONO</b> Los siguientes requisitos especiales se aplican cuando la propagación y cosecha del virus vacunal se realiza en cultivos primarios de células renales de mono.</p>		
<p><b>CULTIVOS CELULARES.</b> Examinar todos los cultivos para verificar que no haya degeneración causada por algún adventicio, si los hay deberá desecharse todo el grupo de cultivos. El día de la inoculación con la semilla viral de trabajo se hace una mezcla del medio nutritivo agotado de los cultivos de cada mono y se toman muestras para investigación de agentes adventicios. Una muestra de al menos 30 mL de medio agotado se divide en dos partes iguales, una parte se inocula en cultivos de células renales de otro mono de la misma especie y la otra parte si es necesario se inocula en cultivos de células renales de mono de una especie distinta a la de producción, pero que sea sensible a SV40. La dilución del medio de cultivo agotado al inocularse en los cultivos de prueba no será mayor de 1:4 y el área de la monocapa celular será de al menos 3 cm<sup>2</sup>/mL de éste. Al menos una botella de cada tipo de cultivo se deja sin inocular y se usa como control de células. Si la especie de mono que se usa para producción es sensible a SV40, no es necesario probar en otra especie. Los cultivos se incuban entre 35 y 37 °C y se observan durante al menos 4 semanas. A las 2 semanas se hace al menos un subcultivo del fluido agotado de estos cultivos en el mismo sistema celular y se observan durante 2 semanas. Se pueden utilizar técnicas inmunoquímicas para detectar</p>		

*"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"*

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>SV40 y otros virus en los cultivos de células. Una muestra de al menos 10 mL del medio agotado se prueba en cultivos de células renales de conejo para investigar herpes virus 1 (virus B). La dilución del medio agotado inoculado no es mayor de 1:4 y se probará en un área de cultivo celular no menor a 3 cm<sup>2</sup>/mL de medio agotado. Dejar al menos un cultivo celular como control. Los cultivos se incuban entre 35 y 37 °C y se observan por lo menos durante 2 semanas. Otra muestra de 10 mL de medio agotado de los cultivos de producción se prueba en cultivos de células humanas sensibles al virus del sarampión como posible contaminante adventicio. Se incuban entre 35 y 37 °C y se observan por lo menos 2 semanas. Las pruebas no son válidas si al final del periodo de observación se desechan más del 20 % de los cultivos por razones accidentales no específicas. Si en las pruebas se encuentra evidencia de la presencia de algún agente adventicio, se desechará la cosecha individual del grupo completo de cultivos celulares. Si se demuestra la presencia de virus B, se suspenderá la producción de la vacuna antipoliomielítica oral y se informará a la Autoridad Regulatoria Nacional. Sólo se podrá reanudar la producción cuando se hayan completado las investigaciones y se hayan tomado las medidas precautorias para evitar que la infección reaparezca y si se tiene la aprobación de la Autoridad Regulatoria Nacional. Si las pruebas no se realizan inmediatamente, las muestras de medio de cultivo agotado se almacenarán a 60 °C bajo cero por lo menos, a excepción de la muestra para virus B, la cual puede ser mantenida a 4 °C siempre y cuando la prueba sea realizada como máximo</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>en un periodo no mayor de 7 días después de haberla tomado.</p>		
<p><b>CULTIVOS CONTROL DE CÉLULAS RENALES DE MONO.</b> El día de la inoculación de los cultivos de producción con la semilla viral de trabajo, se separan como cultivos control sin inocular, lo que represente el 25 % (pero no más de 2.5 L) de la suspensión celular obtenida de cada par de riñones de mono o no más de 10 fetos cercanos al término del desarrollo. Estos cultivos control se incuban durante 2 semanas en las mismas condiciones que los cultivos de producción en busca de evidencia de efecto citopático. La prueba no es válida si más del 20 % de los cultivos control se desechan por razones accidentales no específicas. Al final del periodo de incubación se examinan los cultivos control para detectar degeneración causada por algún agente infeccioso. Si este examen o cualquiera de las pruebas en esta sección muestra evidencia en un cultivo celular control de algún agente adventicio se desecha todo el poliovirus vacunal producido en el lote de cultivos <del>de producción</del> correspondiente.</p>		
<p><b>PRUEBA PARA VIRUS HEMADSORBENTES.</b> <i>MPB 1300.</i> Cumple los requisitos. El día de la cosecha del virus o dentro de los 4 días posteriores a la inoculación de los cultivos de producción con la semilla viral de trabajo, una muestra del 4 % de los cultivos control se somete a prueba de hemadsorción.</p>		
<p><b>PRUEBAS PARA AGENTES ADVENTICIOS.</b> <i>MPB 1300.</i> El día de la cosecha o dentro de los 7 días posteriores a la inoculación de los cultivos celulares de producción con el lote semilla viral de trabajo, se toma una muestra de al menos 20 mL del medio de cultivo agotado de los cultivos control de células y se prueban en dos tipos de cultivos celulares de riñón de mono. Al final del periodo de observación de los cultivos control, se toma</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>una muestra similar de la mezcla de medio de cultivo agotado y se prueba en dos tipos de células renales de mono y también en células renales de conejo. Los fluidos colectados al momento de la cosecha y al final del periodo de observación pueden mezclarse antes de probarse para la búsqueda de agentes adventicios. Se prueba una muestra del 2 % de la mezcla de medio agotado en cada uno de los tipos de cultivos celulares especificados.</p> <p>Adicionalmente a las pruebas señaladas en la producción de la vacuna en cultivos de células diploides o líneas celulares continuas, la vacuna producida en cultivos de células de riñón de mono se someterá a las siguientes pruebas:</p>		
<p><b>COSECHAS INDIVIDUALES</b></p>		
<p><b>Pruebas para las cosechas individuales neutralizadas en cultivos primarios de células renales de mono.</b></p> <p>Neutralizar una muestra de 10 mL de cada cosecha individual con antisero tipo específico.</p> <p>El antisero tipo específico se produce en un animal diferente al mono; y el virus que se usa para inmunizar se propagará en células que no sean de simio.</p>		
<p>Al menos 5 mL de cada cosecha individual neutralizada se prueba en cultivos de células renales de mono de la misma especie, pero no del mismo animal que se usó en la producción de la cosecha individual. La otra mitad de la suspensión neutralizada (mínimo 5 mL) se prueba si es necesario en cultivos de células renales de mono de otra especie sensible a SV40, esto no es necesario si la especie de mono usada en la producción es sensible a SV40.</p> <p>La dilución de la cosecha neutralizada al inocular en los cultivos no será mayor de 1:4 y el área de la monocapa celular será de al menos 3 cm<sup>2</sup>/mL de cosecha neutralizada. Se dejará al menos un cultivo de cada tipo de células sin inocular, como control de células y se</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>mantendrá con la misma concentración de antisuero específico. Los cultivos se incuban entre 35 y 37 °C y se observan por lo menos durante 4 semanas. A las 2 semanas se hace un subcultivo del medio de cultivo agotado de cada cultivo celular en el mismo sistema celular. Observar los subcultivos al menos durante 2 semanas. El suero que se utilice como suplemento en el medio nutritivo para cultivar las células estará libre de SV40. Inocular otra muestra de 10 mL de cada cosecha individual neutralizada en cultivos celulares de origen humano susceptibles al virus del sarampión. Se pueden utilizar técnicas inmunohistoquímicas para detectar SV40 y otros virus en los cultivos celulares. Las pruebas no son válidas si al final del periodo de observación se desecha más del 20 % de los cultivos por causas accidentales no específicas. Si se presenta algún efecto citopático, se investigará la causa. Si es debido a virus de polio no neutralizado, se deberá repetir la prueba. Si hay evidencia de SV40 u otro agente adventicio atribuible a la cosecha individual ésta deberá ser rechazada.</p>		
<p><b>GRANEL MONOVALENTE</b></p>		
<p><b>1. Suspensión a granel antes de filtrar</b> <b>PRUEBA EN CONEJOS.</b> Se probará una muestra del granel monovalente para demostrar la ausencia de herpes virus 1 (virus B) y otros virus, mediante la inoculación de no menos de 100 mL, en por lo menos 10 conejos sanos de 1.5 a 2.5 kg de peso. Cada conejo será inoculado con al menos 10 mL, pero no más de 20 mL de los cuales 1.0 mL se administra por vía intradérmica en varios sitios y el resto por vía subcutánea. Los conejos se observan durante al menos 3 semanas para detectar signos de enfermedad o muerte. A todos los conejos que mueren después de las 24 h de iniciada la prueba y aquellos que muestren signos de</p>		

*"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"*

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>enfermedad se les hará necropsia para remover el cerebro y otros órganos, para un análisis minucioso que permita establecer la causa de la muerte o enfermedad. La prueba no es válida si más del 20 % de los animales inoculados muestran signos de una infección intercurrente durante el periodo de observación. El granel monovalente pasa la prueba si ninguno de los conejos muestra evidencia de infección con virus B, con otro agente adventicio o lesiones de cualquier tipo atribuibles a la muestra inoculada. Si se demuestra la presencia de virus B, se tomarán las medidas concernientes a la producción de la vacuna descritas anteriormente en la sección de cultivos de células.</p>		
<p><b>PRUEBA EN COBAYOS.</b> Si los cultivos primarios de células renales de mono no provienen de una colonia cerrada, el granel monovalente cumplirá con la siguiente prueba: Administrar a cada uno de por lo menos cinco cobayos de 350 a 450 g de peso, 0.1 mL por vía intracerebral (0.05 mL en cada hemisferio cerebral) y 0.5 mL por vía intraperitoneal del granel monovalente. Medir la temperatura rectal de cada cobayo los días hábiles durante 6 semanas. Al final del periodo de observación, realizar la necropsia a cada animal. Adicionalmente administrar a no menos de cinco cobayos 0.5 mL por vía intraperitoneal, del granel monovalente y observarlos como se describió anteriormente durante 2 a 3 semanas. Al final del periodo de observación realizar un pase de sangre y de una suspensión de hígado o bazo de los cobayos de prueba, a por lo menos cinco cobayos, por vía intraperitoneal. Medir la temperatura rectal del último grupo de cobayos durante 2 a 3 semanas. Realizar necropsia a todos los animales que mueran después de 24 h de haberlos inoculado o los que sean sacrificados por mostrar signos de enfermedad o por</p>		



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>tener durante 3 días consecutivos una temperatura corporal superior a 40.1 °C. Llevar a cabo el examen histopatológico para detectar si hay infección por filovirus. Si se presenta cualquier signo de infección por filovirus, se hará una prueba de confirmación serológica en el suero de los animales afectados. El granel monovalente pasa la prueba si al final del periodo de observación, sobrevive por lo menos el 80 % de los animales inoculados y mantienen un buen estado de salud.</p>		
<p><b>2. Suspensión a granel después de filtrar</b></p>		
<p><b>RETROVIRUS.</b> Se demostrará la ausencia de retrovirus en el granel monovalente mediante un ensayo de transcriptasa reversa.</p>		
<p><b>ESTERILIDAD. MGA 0381.</b> Cumple los requisitos.</p>		
<p><b>PRODUCTO TERMINADO</b> Para granel final y producto terminado aplican los mismos requisitos descritos en la vacuna producida en cultivo de células diploides o líneas celulares descritas anteriormente.</p>		

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