

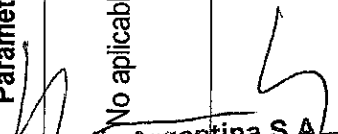
**Tabla 33 Resultados de Validación para Biocarga (Valoración de Novartis)**

Parámetro Probado	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Inhibición de microorganismos bacterianos y fúngicos de prueba	Los recuentos viables se determinan en presencia de seis organismos microbianos de referencia: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> y <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> . Una cantidad conocida de cada microorganismo se enriquece en muestra de ensayo de tres lotes de granel concentrado, luego se lamina por duplicado sobre un medio adecuado por el uso del método de filtración de membrana. Luego, las placas se incuban durante un período de tiempo predefinido, y se recuentan las colonias.	La tasa de recuperación de microorganismos utilizada para la validación debe ser de al menos 70% en comparación con el Control Positivo.	La recuperación porcentual osciló de 75-142% para los tres lotes de Granel Concentrado.

**Tabla 34 Validación de Conductividad**

Parámetro Probado	Validación de Conductividad
No aplicable	La prueba de conductividad se lleva a cabo como para Ph. Eur. Capítulo 2.2.38 Conductividad y USP <645> Conductividad en Agua. Dado que el método de prueba es del Compendio y la conductividad es un atributo inherente, no se requiere ni se lleva a cabo validación específica del producto, como para Sandoz SOP interno, <i>Validación de Métodos Analíticos para Biofarmacéuticos</i> .


**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jancic  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 35 Resultados para la Verificación del Método para Endotoxina (Valoración de Sandoz)**

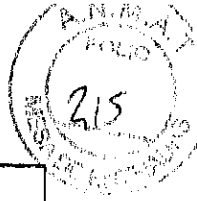
Parámetro Probado	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de Validación	Resultados
Inhibición/Mejora para el Granel Concentrado	La inhibición y mejora se evaluaron en lotes de tres de Granel Concentrado y matrices de muestra de tres lotes de intermediarios de proceso de Cromatografía I y II. Tres diluciones de cada muestra probada por cuadruplicado se enriquecieron con 0,5 EU/ml de endotoxina y se compararon con muestras no enriquecidas contra una curva estándar. Se calculó la recuperación de muestras enriquecidas.	La recuperación porcentual de muestras de Granel Concentrado enriquecidas con 0,5 EU/ml de endotoxina debe caer entre 50-200%.	La recuperación porcentual osciló de 101-130%, 101-103%, y 120-144%, para los Lotes de Granel Concentrado A009129, A009130, y A009131, respectivamente.
Inhibición/Mejora para Pasos Intermedios (Soluciones de Proceso)			La recuperación porcentual osciló de 108-136% y 111-145% para Cromatografía I y II, respectivamente, para los tres lotes probados.

EU: Unidades de endotoxina

**Tabla 36 Resultados de Validación para Endotoxina (Valoración de Novartis)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se probaron por triplicado por dos operadores. Las muestras se enriquecieron con 0,5 IU/ml de endotoxina y se compararon con muestras no enriquecidas contra una curva estándar de diez puntos. Se calculó la recuperación de muestras enriquecidas.	CV % < 20% para cada operador, para cada placa, para cada lote.	<ul style="list-style-type: none"> <li>CV % para Operador 1 = 2,2% y 0,0% para Placas 1 y 2 para el Lote RS15-03-01, 0,6% y 2,8% para Placas 1 y 2 para el Lote RS15-05-01, y 2,9% y 9,7% para Placas 1 y 2 para el Lote TRFASEII</li> <li>CV % para Operador 2 = 7,8% y 0,0% para Placas 1 y 2 para el Lote RS15-03-01, 3,4% y 1,2% para Placas 1 y 2 para el Lote</li> </ul>

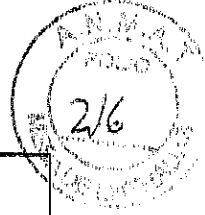
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jerónimo  
 Director Técnico  
 MN 14840

 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imrtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado




			RS15-05-01, y 6,8% y 3,5% para Placas 1 y 2 para el Lote TRFASEIIO
Precisión de Intermedarios	Tres lotes de Granel Concentrado se probaron por triplicado por dos operadores. Las muestras se enriquecieron con 0,5 IU/ml de endotoxina y se compararon con muestras no enriquecidas contra una curva estándar de diez puntos. Se calculó la recuperación de muestras enriquecidas.	CV % <25% para resultados combinados por dos operadores.	El CV% combinado fue 3,7%, 20,7%, y 10,6%, para los Lotes RS15-03-01, RS15-05-01, y TRFASEIIO, respectivamente.
Exactitud	La exactitud se calcula por el uso de los resultados del estudio de Repetibilidad/Precisión de Intermedarios.	La recuperación porcentual debe caer entre 50-200% del valor teórico.	La recuperación porcentual osciló de 76,6% a 102,9% para los tres lotes.
Especificidad	La especificidad se calcula con base en los Resultados del Estudio de Exactitud.	Recuperación aceptable de CSE enriquecida para Exactitud.	La recuperación de CSE enriquecido para exactitud fue aceptable para cada lote, demostrando así especificidad.
Linealidad	La linealidad se determinó por la preparación de tres curvas de calibración de seis puntos (cada curva por duplicado). Luego del desarrollo de las reacciones, se llevaron a cabo regresiones lineales sobre las curvas y se determinó el coeficiente de correlación, $r$ .	Coefficiente de correlación de la curva ( $r$ ) > 0,980	$r > 0,999$ para las tres curvas
Límite de Cuantificación (LOQ)	El LOQ se estableció con base en los datos del estudio de linealidad.	El LOQ se estableció como el punto más bajo de la curva estándar.	LOQ = 0,005 IU/ml

CV% : Coeficiente porcentual de variación; CSE: Endotoxina Estándar de Control.



Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeronimo  
 Director Técnico

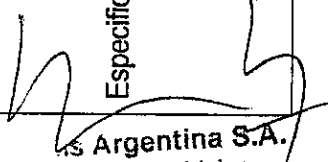
Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado

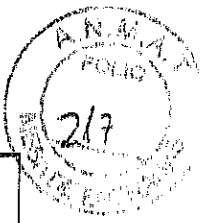


**Tabla 37** Resultados de Validación para las Proteínas Residuales de las Células Huésped

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	Seis repeticiones de tres intermedarios durante el proceso y el granel concentrado de un lote único se probaron por el mismo operador.	CV % $\leq$ 15% para seis repeticiones del Lote 36438808, para carga y eluato de Cromatografía I, Cromatografía II, y Granel Concentrado.	CV % fue 3,1, 12,3, 4,8, y 8,8 para el Lote 36438808 para Cromatografía I (carga y eluato), II, y Granel Concentrado, respectivamente.
Precisión de Intermedarios	Tres lotes de granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes.	CV % < 20% (resultados combinados de ambos operadores), para lotes de Granel Concentrado de proteína recombinante de fusión rHbp.	CV % (combinado) fue 9,0, 12,8, y 11,9% para los Lotes de Granel Concentrado 34638806, 34638807, y 34638808.
Exactitud	Muestras del Estudio de Precisión de Intermedarios se enriquecieron con 20 ng/ml de estándar de referencia de HCP de E. coli y se evaluaron por la recuperación porcentual de muestras enriquecidas.	La recuperación porcentual está entre 75-125% para muestras de Granel Concentrado enriquecidas con 20 ng/ml del estándar de referencia de HCP de E. coli.	La recuperación porcentual fue 101-112%, 99-107, y 101-110% para los Lotes de Granel Concentrado 36438806, 36438807, y 36438808, respectivamente.
Especificidad	Muestras del Estudio de Precisión de Intermedarios se enriquecieron con 20 ng/ml de estándar de referencia de HCP de E. coli y se evaluaron por la recuperación porcentual de muestras enriquecidas.	No se demostró interferencia de los componentes de la matriz por los resultados de la validación de exactitud, con una recuperación de 75-125% de muestras enriquecidas con 20ng/ml del estándar de referencia de HCP de E. coli.	Véanse los resultados para Exactitud

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeroncic  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderada






Linealidad	Curvas estándares y resultados de prueba (operadores diferentes y días diferentes) del Estudio de Precisión de Intermediarios se evaluaron para ajuste y linealidad.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desviación porcentual promedio de OD medida a partir de la OD calculada <math>\leq</math> 20%</li> <li><math>r^2</math> para cada curva estándar debe ser <math>&gt;</math> 0,9900.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desviación porcentual promedio de la calculada osciló de -4,8 a 12,8</li> <li><math>r^2</math> osciló de 0,9996 a 1,000</li> </ul>
Límite de Detección (LOD)	Validación llevada a cabo por el fabricante del kit.	Dos desviaciones estándar bajo la media del estándar de cero.	LOD = 200 pg/ml, con base en la validación del kit.
Límite de Cuantificación (LOQ)	Validación llevada a cabo por el fabricante del kit.	La cantidad más baja de AND que cumple los criterios de aceptación de CV % $<$ 15%, y la recuperación porcentual promedio de la teórica está dentro de 80-120%.	LOQ $<$ 1ng/ml, con base en la validación del kit.
Rango	Con base en los resultados de Precisión de Intermediarios, Exactitud, y Especificidad.	Los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, precisión, y LOQ deben cumplirse sobre el rango de análisis.	El rango abarca de 1 a 100 ng/ml.

OD: Densidad Óptica; CV%: Coeficiente porcentual de variación

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeronic  
 Director Técnico  
 MN 14840

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Coordinador Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 38 Resultados de Validación para Identidad por Western Blot**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	La matriz de muestra para el Granel Concentrado se analiza con y sin 1µg de proteína recombinante de fusión fHbp enriquecida.	La muestra de matriz blanco no debe mostrar ninguna banda que migre comparablemente al Estándar de proteína recombinante de fusión fHbp. Para muestras enriquecidas con proteína recombinante de fusión fHbp, una banda principal debe estar visible y la migración deber comparable al Estándar de proteína recombinante de fusión fHbp. Para hileras cargadas con muestras de proteína recombinante de fusión fHbp, no debe estar visible ninguna banda.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La matriz blanco y las muestras no exhibieron bandas con patrones de migración comparables al estándar de proteína recombinante de fusión fHbp</li> <li>• No había bandas visibles para las muestras de proteína recombinante de fusión fHbp.</li> <li>• Se observó una banda principal para el tampón enriquecido con proteína recombinante de fusión fHbp con migración comparable al estándar.</li> </ul>

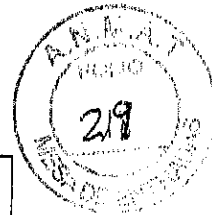
**Tabla 39 Resultados de Calificación para Osmolaridad**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Precisión de Intermediarios	Tres lotes de granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes.	El CV% combinado para tres lotes de proteína recombinante de fusión fHbp, por dos operadores, tres días diferentes, luego de tiempos de espera a temperatura ambiente de 1, 2, y 4 horas antes de la prueba, debe ser < 7%.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV % (combinado): 0,8 para el Lote No. 36438806</li> <li>• CV % (combinado): 0,8 para el Lote No. 36438807</li> <li>• CV % (combinado): 0,9 para el Lote No. 36438808</li> </ul>

Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeronimo  
 Director Técnico  
 MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 14521  
 Apoderado

CV%: Coeficiente porcentual de variación





**Tabla 40 Resultados de Calificación para pH**

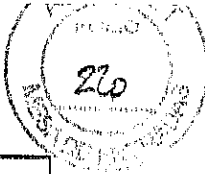
Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Precisión de Intermediarios	Tres lotes de granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes.	El CV% combinado para cada uno de los tres lotes de proteína recombinante de fusión fHbp, por dos operadores, tres días diferentes, luego de tiempos de espera a temperatura ambiente de 1, 2, y 4 horas antes de la prueba, deben ser < 3%.	<ul style="list-style-type: none"> <li>CV % (combinado): 0,6 para el Lote No. 36438806</li> <li>CV % (combinado): 0,0 para el Lote No. 36438807</li> <li>CV % (combinado): 0,0 para el Lote No. 36438808</li> </ul>

CV%: Coeficiente porcentual de variación

**Tabla 41 Resultados de Validación para el Método Micro-BCA de Placas de Microtitulación para la Concentración de Proteínas (Sandoz)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	La influencia de los componentes del tampón se evaluó sobre las muestras de la matriz de Cromatografía I, II, y III, UF/DF y Granel Concentrado.	La concentración calculada de proteínas en los tampones de blanco debe estar por debajo del estándar de calibración más bajo.	Criterios de aceptación cumplidos.
Linealidad	La linealidad se determinó a partir de las curvas de calibración preparadas para el Estudio de Exactitud.	$r^2 \geq 0,99$	$r^2 = 0,998$ para curvas de calibración generadas por los Operadores 1 y 2.
Exactitud	Muestras de matriz de Cromatografía I, II, y III; e intermediarios de proceso de UF/DF 1 se enriquecieron con proteína recombinante de fusión fHbp en un nivel, y Granel Concentrado en tres niveles. Todas las muestras se llevaron a cabo por triplicado.	Recuperación porcentual media 70-130%.	La recuperación promedio osciló de 99,5-116,4%.

 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado




Repetibilidad	Los resultados del Estudio de Exactitud se evaluaron para Repetibilidad.	CV % < 15%	CV % osciló de 1,3% a 4,5%.
Precisión de Intermedarios	Los resultados del Estudio de Exactitud y Repetibilidad se evaluaron para la Precisión de Intermedarios.	CV % ≤ 15% para cada operador; la diferencia porcentual relativa entre ambos operadores ≤ 10%.	El CV% más elevado fue 4,5% y 6,2% para los Operadores 1 y 2, respectivamente; la diferencia porcentual relativa 3,6 a 7,4%.
Rango	El rango se determinó a partir de los resultados de los Estudios de Linealidad, Exactitud, y Precisión.	Establecidos con base en los resultados de linealidad, precisión, y exactitud de la validación. Debe abarcar de 15-40 µg/ml	Rango de 15-40 µg/ml
Resistencia	El elaborador del kit ha evaluado el kit para la variación lote a lote en reactivos y materiales de referencia, así como también en sustancias interferentes. Novartis ha evaluado la interferencia de la matriz.	Incluidos como parte del desarrollo del método.	Método desarrollado.


 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jerončić  
 Director Técnico  
 MN 14840

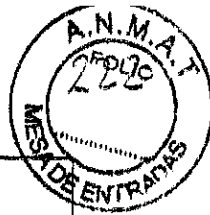

 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 42 Resultados de Validación para el Método Micro-BCA de Tubos de Ensayo para Concentración de Proteínas (Valoración de Novartis)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Una matriz sintética se preparó por triplicado, compuesta por sustancias probablemente interferentes del proceso de elaboración del principio activo, en los peores casos de concentraciones.	Diferencia entre la absorbancia promedio a 562 nm para el blanco y la matriz sintética $\leq 0,0500$ .	La diferencia entre la absorbancia promedio para el blanco y la matriz sintética fue 0,0119.
Linealidad	Seis repeticiones de una curva estándar de BSA de cinco puntos se prepararon y evaluaron para linealidad. Se prepararon seis repeticiones de diluciones seriales de muestra a través de las concentraciones en el rango lineal de valoración.	$r^2 > 0,995$	$r^2 = 0,998$ para el estándar y 0,999 para la muestra.
Exactitud	Muestras de los tres lotes de Granel Concentrado se diluyeron por triplicado a niveles inferiores al punto más bajo sobre la curva estándar, luego se enriquecieron con cantidades variables de BSA. Se calculó la recuperación de muestras enriquecidas.	La recuperación porcentual para las muestras de los tres lotes enriquecidos con BSA 4,8 y 12 $\mu\text{g/ml}$ debería ser 80-120%.	Recuperación porcentual de 94-97%, 92%, y 96-99% para Lotes TRFASEI02, RS15-03-01, y RS15-05-01, respectivamente.
Repetibilidad	Se evaluaron seis repeticiones de un lote único de granel concentrado.	$\text{CV} \% \leq 5 \%$ para análisis de seis repeticiones en una sesión analítica única.	$\text{CV} \% = 1\%$
Precisión de Intermediarios	Parte 1: Tres lotes de granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes. Se evaluó la variabilidad en ciertos parámetros de operación.	El CV% combinado para los lotes proteína recombinante de fusión flbp por operadores múltiples debe ser $<7\%$ .	<ul style="list-style-type: none"> <li>Parte 1: CV % (combinado) = 5%, 5%, y 2%, para los Lotes N° TRFASEI02, RS15-03-01, y RS15-05-01, respectivamente.</li> </ul>





	<p>Parte 2: Muestras de dos lotes se diluyeron a niveles en las partes más bajas y más elevadas de la curva estándar. Se evaluó la variabilidad en ciertos parámetros de operación.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV% (combinado) 4% para ambos Lotes (36438803 y 36438805).</li> </ul>
Rango	<p>El rango se determinó a partir de los resultados de los Estudios de Linealidad, Precisión, y Exactitud.</p>	<p>Establecidos con base en los resultados de linealidad, precisión, y exactitud de la validación.</p>	<p>Rango de 5-20 µg/ml.</p>
Resistencia	<p>Se llevaron a cabo estudios de resistencia con respecto al tiempo de incubación y a la temperatura de la muestra.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Las muestras se incubaron hasta 10 minutos más que los 60 minutos requeridos por el SOP.</li> <li>2) Las muestras se incubaron a 60 ± 5°C.</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La diferencia entre las concentraciones de proteínas de muestra en los tiempos de incubación de 60-65 y 60-70 minutos no fue mayor que la diferencia máxima hallada en la prueba de precisión de intermediarios entre los lotes probados (192,1 µg/ml).</li> <li>• La diferencia máxima entre las concentraciones de proteínas de muestra a las temperaturas de incubación de 55-60-65°C no debería ser mayor que la diferencia máxima para la prueba de precisión de intermediarios para el Lote RS21-03-01 (44,1 µg/ml).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las diferencias máximas entre los resultados a 60-65 y 60-70 minutos fueron de 27,4 y 4,8 µg/ml, respectivamente.</li> <li>• Las diferencias máximas entre 60-65° fueron de 68,5 y 25,2 µg/ml, respectivamente.</li> </ul>

*Handwritten signature/initials*

**NOVARTIS ARGENTINA S.A.**  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





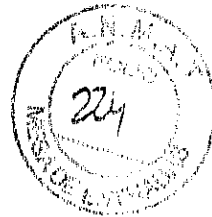
**Tabla 43** Resultados de Validación para la Transferencia del Método Analítico para la Concentración de Proteínas del Método Micro-BCA de Tubos de Ensayo de Novartis a Sandoz

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Reproducibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes dos días diferentes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV % para ambos operadores en cada laboratorio <math>\leq 7</math> %, para cada lote.</li> <li>• CV % combinado para todos los operadores, en ambos laboratorios <math>\leq 10</math> %, para cada lote.</li> <li>• <math>p &gt; 0,01</math> para la prueba t de Student para evaluar las diferencias entre las medias de los laboratorios, para cada lote.</li> <li>• La diferencia porcentual entre las medias de los laboratorios en comparación con la media total es <math>\leq 10\%</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV% combinado para dos operadores en el laboratorio de Novartis: 5,7%, 4,8%, y 4,1%, y para el laboratorio de Sandoz: 0,4%, 0,3% y 0,5, para A009131, A009132, y A009330, respectivamente.</li> <li>• CV% combinado: 5,6%, 5,5%, y 4,5% para los Lotes A009131, A009132, y A009330, respectivamente.</li> <li>• <math>p = 0,03, 0,01, y 0,01</math> para los Lotes A009131, A009132, y A009330, respectivamente<sup>1</sup>.</li> <li>• diferencia porcentual entre las medias de laboratorios 7,6%, 8,2%, y 6,8% para los Lotes A009131, A009132, y A009330, respectivamente.</li> </ul>

<sup>1</sup> Los Lotes A009132 y A009330 no cumplieron el criterio de aceptación de  $p > 0,01$  debido a la baja variabilidad del método. Dado que se cumplieron los criterios de aceptación para la diferencia porcentual entre las medias de Novartis y Sandoz ( $\leq 10\%$ ), el método se transfirió en forma exitosa.

Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeronnis  
 Director Técnico  
 MN 14840

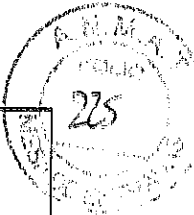
Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 44 Resultados de Validación para RP-HPLC**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Matrices de muestra de Cromatografía II, y III; UF/DF; y granel concentrado se analizan enriquecidas y no enriquecidas con proteína recombinante de fusión fHbp.	Sin interferencia de los componentes de matriz.	Sin interferencia de los componentes de matriz observada para el contenido.
Linealidad	Se evaluaron tres repeticiones de siete diluciones del estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp.	El coeficiente de correlación (r) debe ser $\geq 0,990$ para el contenido.	$r = 1,000$ , para el contenido; sin criterios establecidos para la pureza
Exactitud	La exactitud de los resultados del contenido determinada a partir de los datos de linealidad y del enriquecimiento de las matrices durante el proceso (Cromatografía I y II; y UF/DF) comparada con la del contenido teórico.	$r \geq 0,990$ e intersección "y" $< 10\%$ del área de pico promedio del estándar de referencia de $0,100 \mu\text{g/ml}$ . Para el contenido, la recuperación porcentual debe estar entre $90-110\%$ para concentraciones del estándar de referencia que oscilan de $50$ a $200 \text{ mg/ml}$ y entre $80-120\%$ para una concentración de $25 \mu\text{g/ml}$ . Para el contenido, la recuperación porcentual debe estar entre $80-120\%$ para las concentraciones de muestras durante el proceso $100$ a $200 \mu\text{g/ml}$ , y entre $70-130\%$ para una concentración de $25 \mu\text{g/ml}$ .	$r=1,000$ ; intersección "y": $-0,896$ para el contenido, y pureza. Para el contenido, todas las recuperaciones porcentuales cumplen los criterios de aceptación.
Límite de Detección (LOD)	Se evaluaron seis repeticiones en tres diluciones del estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp.	Para pureza, Proporción S/N $\geq 3$	LOD = $5 \mu\text{g/ml}$

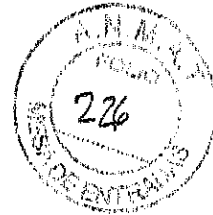




Límite de Cuantificación (LOQ)	Se evaluaron seis repeticiones en tres diluciones del estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp.	Para pureza, Proporción S/N $\geq 10$	LOQ = 10 $\mu\text{g/ml}$
Rango	El rango se determinó a partir de los resultados de los estudios de linealidad, exactitud, y precisión.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	Para el contenido, el rango es 25-200 $\mu\text{g/ml}$ para el estándar de referencia de proteína recombinante de fusión fHbp y para muestras durante el proceso. Para pureza, el rango es 10-200 $\mu\text{g/ml}$ para el estándar de referencia y para muestras durante el proceso.
Repetibilidad	Se evaluaron los datos de desviación estándar a partir del estudio de linealidad, muestras de control durante el proceso, y a partir de datos de los estudios de enriquecimiento de matrices durante el proceso.	Para el contenido si 1) RSD% $\leq 5\%$ para todas las concentraciones sobre 25 $\mu\text{g/ml}$ y RSD $\leq 10\%$ para la concentración a 25 $\mu\text{g/ml}$ del estándar de referencia; 2) matrices durante el proceso enriquecidas con estándar de referencia, RSD $\leq 5\%$ para las concentraciones 100 y 200 $\mu\text{g/ml}$ y RSD $\leq 10\%$ al nivel 25 $\mu\text{g/ml}$ ; y 3) muestras de elaboración durante el proceso, RSD $\leq 10\%$ para concentraciones $< 0,5 \text{ mg/ml}$ y la RSD $\leq 5\%$ para concentraciones $\geq 0,5 \text{ mg/ml}$ . Para la pureza, RSD $\leq 5\%$ para muestras con pureza $> 50\%$ y RSD $\leq 10\%$ para muestras con pureza $\leq 50\%$	Se cumplieron todos los criterios para el contenido, y pureza.

Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 11521  
Apoderado





<p>Precisión de Intermedios</p>	<p>Se evaluaron seis muestras durante el proceso (Cromatografía I y II y UF/DF) por dos operadores.</p>	<p>Para la pureza de muestras durante el proceso de elaboración, 1) RSD <math>\leq</math> 5% para purezas &gt; 50% y RSD <math>\leq</math> 10% para purezas <math>\leq</math> 50%; y 2) para el contenido de muestras durante el proceso de elaboración, RSD <math>\leq</math> 10% para concentraciones de proteína &lt; 0,5 mg/ml y RSD <math>\leq</math> 5% para concentraciones <math>\geq</math> 0,5 mg/ml. Además, la diferencia en pureza relativa entre los dos operadores debe ser <math>\leq</math> 5,0%, y <math>\leq</math> 10,0% para el contenido. RSD del contenido de proteína recombinante de fusión rHbp debe ser <math>\leq</math> 5,0%.</p>	<p>Se cumplieron todos los criterios de aceptación para el contenido y pureza.</p>
<p>Resistencia</p>	<p>La valoración se evaluó por la resistencia de los parámetros operacionales (por ej., caudal de flujo), la temperatura de muestras, y el número de ciclos de congelamiento / descongelamiento permitibles. La estabilidad de muestras se evaluó por el análisis de muestras 24 a 72 horas después de cada preparación, por triplicado.</p>	<p>Para la pureza, la diferencia relativa porcentual promedio al Tiempo 0 debe ser <math>\leq</math> 3% para muestras durante el proceso del Lote 38438808 y para el estándar de referencia. Para el contenido, la diferencia relativa porcentual promedio al Tiempo 0 debe ser 85-115% para muestras durante el proceso del Lote 38438808 y para el estándar de referencia.</p>	<p>Para el contenido y pureza, el estándar de referencia y las muestras durante el proceso pueden almacenarse a 2-8°C en el automuestreador durante hasta 74 horas.</p>

RSD=Desviación Estándar Relativa; S/N: Proporción Señal:Ruido

Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Verónica  
 Director Técnico  
 MN 14840

Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imitzian  
 Gle. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apertersdi





**Tabla 45 Resultados de Validación para Pureza por SDS-PAGE (Valoración de Sandoz)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Muestras de tampones de Cromatografía y UF/DF/ Granel Concentrado se enriquecieron con estándar en una concentración y se sometieron a electroforesis con tampones y estándar no enriquecidos.	Las muestras de blanco no mostraron ninguna banda que migrara en forma comparable con el estándar. En hileras cargadas con la matriz de muestra enriquecida, una banda principal debe estar visible y la migración debe ser comparable al estándar.	Criterios de aceptación cumplidos.
Linealidad	Se evaluó una curva estándar de ocho puntos.	El coeficiente de correlación ( $r$ ) > 0,950, en el rango de 0,5 a 12,0 $\mu\text{g}$ .	$r = 0,994$
Exactitud	La muestra se operó en ocho diluciones. Las bandas sobre el gel teñido se cuantificaron por densitometría. Los resultados se evaluaron por análisis de regresión lineal.	El coeficiente de correlación ( $r$ ) > 0,950	$r = 0,994$
Límite de Detección (LOD)	Descrito en la Tabla 46.	Evaluados con validación de cuantificación (S/N >5).	LOD = 0,05 $\mu\text{g}$ (Proporción S/N = 10).
Límite de Cuantificación (LOQ)	Descrito en la Tabla 46.	Evaluados con validación de cuantificación (S/N >10).	LOQ = 0,5 $\mu\text{g}$ (Proporción S/N = 104).
Rango	Los resultados del Estudio de Linealidad se evaluaron para determinar el rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 120% (12,0 $\mu\text{g}$ ) a 5% (0,5 $\mu\text{g}$ ) de pureza.



