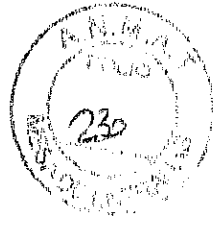


		estar visible y la migración debe ser comparable al estándar.	
Linealidad	Los resultados del Estudio de Exactitud se evaluaron para determinar la linealidad.	El coeficiente de correlación (r) > 0,950.	$r = 0,983, 1,000, 0,994, 0,981, \text{ y } 1,000$, para Geles 129 a 133, respectivamente.
Exactitud	El caldo de fermentación se enriquece con proteína recombinante de fusión fHbp en tres concentraciones y se opera sobre tres geles. Las bandas teñidas se evaluaron por densitometría y se calculó la	Recuperación media porcentual entre 80-120%.	Recuperación media porcentual de 84%, 105%, y 106%, para muestras enriquecidas con 0,6, 1,2, y 1,9 μg , respectivamente. Criterios de aceptación cumplidos.
Límite de Detección (LOD)	La concentración más baja de estándar (0,5 $\mu\text{g}/\text{pocillo}$) se evaluó para Señal a Ruido de acuerdo con la fórmula $S/N = 2 - H/h$, donde H es altura pico y h es el rango de ruido sobre el electroferograma.	Proporción S/N del estándar de calibración más bajo >5.	LOD = 0,05 μg (Proporción S/N = 10).
Límite de Cuantificación (LOQ)	Los resultados del estudio de LOD se utilizaron para determinar LOQ.	Proporción S/N del estándar de calibración más bajo >10.	LOQ = 0,5 μg (Proporción S/N = 104).
Rango	Los resultados de los Estudios de Linealidad y Exactitud se evaluaron para determinar el rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 0,5 (LOQ) a -2,0 μg^1 .
Repetibilidad	Los resultados del Estudio de Exactitud se evaluaron para Repetibilidad.	CV % < 15% para nivel bajo, CV % < 10% para niveles medios y altos.	Criterio de Aceptación cumplido para niveles de 1,2 y 1,9 μg^1 .
Precisión de Intermediarios	Los resultados para el Operador 1 del Estudio de Repetibilidad se utilizaron para evaluar la Precisión de Intermediarios (sólo se requirió un operador para llevar a cabo el Estudio de Repetibilidad).	CV % < 15%	Criterio de Aceptación cumplido para niveles de 1,2 y 1,9 μg^1 .



	Se preparó un segundo grupo de diluciones de la misma manera por un segundo operador otro día.		
Resistencia	Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros operacionales tales como tinción, carga de proteínas, estabilidad de solución, variación de gel de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.	Incluidos como parte de la validación del método.	Se cumplen todos los criterios.

S/N: Proporción Señal:Ruido; CV%: Coeficiente porcentual de variación

1 No se cumplieron los criterios de aceptación para precisión para la muestra de 0,6 µg. La cuantificación por SDS-PAGE sólo se utiliza sobre muestras de fermentación que no sean críticas para el monitoreo del desempeño del proceso.


Tabla 47 Resultados de Validación para Pureza por SDS-PAGE (Valoración de Novartis)

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Linealidad	Se prepararon cinco diluciones de Granel Concentrado dentro del rango lineal de la valoración. Las muestras se analizaron por duplicado en tres sesiones analíticas.	El coeficiente de correlación (r^2) $\geq 0,950$.	$r^2 = 0,997, 0,970, \text{ y } 0,982$ para tres sesiones analíticas.
Exactitud	Los resultados del Estudio de Linealidad se evaluaron para determinar la Exactitud.	Recuperación porcentual 80-120%.	Las recuperaciones porcentuales fueron 104, 99 y 97% para cargas de 5, 10, y 12 µg.
Rango	Los resultados de los Estudios de Linealidad y Exactitud se utilizaron para evaluar el rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 5 a 12 µg.
LOQ	Cinco cargas de 2 µg analizaron por duplicado.	S/N > 10:1; CV % $\leq 10\%$ y diferencia entre la muestra de pureza promedio y el	S/N = 28:1; CV% = 1%; diferencia en pureza porcentual del 2% para una carga de 1 µg.

		estándar <10%.	
Repetibilidad	Seis repeticiones de un lote de Granel Concentrado se probaron por un operador sobre dos geles.	CV % ≤ 5%	CV % = 0,5%
Reproducibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se probaron tres veces por dos operadores de un grupo, y seis veces por un operador de un segundo grupo, en momentos diferentes.	CV % para pureza ≤ 10 % para los 12 valores para cada lote probado.	CV % fue 1,6%, 2,3%, y 1,8 % para los Lotes TRFA5E1102, RS15-03-01, y RS15-05-01, respectivamente.
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.	Las muestras blanco y de matriz sintética no deben mostrar bandas que migren en forma comparable con la proteína recombinante de fusión rHbp.	Las muestras blanco y de matriz sintética no mostraron ninguna banda que migre comparablemente con el estándar.
Resistencia	Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros operacionales tales como función, carga de proteínas, estabilidad de solución, variación de gel de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.	Incluidos como parte de la validación del método.	Se cumplen todos los criterios.

CV%: Coeficiente porcentual de variación


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


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

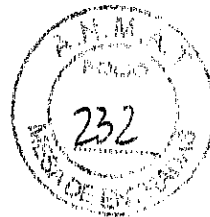
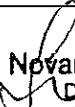


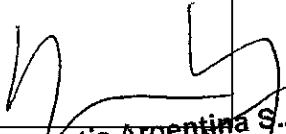
Tabla 48 Calificación cruzada de los Métodos de SDS-PAGE de Sandoz y Novartis

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Reproducibilidad	Un operador de cada laboratorio analizó tres muestras por duplicado.	CV % para los 12 valores debe ser < 10%.	CV % para pureza fue 2,13%, 2,00%, y 2,26%, para los tres lotes (A009131, A009132, y A009330).

Tabla 49 Resultados de Validación para Pureza por SE-HPLC (Valoración de Sandoz)

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Se analizaron las muestras por duplicado de las matrices de muestra de Cromatografía II y III; UF/DF, y o Granel Concentrado, así como también el material estándar.	<ul style="list-style-type: none"> No debería haber interferencia de los componentes de la matriz en el tiempo de retención del componente principal de la referencia. El cromatograma para la muestra de Granel Concentrado debería demostrar un pico correspondiente al antígeno de proteína recombinante de fusión fHbp. La resolución entre el pico principal y el prepico para el estándar de referencia de proteína 	<ul style="list-style-type: none"> El pico de proteína recombinante de fusión fHbp para la muestra de prueba de Granel Concentrado correspondió al estándar del pico de proteína recombinante de fusión fHbp; no se detectaron picos para la muestra blanco. El pico principal y el prepico se separaron visualmente y la resolución calculada fue de 2,14. Las desviaciones del tiempo de retención del estándar de referencia fueron de -0,02% y -0,53% para cada muestra de prueba duplicada.


 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>recombinante de fusión rHbp $\geq 1,0$.</p> <ul style="list-style-type: none"> El tiempo de retención del pico principal de la muestra de Granel Concentrado no debe desviarse del tiempo de retención del pico del estándar de referencia en más que $\pm 5\%$. 	
Linealidad	Se preparó una curva de dilución de nueve puntos a partir del estándar de referencia, por triplicado. El análisis de regresión lineal se llevó a cabo por el uso de áreas de pico.	$r \geq 0,99$	$r = 0,995$
Exactitud	Los resultados del Estudio de Linealidad se utilizaron para determinar la Exactitud.	$r \geq 0,99$, y la intersección "y" $\leq 10\%$ del área de pico para el promedio de los resultados de la inyección de 20 μg .	$r = 0,995$; intersección "y" = -11,032, que corresponde a -4,7%.
Límite de Cuantificación (LOQ)/ Límite de Detección (LOD)	Se preparó una curva estándar de nueve puntos.	LOD < 5% de inyección de 20 μg ; Prop. S/N $\geq 3:1$ LOQ < 5% de inyección de 20 μg ; Prop. S/N $\geq 5:1$	La proporción S/N abarca de 16-26 para LOD y LOQ = 0,1%.
Repetibilidad	Se preparó una curva estándar de nueve puntos y las muestras se inyectaron por triplicado; esta prueba se operó junto con la de linealidad.	Valoración: RSD (CV%) para un área de pico ≤ 2 5%	Valoración: CV % osciló de 0,2 a 2,3%.
Precisión de	Se evaluaron dos repeticiones por dos operadores de los	RSD % debe ser < 3,0% para cada lote probado en	RSD% fue 0,1%, 0,3%, y 1,5% en TS y 0,1%,


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



Intermediarios	laboratorios de Desarrollo (TS) y QC (RS) en Sandoz.	cada sitio.	0,0%, y 1,6% en RS, para Lotes 36438807, 36438808, y RS15-03-01.
Reproducibilidad	Se compararon la linealidad, sensibilidad, y precisión de intermediarios entre los laboratorios TS y RS en Sandoz.	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios de aceptación de Linealidad y LOQ/LOD • La RSD% de la Precisión de Intermediarios debe ser < 3,0% para cada lote probado en cada sitio. • La RSD % entre los laboratorios TS y RS debe ser ≤5% para cada lote probado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios de aceptación cumplidos de Linealidad y LOQ/LOD • Precisión de Intermediarios (véase arriba) • La RSD % entre los laboratorios fue 0,1%, 0,2%, y 1,5%, para los Lotes 36438807, 36438808, y RS15-03-01.
Rango	Los resultados del Estudio de Linealidad se utilizaron para determinar el rango.	Deben cumplirse los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, y precisión sobre el rango de análisis.	El rango abarca de 120% (24 µg) a 0,5% (0,1 µg).
Resistencia	Las muestras de Cromatografía I, II y III, UF/DF y Granel Concentrado se probaron durante un período de 72 horas. Se llevaron a cabo estudios para evaluar la reproducibilidad, adecuación del sistema, optimización de tampones, y estabilidad del estándar de referencia tras el descongelamiento.	Estabilidad en el automuestreador probada durante el desarrollo del método. Sin criterios de aceptación establecidos. Llevado a cabo como parte del desarrollo del método por Novartis.	Muestras estables durante 72 horas a 2-10°C, para intermediarios y Granel Concentrado probadas con diferencia de pureza relativa al Tiempo 0 ≤ 3%.

CV%: Coeficiente porcentual de variación; RSD: Desviación Estándar Relativa; S/N: Proporción Señal:Ruido; RS: Sitio de Recepción; TS: Sitio de Transferencia.


Novartis Argentina S.A.
 Dr. Luiso Jerencic
 Director Técnico
 MN 14840


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



