


**Tabla 57 Pruebas, Especificaciones, y Resultados para los Lotes B169253 y B169254 de Granel Concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp**

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Lotes	
Granel Concentrado			Lote B169253	Lote B169254
Pureza	SDS-PAGE	≥ 88%	94%	94%
Pureza	SE-HPLC	≥ 90%	99%	98%
Contenido de Proteínas	Valoración de Proteínas Totales BCA	900-2700 µg/ml	1665 µg/ml	1560 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva	Positiva	Positiva
HCP/Proteína <sup>1</sup>	ELISA/cálculo	≤ 100 ppm	31 ppm	26 ppm
Osmolaridad <sup>1</sup>	Osmometría, punto de congelamiento	240-360 mOsm/kg	296 mOsm/kg	309 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 IU/µg	< 0,003 IU/µg	< 0,003 IU/µg
Biocarga <sup>2</sup>	Filtración de membrana	≤ 15 CFU/100 ml	0 CFU/100 ml	0 CFU/100 ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5	7,0	7,0
Conductividad	Potenciometría	15.000-17.300 µS/cm	15.955 µS/cm <sup>2</sup>	16.510 µS/cm

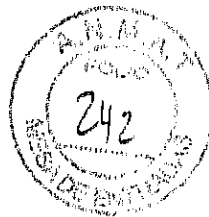
BCA: Ácido Bicinónico; CFU: Unidades de Formación de Colonias; ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; HCP: Proteína de las Células Huésped; IU: Unidades Internacionales; mOsm: Miliosmoles; µS: Micro-Siemens; ppm: partes por millón; RP-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento en fase invertida; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; SE-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento con exclusión de tamaño

<sup>1</sup>La prueba se lleva a cabo por cuenta de Novartis Vacunas & Diagnósticos.

<sup>2</sup>La especificación para Biocarga de ≤ 15 CFU/100 ml estaba en su lugar al momento de llevarse a cabo la prueba. A partir de entonces, la especificación se ha reducido a ≤ 10 CFU/100 ml y se aplicará comenzando desde la campaña 2013.

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

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Ge. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11527  
 Apoderado





## 6) MATERIALES DE REFERENCIA

### Estándares o Materiales de Referencia proteína recombinante de fusión fHbp

Todos los estándares de referencia utilizados en los controles en proceso y pruebas de liberación de la proteína recombinante de fusión fHbp se utilizan sólo como controles positivos para evaluar la idoneidad del sistema y no se utilizan para determinar los resultados de la muestra de prueba.

Debe prepararse un protocolo de calificación especialmente dedicado para cada lote nuevo seleccionado para su uso como un estándar de referencia. El protocolo de calificación incluye una comparación con el lote anterior de estándar de referencia y los criterios de aceptación predefinidos relacionados. Un control positivo nuevo debe cumplir con la especificación de liberación del producto, así como los criterios de aceptación específicos definidos. La calificación incluye la evaluación de la idoneidad para su uso en pruebas de liberación y los estudios de estabilidad del Estándar de Referencia. Las pruebas de estabilidad se realizan mediante una nueva verificación contra del protocolo de calificación inicial. Los resultados se presentan en un informe de calificación y se asignan las fechas de caducidad.

Los detalles del Estándar de Referencia de proteína recombinante de fusión fHbp utilizado actualmente, lote B043447, y un resumen de los criterios de aceptación para calificar nuevos estándares de referencia de la proteína recombinante de fusión fHbp para los procedimientos analíticos empleados de Novartis y Sandoz se proporcionan en las Tablas 58 y 59 respectivamente, a continuación.

Siempre que los nuevos estándares de referencia, considerados como controles positivos, se califiquen de acuerdo con los criterios de aceptación descritos, entonces, no se prevén variaciones / modificaciones de la autorización de comercialización.

**Tabla 58 Descripción del Estándar de Referencia de la proteína recombinante de fusión fHbp, Lote B043447**

<b>Descripción:</b>	<b>Lote de Principio Activo</b>
Número de lote:	<b>B043447</b>
Fecha de fabricación:	19 de Junio de 2010
Fecha de liberación:	17 de Mayo de 2012
Uso del lote:	Comercial
Condiciones de conservación	-20±5°C
Periodo de vida útil o de nueva prueba	18 de Junio de 2015



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



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



**Tabla 59 Criterios de Aceptación para Validar Nuevos Estándares de Referencia para de la proteína recombinante de fusión fHbp**

Producto	Prueba	Criterio de Aceptación
proteína recombinante de fusión fHbp	SE-HPLC (Pureza) <sup>1</sup>	<p>El tiempo de retención de cada uno de los 6 replicados del estándar de referencia previo y nuevo debe encontrarse dentro de una ventana de variabilidad de <math>\leq 5\%</math>.</p> <p>Los Kd de la curva de calibración del sistema calculado en todas las muestras del estándar de referencia previo y nuevo deben estar dentro de una ventana del 10% de diferencia.</p> <p>Kd se calcula como <math>Kd = (Rt-t0)/(tT-t0)</math> donde Rt = el tiempo de retención de la proteína recombinante de fusión fHbp, t0 = tiempo de retención de Blue Dextran, tT = tiempo de retención de NaN<sub>3</sub>.</p>
	SDS-PAGE (Pureza) <sup>1</sup>	<p>Los estándares de referencia previos y nuevos deben demostrar una banda principal con un peso molecular de ~ 43-53 kDa correspondiente a la proteína principal proteína recombinante de fusión fHbp.</p> <p>En cada uno de los seis geles, el % de coeficiente de variación de pureza de la media entre los dos replicados del estándar de referencia previo y los dos replicados del estándar de referencia nuevo debe ser <math>\leq 10\%</math>.</p> <p>El % del coeficiente de variación de pureza entre el valor medio del estándar previo y nuevo, obtenido en los seis geles, debe ser <math>\leq 10\%</math>.</p>
	Western Blot (Identidad)	<p>El lote estándar de referencia debe demostrar una banda principal de peso molecular ~ 43-53 kDa que corresponde a la proteína principal proteína recombinante de fusión fHbp.</p>
	RP-HPLC (Contenido y Pureza)	<p>Los datos de la Curva de Calibración y SST deben cumplir con el SOP interno.</p> <p>Muestra de Control:</p> <p>La recuperación promedio de este lote Estándar de Referencia antiguo (muestra de control, Lote 36438807) debe ser 80-120 % del valor BCA declarado.</p>

<sup>1</sup> Se monitorea la diferencia del porcentaje entre los lotes estándares de referencia antiguos y nuevos para determinar si se registra un cambio acumulativo a partir de los cambios del estándar de referencia múltiples. Si se observa un cambio acumulativo, se evalúa el impacto en la idoneidad del sistema.



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



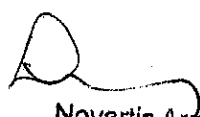
Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gle. de Asuntos Regulatorios  
Coordinador Técnico - M.N. 11521  
Apoderado




## 7) SISTEMA CONTENEDOR-CIERRE

El granel concentrado para la proteína recombinante de fusión fHbp se almacena en botellas de 1000 ml con tapa a rosca. La botella está compuesta por un copolíéster de polietilén tereftalato glicol (PETG); la tapa a rosca (cierre) está compuesta por polietileno de alta densidad (HDPE). Las botellas moldeadas por soplado de inyección se esterilizan vía irradiación con  $\gamma$  y se ajustan a los requerimientos de Clase VI de USP. El granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp se almacena a  $\leq -15^{\circ}\text{C}$  durante hasta 36 meses.

Se realizó un estudio de lixiviables/extraíbles para las botellas de PETG para determinar la idoneidad de la botella PETG utilizada para el almacenamiento del granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp. Bajo las condiciones del estudio de extraíbles, no se identificaron compuestos orgánicos por encima del umbral analítico estimado, y no se detectaron metales de clase 1 de interés de seguridad significativos o metales de Clase 2 de interés de seguridad bajo. Sólo se detectó hierro, perteneciente a la clase 3 de metales de interés mínimo de seguridad, a 3 ppb en el extracto (correspondiente a 0,128 ng/ 0,5 ml de dosis). También se detectaron dos elementos inorgánicos, selenio y azufre a 2 ppb en el extracto (correspondiente a 0,085 ng/ dosis de Bexsero) y 472 ppb en el extracto (que corresponde a 20,159 ng/ dosis de Bexsero), respectivamente. Una evaluación toxicológica de estos resultados, mostró que las cantidades de cada extraíble por dosis de la vacuna están bien por debajo las respectivas Exposiciones Diarias Parenterales permitidas (para azufre y hierro) o el Nivel Superior de Ingesta Tolerable (para selenio). Se concluyó que no se anticipan problemas de seguridad por recibir una dosis de la vacuna Bexsero. Nótese que, en base a los datos del estudio de extraíbles, no se esperan sustancias lixiviables en el granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp almacenado en botellas de PETG.



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



Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 71521  
Apoderado



## 8) ESTABILIDAD

### SEMILLA MAESTRA

Se prueban semillas maestra cada cinco años de acuerdo con el procedimiento de la compañía. Se presentan en la tabla a continuación los datos de reprobación disponibles para el lote de la Semilla Maestra S815P9MS01:

**Tabla 60 Datos de Reprobación Periódica para el Lote de la Semilla Maestra S815P9MS01**

Prueba	Especificación	Liberación 2001	Reprobación 2006	Reprobación 2011
Identidad de Antígeno	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Vitalidad (Recuento de colonias)	$\geq 10^6$ CFU/ml	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml	$1,7 \times 10^9$ CFU/ml	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml
Pureza	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Estabilidad segregacional del plásmido <sup>1</sup>	$\leq 10\%$ Km -	1 % Km -	3,3% Km -	0,3% Km -
Vitalidad (Crecimiento confluyente)	Cumple (Crecimiento de <i>E. coli</i> sin contaminantes)	No aplicable	Cumple	Cumple

CFU: Unidad de Formación de Colonias; Km - : colonias sin plásmido que confiera resistencia a kanamicina

<sup>1</sup> La estabilidad segregacional del plásmido también se conoce como retención del plásmido

### SEMILLA DE TRABAJO


Se prueban semillas de trabajo cada año de acuerdo con el procedimiento de la compañía. Los datos de reprobación disponibles para el lote de la Semilla de Trabajo S815P10WS01 se presentan en la Tabla 61.

### **Comparabilidad de Nuevas Semillas de Trabajo**

Novartis elaborará nuevas semillas de trabajo de acuerdo con los procedimientos descriptos en esta sección y controlará las semillas de acuerdo con las especificaciones y métodos descriptos.

Con la condición de que se produzcan nuevas semillas de trabajo de acuerdo con la información reportada en la presente, no se prevén variaciones/correcciones a la autorización de comercialización para este producto. Un cambio en el número de semillas se comunicará al laboratorio responsable para la liberación de lotes con el primer lote afectado.

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

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



**NOVARTIS**

Tabla 61 Datos de Reprueba Periódica para el Lote de Semillas de Trabajo S815P10WS01

Prueba	Especificación	Liberación 2001	Reprueba 2002	Reprueba 2003	Reprueba 2004	Reprueba 2005	Reprueba 2006	Reprueba 2007	Reprueba 2008	Reprueba 2009	Reprueba 2010	Reprueba 2011	Reprueba 2012
Identidad de Antígeno	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Vitalidad (Recuento de colonia)	$\geq 10^6$ CFU/ml	$4,5 \times 10^8$ CFU/ml	$6,7 \times 10^8$ CFU/ml	$4,6 \times 10^8$ CFU/ml	$5,2 \times 10^8$ CFU/ml	$4,7 \times 10^8$ CFU/ml	$5,4 \times 10^8$ CFU/ml	$7,3 \times 10^8$ CFU/ml	$5,2 \times 10^8$ CFU/ml	$4,9 \times 10^8$ CFU/ml	$6,8 \times 10^8$ CFU/ml	$6,4 \times 10^8$ CFU/ml	$2,5 \times 10^8$ CFU/ml
Pureza	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	NP 1	NP 1	NP 1	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Vitalidad (Crecimiento confluyente)	Cumple (Crecimiento de <i>E.coli</i> sin contaminantes)	No aplicable	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	NP 1	NP 1	NP 1	Cumple	Cumple
Estabilidad segregacional del plásmido 2	$\leq 10\%$ Km -	No aplicable	1,7% Km -	0,7% Km -	1,3% Km -	0% Km -	0% Km -	1,7% Km -	2% Km -	0,7% Km -	1,6% Km -	0,3% Km -	0,0% Km -

CFU: Unidad de Formación de Colonias; Km - : colonias sin plásmido que confiera resistencia a kanamicina; NP: No llevada a cabo.

<sup>1</sup> Pureza y Vitalidad (Crecimiento confluyente) no se llevaron a cabo debido a una revisión incorrecta del procedimiento que rige el control periódico de semillas maestra y de trabajo la cual eliminó estas pruebas de la especificación. Una investigación concluyó que los resultados de las pruebas faltantes no afectaban la idoneidad de las semillas para uso. La prueba completa se llevó a cabo hasta 2008 sin disconformidad alguna. El uso de las semillas en la producción no condujo a desviaciones en relación a la pérdida de vitalidad. Estos controles se reintrodujeron posteriormente en el panel de liberación de rutina.

<sup>2</sup> La estabilidad segregacional del plásmido también se conoce como retención del plásmido.



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

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



**GRANEL CONCENTRADO**

**Síntesis de estabilidad y conclusiones**

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil actual de 36 meses a  $\leq -15^{\circ}\text{C}$  para el granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp. Se generaron datos satisfactorios a través de 36 meses a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ . También se generaron datos satisfactorios a través de 48 meses a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  y a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ . Además, hay datos disponibles para demostrar que el granel es estable a la temperatura acelerada de  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  hasta por 3 meses.

Los resultados de estabilidad a largo plazo a través de 48 meses para el granel concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp se proporcionan en la Tabla 65 para almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  y en la Tabla 66 cuando se almacenan a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ .

Los datos para los tres lotes a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  y a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$  cumplen todas las especificaciones a través de 48 meses. El almacenamiento a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$  no aparenta impactar la estabilidad del granel.

Los resultados de estabilidad acelerada a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  se proporcionan en la Tabla 67. Todas las especificaciones se cumplieron para la prueba acelerada a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  a través del período de prueba de tres meses programado.

**Plan de estabilidad**

El estudio de estabilidad se lleva a cabo de acuerdo con un protocolo de estabilidad preaprobado. Para este estudio, tres lotes consecutivos de granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp, elaborados en el sitio Kundl, de Austria, se colocaron en estabilidad. Estos lotes (36438806, 36438807, y 36438808) se utilizaron en los ensayos clínicos de Fase III y también sirvieron como lotes de consistencia para el proceso de granel concentrado de proteína recombinante de fusión fHbp.

Se provee información de la elaboración para estos tres lotes sometidos a estabilidad en la Tabla 62.

**Tabla 62 Información de Elaboración para los lotes sometidos a estabilidad.**

Lote Granel N°	Fecha de Elaboración <sup>1</sup>	Tamaño del Granel de Elaboración (Litros)
36438806	31-Mar-2007	83,6
36438807	04-Abr-2007	59,9
36438808	08-Abr-2007	62,4

<sup>1</sup>Fecha de elaboración para el granel concentrado es la fecha de llenado.

Muestras de cada uno de los tres lotes se dividieron en alícuotas en recipientes de polietileno tereftalato glicol (PETG) de 10 ml con tapa a rosca en el sitio de Kundl y se enviaron al sitio de Novartis Rosia, Italia, para pruebas de estabilidad. Estos recipientes de estabilidad eran del mismo material de construcción y tipo de sistema de cierre del recipiente utilizado para almacenar lotes de producción,

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

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



excepto por una reducción en el tamaño. Este se considera el peor caso en términos de la proporción de superficie/volumen. Todas las muestras utilizadas para el estudio de estabilidad se almacenaron en posición horizontal.

El estudio de estabilidad se llevó a cabo a tres temperaturas. Un estudio de estabilidad a largo plazo se llevó a cabo a la temperatura de almacenamiento recomendada de  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  para confirmar la vida útil de 36 meses. Además, muestras de los lotes del granel concentrado se mantuvieron a  $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$  para demostrar que las temperaturas bajo la temperatura de almacenamiento recomendada corriente también eran adecuadas para el granel concentrado. Se llevó a cabo un estudio de estrés a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  sobre los tres lotes para generar información adicional sobre el perfil de estabilidad de la proteína.

Las pruebas, cronogramas, y especificaciones a largo plazo y aceleradas se proporcionan en la Tabla 63 a continuación. Se hace notar que todos los métodos de prueba de estabilidad fueron validados.

**Tabla 63 Cronogramas de Prueba de Estabilidad a Largo Plazo y Acelerada**

Prueba de Estabilidad	Especificaciones	Puntos de Tiempo Programados	
		Prueba a largo plazo a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y a $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$	Prueba acelerada a $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
Pureza (SDS-PAGE)	$\geq 88\%$	0, 3, 6, 12, 18, 24, 36, y 48 meses, para ambas	0, 0,5, 1, y 3 meses
Pureza <sup>1</sup> (SEC-	$\geq 90\%$		
Contenido de Proteína BCA	500-1100 $\mu\text{g/ml}$	0, 6, 12, 24, 36, y 48 meses, para ambas temperaturas	
pH	6,5-7,5		

BCA: Ácido Bicinconínico; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; SEC-HPLC: Cromatografía con exclusión de tamaño-Cromatografía líquida de alto rendimiento;

<sup>1</sup>Se ruega notar que el término "integridad" se ha reemplazado con "pureza" para SE-HPLC, en conformidad con las recomendaciones de ICHQ6B.

### Protocolo de Estabilidad Posterior a la Aprobación y Compromiso de Estabilidad

Un mínimo de un lote de granel concentrado de la proteína recombinante de fusión fHbp se colocará anualmente en estabilidad. El programa de estabilidad anual de granel incluirá, como mínimo, las pruebas e intervalos enumerados en la siguiente tabla.

**Tabla 64 Plan de Prueba para el Programa de Estabilidad Anual de Granel para la proteína recombinante de fusión fHbp, para Almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$**

Prueba	Especificación	Intervalos de Prueba (Meses)						
		Tiempo 0	3	6	12	24	36	48
Pureza (SDS-PAGE)	$\geq 88\%$	R	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD	TBD

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

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

