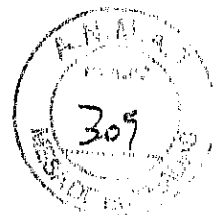


**Tabla 33 Resultados de Validación para Pureza e Integridad por SDS-PAGE (Valoración de Novartis)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	Seis repeticiones de un lote del Granel Concentrado se probaron por un operador sobre dos geles.	CV % $\leq$ 5% para pureza e integridad	CV % fue 0,3 y 1,2, para pureza e integridad, respectivamente.
Reproducibilidad	Tres lotes del 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 e integridad $\leq$ 10 % para los 12 valores para cada lote probado.	CV % para la pureza fue 2,2%, 1,3%, y 1,0 % para los Lotes TRFASEII02, RS14-03-01, y RS14-05-01, respectivamente. CV % para la integridad fue 2,5%, 2,2 %, y 1,4% para los Lotes TRFASEII02, RS14-03-01, y RS14-05-01, respectivamente.
Linealidad	Se prepararon cinco diluciones del 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.	$r^2 = 0,974, 0,962, y 0,985$ 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 114, 99, y 97%, para cargas de 5, 10, y 12 $\mu$ g.
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 $\mu$ g
LOQ	Cinco cargas de 1 $\mu$ g analizaron por duplicado.	S/N > 10:1; CV % $\leq$ 10% y diferencia entre la muestra de pureza promedio y el estándar <10%.	S/N = 16:1; CV% = 2%; diferencia en pureza porcentual del 3%.



Novartis Argentina S.A.  
Dr. Lucio Jeroncio  
Director Técnico  
MN 44840

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



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 Nada.	Las muestras blanco y de matriz sintética no mostraron ninguna banda que migre comparablemente con el estándar.
---------------	---	---	---

CV%: Coeficiente porcentual de variación

**Tabla 34 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 la pureza fue 1,50%, 1,15%, y 1,15 %, para los tres lotes (B006900, B006901, y B006902). CV% para la integridad fue 2,40%, 2,03%, y 2,91%, para los tres lotes (B006900, B006901, y B006902).

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

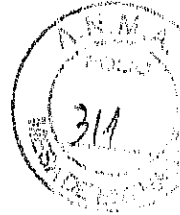
Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 35 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 Granel Concentrado, así como también el material estándar.	<ul style="list-style-type: none"> <li>No debería haber interferencia de los componentes de la matriz en el tiempo de retención del componente principal de la referencia.</li> <li>El cromatograma para la muestra del Granel Concentrado debe mostrar un pico correspondiente al antígeno de proteína recombinante NadA.</li> <li>La resolución entre el pico principal y el prepico para el estándar de referencia de proteína recombinante NadA <math>\geq 1,0</math>.</li> <li>El tiempo de retención del pico principal de la muestra del a Granel Concentrado no debe desviarse del tiempo de retención del pico del estándar de referencia en más que <math>\pm 5\%</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El pico de proteína recombinante NadA para la muestra de prueba del Granel Concentrado correspondió al estándar del pico de proteína recombinante NadA; no se detectaron picos para la muestra blanco.</li> <li>El pico principal y el prepico se separaron visualmente y la resolución calculada fue de 1,44.</li> <li>Las desviaciones del tiempo de retención del estándar de referencia fueron de 0,52% y 0,12% para cada muestra de prueba duplicada.</li> </ul>
Linealidad	Una curva de dilución de nueve puntos se preparó a partir del estándar de referencia por triplicado. El análisis de regresión lineal se llevó a cabo por el uso de áreas de pico.	$r \geq 0,99$	$r = 0,9998$





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.	$r = 1,000$ ; intersección "y" = -3,845 (-2,7% de la teórica)
Límite de Detección (LOD)	Se utilizaron resultados de linealidad para evaluar el LOD.	LOD < 5% del área de pico para la dilución estándar de 20 µg de proteína recombinante NadA y proporción S/N $\geq 3:1$ .	Proporciones S/N a 0,5 µg para las tres repeticiones $\geq 3:1$ y área de pico < 5%.
Límite de Cuantificación (LOQ)	Se utilizaron resultados de linealidad para evaluar el LOQ.	LOQ < 5 % del área de pico para la dilución estándar de 20 µg de MenB proteína recombinante NadA y proporción S/N $\geq 10:1$ .	Proporción S/N = 11,7 – 17,2 LOQ = 0,1%
Repetibilidad	Se preparó una curva estándar de nueve puntos.	Valoración: RSD (CV%) para un área de pico $\leq 10\%$ . inyección: CV% < 2,5 %, n = 6.	Valoración: CV % osciló de 0,78 a 9,60%. inyección: CV% = 0,5 .
Precisión de Intermedios	Dos repeticiones se evaluaron por dos operadores de los Laboratorios de Desarrollo (TS) y QC (RS) de Sandoz.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV % de la muestra del Granel Concentrado de MenB proteína recombinante NadA debe ser &lt; 2,5% (n = 6).</li> <li>• La diferencia de pureza relativa al Operador 1 debe ser <math>\leq 10\%</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV % fue 0,5 y 0,4 para los Operadores 1 y 2, respectivamente.</li> <li>• La diferencia promedio porcentual entre los operadores osciló de -0,8 a 0,3.</li> </ul>
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 100% (20 µg) a 2,5% (0,5 µg).

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

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



