

5) CONSISTENCIA DE LA PRODUCCION

Semilla Maestra

Tabla 38 Análisis de Lote para la Semilla Maestra S813P9MS01

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Resultado
Identidad	Métodos bioquímicos	Positiva	Positivo
Identidad de Antígeno	Western Blot	Positiva	Positivo
Vitalidad (Recuento de colonias)	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\geq 10^8$ CFU/ml	$1,1 \times 10^9$ CFU/ml
Pureza	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Estabilidad segregacional del plásmido ¹	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\leq 10\%$ Km -	2% Km -
Estabilidad estructural del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Electroforesis en gel	Cumple con el estándar (Perfil de fragmento de ADN)	Cumple con el estándar
Secuencia del plásmido	Secuenciación de ADN	Cumple con el estándar (Sin mutación de nucleótidos)	Cumple con el estándar
Número de copia del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Métodos bioquímicos	Resultados del registro (número por bacteria)	20,0 por bacteria
Bacteriófagos	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Cumple con el estándar (Ausencia de placas líticas)	Cumple con el estándar

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

¹ El plásmido segregacional también es conocido como retención del plásmido

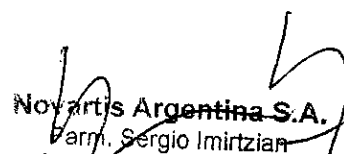
Semilla de trabajo

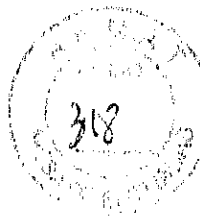
Tabla 39 Análisis de Lote para la Semilla de Trabajo S813P10WS01

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Resultado
Identidad	Métodos bioquímicos	Positiva	Positivo
Identidad de Antígeno	Western Blot	Positiva	Positivo
Vitalidad (Recuento de colonias)	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\geq 10^8$ CFU/ml	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
Pureza	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Número de copia del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Métodos bioquímicos	Resultados del registro (número por bacteria)	27 por bacteria

CFU: Unidad de Formación de Colonias


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


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



Granel concentrado

La información de elaboración general para tres lotes del granel concentrado de la proteína recombinante NadA, utilizados en los ensayos clínicos de la Fase III y como lotes de consistencia de procesos, se proporciona en la Tabla 40 a continuación. Las pruebas, especificaciones, y resultados de liberación para los tres lotes del Granel Concentrado a escala completa se proporcionan en la Tabla 42.

Tabla 40 Información de Elaboración General de Fase III/Consistencia para los Lotes de Granel Concentrado de proteína recombinante NadA

Purificación/Lotes del Granel Concentrado		
Lote No.	Fecha de Elaboración	Tamaño del Lote (Litros)
48201404	20-Dic-2006	99,8
48201405	09-Ene-2007	91,8
48201406	17-Ene-2007	74,4

La información de elaboración general para dos lotes de granel concentrado de la proteína recombinante NadA, elaborados en 2011 se proporciona en la Tabla 41 a continuación. Las pruebas, especificaciones, y resultados de liberación para los dos lotes del Granel Concentrado a escala completa se proporcionan en la Tabla 43.

Tabla 41 Información de Elaboración General para los Lotes de Granel Concentrado de la proteína recombinante NadA elaborados en 2012

Purificación/Lotes del Granel Concentrado		
Lote No.	Fecha de Elaboración	Tamaño del Lote (Litros)
Lot B082535	19-May-2011	84,3
Lot B084333	24-May-2011	97,7


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



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

Tabla 42 Pruebas, Especificaciones, y Resultados para los Lotes 48201404, 48201405, y 48201406 de Granel Concentrado de proteína recombinante NadA

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Lote 48201404	Lote 48201405	Lote 48201406
Granel Concentrado					
Pureza	SDS-PAGE	≥ 90%	94%	92%	94%
Integridad	SDS-PAGE	≥ 70%	82%	83%	80%
Pureza ¹	SE-HPLC	≥ 89%	92%	92%	93%
Contenido de Proteínas ²	Valoración de Proteínas Totales BCA	1000-3000 µg/ml	1883 µg/ml	1780 µg/ml	1800 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
HCP ³	Western Blot	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
HCP/Proteína ⁴	ELISA/cálculo	≤ 200 ppm	16 ppm	15 ppm	18 ppm
Osmolaridad ⁴	Osmetría, punto de congelamiento	240-360 mOsm/kg	305 mOsm/kg	256 mOsm/kg	309 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 IU/µg	< 0,002 IU/µg	< 0,002 IU/µg	< 0,002 IU/µg
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 5 CFU/ml ⁵	0 CFU/ml	3 CFU/ml	0 CFU/ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5	7,1	6,9	7,0
Conductividad	Potenciometría	15.000-17.300 µS/cm	16.960 µS/cm	16.880 µS/cm	17.050 µS/cm
ADN/Proteína ^{3,4}	Sistema de Umbral	≤ 10 pg/µg	< 1 pg/µg	< 1 pg/µg	1 pg/µg
IP TG ^{3,4}	RP-HPLC	≤ 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm
PPG ^{3,4}	HPTLC	≤ 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm

BCA: Ácido Bicinónico; CFU: Unidades de Formación de Colonias; ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; HCP: Proteína de las Células Huésped; HPTLC: Cromatografía de alto rendimiento en capa fina; IU: Unidades Internacionales; mOsm: Milli-Osmoles; 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

¹ Se ruega notar que, a pedido de las Autoridades de Salud, el término "integridad" se ha reemplazado con "Pureza" para SE-HPLC, en conformidad con las recomendaciones ICHQ6B.

² La prueba de Concentración de Proteínas se llevó a cabo por Novartis por el uso de la valoración de tubo de ensayo. A partir de entonces, el método se ha transferido a Sandoz para prueba de liberación de Granel Concentrado.

³ Con base en los Resultados de Validación de la Depuración, estas pruebas no se llevarán a cabo sobre lotes futuros.

⁴ La prueba se lleva a cabo por cuenta de Novartis Vacunas & Diagnósticos.

⁵ La especificación para Biocarga de ≤ 5 CFU/ml estaba en su lugar al momento de llevarse a cabo la prueba. A partir de entonces, la especificación se ha reducido a ≤ 17 CFU/100 ml para lotes futuros, con base en análisis de datos históricos.

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

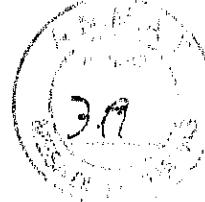



Tabla 43 Pruebas, Especificaciones, y Resultados para los Lotes B082535 y B084333 de Granel Concentrado de proteína recombinante NadA

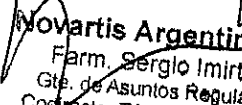
Prueba	Método de Análisis	Especificación	Lotes
Granel Concentrado			
Pureza	SDS-PAGE	≥ 90%	B082535 93% B084333 93%
Integridad	SDS-PAGE	≥ 70%	80%
Pureza	SE-HPLC	≥ 89%	94%
Contenido de Proteínas	Valoración de Proteínas Totales BCA	1000-3000 µg/ml	2162 µg/ml 1935 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva	Positiva
HCP/Proteína ¹	ELISA/cálculo	≤ 50 ppm	10 ppm 11 ppm
Osmolaridad ¹	Osmetría, punto de congelamiento	240-360 mOsm/kg	300 mOsm/kg 301 mOsm/kg
Endotoxina/Proteínas	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 UI/µg	< 0,002 IU/µg
Biocarga ²	Filtración de membrana	≤ 17 CFU/100 ml	0 CFU/100 ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5	7,0
Conductividad	Potenciometría	15.000-17.300 µS/cm	16.636 µS/cm 16.657 µS/cm

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

¹ La prueba se lleva a cabo por cuenta de Novartis Vacunas & Diagnósticos.

² La especificación para Biocarga de ≤ 17 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. Julio Jeroncio
 Director Técnico
 MN 14840


Novartis Argentina S.A.
 Farm. Sergio Imirtzian
 Gte. de Asuntos Regulatorios
 Colector Técnico - M.N. 11621
 Apoderado



6) MATERIALES DE REFERENCIA

Estándares o Materiales de Referencia proteína recombinante NadA

Todos los estándares de referencia utilizados en los controles en proceso y pruebas de liberación de la proteína recombinante NadA 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 NadA utilizado actualmente, lote B034741, y un resumen de los criterios de aceptación para calificar nuevos estándares de referencia de proteína recombinante NadA para los procedimientos analíticos empleados de Novartis y Sandoz se proporcionan a continuación proporcionan en las Tablas 44 y 45, respectivamente.

Siempre que los estándares de referencia nuevos, considerados como controles positivos, se califiquen conforme a los criterios de aceptación descritos a continuación, no se prevén variaciones / enmiendas a la autorización de comercialización.

Tabla 44 Descripción del Estándar de Referencia de proteína recombinante NadA, Lote B034741

Descripción:	Lote de Principio Activo
Número de lote:	B034741
Fecha de fabricación:	15 de Marzo de 2010
Fecha de liberación:	24 de Mayo de 2012
Uso del lote:	Comercial
Condiciones de conservación	-20 ± 5° C
Período de vida útil o de nueva prueba	15 de Marzo de 2015



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

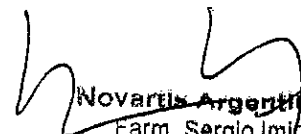

 Novartis Argentina S.A.
 Farm. Sergio Imirtzian
 Gte. de Asuntos Regulatorios
 Codirector Técnico - M.N. 11521
 Apoderado

Tabla 45 Criterios de Aceptación para Validar Nuevos Estándares de Referencia para proteína recombinante NadA

Producto	Prueba	Criterio de Aceptación
proteína recombinante NadA	SE-HPLC (Pureza) ¹	<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 $\leq 5\%$.</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 $Kd = (Rt-t_0)/(tT-t_0)$ donde Rt = el tiempo de retención de proteína recombinante NadA, t0 = tiempo de retención de Blue Dextran, tT = tiempo de retención de NaN₃.</p>
	SDS-PAGE (Pureza e integridad) ¹	<p>Los estándares de referencia previos y nuevos deben demostrar una banda principal con un peso molecular de ~ 36 kDa correspondiente a la proteína principal proteína recombinante NadA.</p> <p>En cada uno de los seis geles, el % de coeficiente de variación de pureza y el % de coeficiente de variación de integridad de la media entre los dos replicados del estándar de referencia previo y los dos replicados del estándar de referencia nuevo debe ser $\leq 10\%$.</p> <p>El % del coeficiente de variación de pureza entre el valor medio del estándar previo y nuevo, obtenido en los seis geles y el % del coeficiente de variación de integridad entre el valor medio del estándar previo y nuevo, obtenido en los seis geles, debe ser $\leq 10\%$.</p>
	Western Blot (Identidad)	El lote estándar de referencia debe demostrar una banda principal de peso molecular ~ 36 kDa que corresponde a la proteína principal proteína recombinante NadA.
	RP-HPLC (Contenido, Pureza e integridad)	<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 48201404) debe ser 80-120 % del valor BCA declarado.</p>
	RP-HPLC ² (Relación Ox-red)	Criterios de aceptación a establecer.

¹ 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 Jeroncio
 Director Técnico
 MN 14840


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

7) SISTEMA CONTENEDOR-CIERRE

El granel concentrado de la proteína recombinante NadA se almacena en botellas de 1000 ml con tapa a rosca. La botella está compuesta por un copolíéster de polietileno 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 γ y se ajustan a los requerimientos de Clase VI de USP. El granel concentrado de r proteína recombinante NadA se almacena a $\leq -15^{\circ}\text{C}$ (punto de inicio -20°C) durante hasta 36 meses.

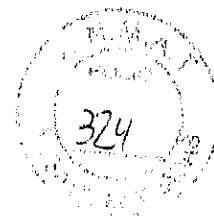
Se realizó un estudio de lixiviables/extraíbles para las botellas de PETG para determinar la idoneidad de la botella PETG utilizada para el almacenamiento del granel concentrado de proteína recombinante NadA. Bajo las condiciones del estudio de extraíbles, no se identificaron compuestos orgánicos por 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 de Bexsero). 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 NadA almacenado en botellas de PETG.



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



Novartis Argentina S.A.
Farm. Sergio Imirtzian
Ste. de Asuntos Regulatorios
Director Técnico - M.N. 11521
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 S813P9MS01:

Tabla 46 Datos de Reprobación Periódica para el Lote de la Semilla Maestra S813P9MS01

Prueba	Especificación	Liberación 2001	Reprobación 2006	Reprobación 2011
Identidad de Antígeno	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Vitalidad (Recuento de colonias)	$\geq 10^6$ CFU/ml	$1,1 \times 10^9$ CFU/ml	$8,2 \times 10^8$ 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 ¹	$\leq 10\%$ Km -	2% Km -	2,7% Km -	2,0% 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

¹ El plásmido segregacional también es conocido 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 S813P10WS01 se presentan en la Tabla 47.

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 Jeroncic
Director Técnico
MN 14840



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

