

**NOVARTIS**

Tabla 47 Datos de Reprueba Periódica para el Lote de Semillas de Trabajo S813P10WS01

Prueba	Especificación	Libreración 2001	Reprueba 2002	Reprueba 2003	Reprueba 2004	Reprueba 2005	Reprueba 2006	Reprueba 2007	Reprueba 2008	Reprueba 2009	Reprueba 2010	Reprueba 2011	Reprueba 2012	Reprueba 2013
Identidad de Antígeno	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Vitalidad (Recuento de colonia)	$\geq 10^6$ CFU/ml	$1,5 \times 10^8$ CFU/ml	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml	$1,3 \times 10^9$ CFU/ml	$1,3 \times 10^9$ CFU/ml	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml	$1,3 \times 10^9$ CFU/ml	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml	$1,1 \times 10^9$ CFU/ml	$1,6 \times 10^9$ CFU/ml	$9,8 \times 10^8$ 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	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes	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	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Estabilidad segregación al plásmido 2	$\leq 10\%$ Km -	No aplicable	1% Km -	0% Km -	3,3% Km -	2% Km -	1,3% Km -	1,3% Km -	1,7% Km -	1,3% Km -	0,3% Km -	1,3% Km -	1,3% Km -	0,6% Km -

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

1 La Pureza y Vitalidad (Crecimiento confluyente) no se llevan a cabo debido a una revisión incorrecta del procedimiento que rige el control periódico de semillas madre y de trabajo que excluye estas pruebas de la especificación. Una investigación arrojó como conclusión que los resultados de las pruebas fallantes no afectaban la adecuación 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 derivó en desviaciones referidas a la pérdida de la vitalidad. Estos controles se reintrodujeron posteriormente en el panel de liberación de rutina.

2 El plásmido segregacional también es conocido como retención del plásmido.

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

Novartis Argentina S.A.
 Dr. Lúcio J. Juncio
 Director Técnico
 MN 14840



GRANEL CONCENTRADO

Síntesis de estabilidad y conclusiones

Se realizó un estudio de estabilidad para confirmar la vida útil de 36 meses a $\leq -15^{\circ}\text{C}$ para el granel concentrado de proteína recombinante NadA. Se generaron datos satisfactorios a través de 48 meses a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y a $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$. La vida útil propuesta para el principio activo es de 36 meses a $\leq -15^{\circ}\text{C}$, protegido de la luz. Además, hay datos disponibles para demostrar que el granel es estable a la temperatura acelerada de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante hasta 3 meses. El producto no es estable cuando se mantiene a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 15 días.

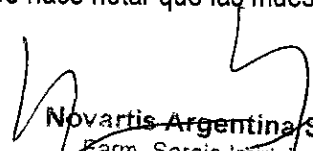
Los resultados de estabilidad a largo plazo a través de 48 meses para el granel concentrado de proteína recombinante NadA se proporcionan en la 51 y Tabla 52, para almacenamiento a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y a $-70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Los datos para los tres lotes cumplen todas las especificaciones en ambas temperaturas confirmando la vida útil de 36 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 se completaron para la prueba llevada a cabo a $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$; los resultados se proporcionan en la Tabla 54. 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 un tres meses programado. Los resultados de estabilidad acelerada se completaron para la prueba llevada a cabo a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; los resultados se proporcionan en la Tabla 49. El principio activo no es estable en esta condición de temperatura.

Los resultados para pureza por SE-HPLC estaba fuera de la especificación en todos los puntos de tiempo luego del inicio del estudio. Los resultados para pureza e integridad, de acuerdo con lo determinado por SDS-PAGE, cumplen la especificación en todos los puntos de tiempo. Sin embargo, los resultados para integridad por SDS-PAGE no estaban en línea con los resultados previamente obtenidos para los lotes clínicos de Fase I y Fase II que no cumplieron la especificación para integridad (datos no mostrados). Se llevó a cabo una investigación para comprender en mejor forma los resultados fuera de tendencia y una causa madre se determinó como sigue.

A 37°C , el perfil electroforético se modifica a causa de una reacomodamiento de la banda de proteína principal, que da lugar a una banda con un mayor peso molecular. Bajo una examinación más exhaustiva, esta banda deviene dos bandas que no están bien separadas. En la evaluación de las bandas para los lotes de Fase I y Fase II, llevada a cabo por el personal de Desarrollo de Tecnología, sólo se evaluó la banda correspondiente a la banda principal. Cuando el método se transfirió al grupo de Control de Calidad (QC), el procedimiento de evaluación no estaba claro y QC utilizó ambas bandas para determinar la integridad porcentual, que dio resultados que cumplieron la especificación. Como un resultado, el procedimiento se revisó para proporcionar claridad sobre la evaluación de bandas. Además, se llevó a cabo una reprueba para la evaluación de la pureza e integridad vía SDS-PAGE, que dio lugar a valores fuera de especificación para integridad porcentual para los tres lotes, en alineación con los resultados del lote clínico de Fase I y Fase II. Se hace notar que las muestras se


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


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

