


**Tabla 11 Síntesis de Validación para Prueba e Identidad**

Parámetros Probados <sup>1</sup>	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	La recuperación porcentual promedio para muestras por triplicado de dos concentraciones del granel de Encepur <sup>2</sup> enriquecidas con estándar de aluminio debe estar entre 93-107% del control de estándar de aluminio.	Las recuperaciones porcentuales promedio para 100 y 500 µl del granel de Encepur fueron de 99,81% y 100,85%, respectivamente, cuando se compararon con el estándar de aluminio, lo que demuestra que la matriz del producto no influye el resultado de la prueba.
Exactitud	La recuperación porcentual promedio de estándar de aluminio enriquecido en concentraciones variables, por triplicado, en muestra de hidróxido de aluminio (que contiene aproximadamente 5 mg/l de aluminio), debe estar entre 93-107% del control de estándar de aluminio.	Las recuperaciones porcentuales promedio para muestras enriquecidas de estándar de aluminio, en concentraciones de 5, 15, y 25 mg/l, fueron de 106%, 104%, y 101%, respectivamente.
Repetibilidad	CV% ≤ 4% para estándar de aluminio enriquecido en concentraciones variables, por triplicado, en muestra de hidróxido de aluminio.	CV% fue 0,40, 0,61, y 0,33 para enriquecimientos de estándar de aluminio en concentraciones de 10, 20, y 30 mg/l.
Precisión de Intermediarios	CV% combinado ≤ 5% para estándar de aluminio enriquecido en concentraciones variables, por triplicado, en muestra de hidróxido de aluminio por dos operadores, en dos días, por el uso del mismo instrumento.	CV% combinado fue 1,37, 1,17, y 1,58 para enriquecimientos de estándar de aluminio en concentraciones de 10, 20, y 30 mg/l.
Linealidad	Coefficiente de determinación (r <sup>2</sup> ) > 0,99 para estándar de aluminio enriquecido en concentraciones variables, por triplicado, en muestra de hidróxido de aluminio.	r <sup>2</sup> = 0,9995, para muestras enriquecidas con estándar de aluminio en concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25, y 30 mg/l.
Rango	Los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, y precisión deben cumplirse sobre el rango de análisis	El rango abarca de 5-25 mg de aluminio/l

  
 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





Parámetros Probados <sup>1</sup>	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Resistencia	<p>La resistencia se demostró en dos experimentos. En el Experimento 1, se determinaron límites de presión menores y mayores para acetileno, óxido nitroso, y aire presurizado. En el Experimento 2, se evaluaron rangos de temperatura menores y mayores y tiempos de incubación. Para ambos experimentos, se enriqueció hidróxido de aluminio por triplicado con 15 mg/l de estándar de aluminio; la recuperación porcentual debe estar entre 93-107% y CV% &lt; 5%.</p>	<p>Las recuperaciones porcentuales más altas y más bajas relativas a enriquecimiento con aluminio fueron 1020 y 1022, para presiones de gas menores (60 kPa, 240 kPa y 240 kPa para acetileno, óxido nitroso, y aire presurizado.)</p> <p>Las recuperaciones porcentuales más altas y más bajas relativas a enriquecimiento con aluminio fueron 102,3-102,6 para presiones de gas mayores (100 kPa, 460 kPa y 460 Kpa para acetileno, óxido nitroso, y aire presurizado )</p> <p>Las recuperaciones porcentuales más altas y más bajas relativas a enriquecimiento con aluminio fueron 103,7-104,3 para una temperatura menor de 95°C durante un tiempo de incubación de 25 minutos, las recuperaciones porcentuales más altas y más bajas relativas a enriquecimiento con aluminio fueron 102,5-102,7 para una temperatura mayor de 120°C y un tiempo de incubación de 35 minutos.</p> <p>CV% fue 1,41% y 1,92% para los Experimentos 1 y 2, respectivamente.</p>


CV%: Coeficiente porcentual de variación


<sup>1</sup> El límite de detección y el límite de cuantificación no se llevaron a cabo con base en la Guía de ICH, Validación de Procedimientos Analíticos: Texto y Metodología Q2 (R1).

<sup>2</sup> La especificidad se probó con granel de Encepur dado que la matriz consiste principalmente en proteína y no contiene aluminio

### Sulfatos

Este método analítico interno para la cuantificación de sulfatos en hidróxido de aluminio (15 g/l) se llevó a cabo vía cromatografía iónica. Se llevó a cabo una validación del método y los resultados se sintetizan en la Tabla 12 a continuación.

  
 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 12 Síntesis de Validación para Sulfatos**


Parámetros Probados	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad (Intra-Valoración)	CV% $\leq 5,0$ y $\leq 0,5\%$ para área de pico y tiempo de retención, respectivamente, para seis repeticiones de un lote	CV% fueron 0,67% para áreas de pico y 0,00% para tiempo de retención
Precisión de Intermediarios (Inter-Valoración)	CV% combinado $\leq 5\%$ para área de pico, durante tres días por dos operadores, para un lote	CV% combinado para la precisión inter-valoración media durante tres días fue 0,38%
Precisión de Intermediarios (Inter-Operador)	CV% combinado $\leq 5\%$ para área de pico, durante tres días por dos operadores, para un lote	CV% combinado para la precisión inter-valoración media fue 0,48%
Precisión de Intermediarios (Inter-Laboratorio)	CV% $\leq 5\%$ para área de pico, para tres lotes de hidróxido de aluminio, probados durante tres días por dos operadores	CV% para la precisión inter-laboratorio media osciló de 1,96-2,53%
Linealidad	Coefficiente de correlación (r) $\geq 0,99$	r = 0,99997
Rango	Los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, y precisión deben cumplirse sobre el rango de análisis	El rango abarca de 0,1-3,0 ppm
Exactitud	La recuperación porcentual promedio para sulfatos, enriquecidos por triplicado con concentraciones variables en muestra de hidróxido de aluminio, debe estar entre 80-120% de la teórica.	Las recuperaciones porcentuales promedio para sulfato enriquecido en concentraciones de 1,5, 2,0 y 2,5 ppm, fueron 97,2%, 97,9%, y 98,9%, respectivamente.

Se hace notar que la especificidad se llevó a cabo como parte de la prueba de adecuación del sistema.

#### Amonio

El método analítico para la cuantificación de amonio en hidróxido de aluminio (15 g/l) se llevó a cabo vía un método espectrométrico con base en la reacción de Berthelot. Se llevó a cabo una validación del método y los resultados se sintetizan en la Tabla 13 a continuación.


  
 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 13 Síntesis de Validación para Amonio**

<b>Parámetros Probados</b>	<b>Criterios de Aceptación de la Validación</b>	<b>Resultados de la Validación</b>
Especificidad	La recuperación porcentual promedio debe estar entre 97-103% para muestras de hidróxido de aluminio enriquecidas por triplicado con urea, que contiene dos grupos urea funcionales (NH <sub>2</sub> ), cuando se compara con muestras no enriquecidas que contienen amonio (NH <sub>4</sub> ).	La recuperación porcentual promedio = 100,33%
Exactitud	La recuperación porcentual promedio para amonio, enriquecido como sulfato de amonio con concentraciones variables, por triplicado, en tres lotes de hidróxido de aluminio, debe estar entre 95-105% de la teórica.	Las recuperaciones porcentuales promedio oscilaron de 97,3-98,9%, 101,0-102,7%, y 102,2-102,9%, para sulfato de amonio enriquecido en concentraciones de 5, 15, y 25 mg/l respectivamente, para los tres lotes.
Repetibilidad	CV% ≤ 3% para tres lotes de hidróxido de aluminio enriquecidos con concentraciones variables de sulfato de amonio, para seis repeticiones	CV% osciló de 0,199-0,380, 0,293-0,696%, y 0,333-0,832%, para sulfato de amonio enriquecido en concentraciones de 5, 15, y 25 mg/l respectivamente, para los tres lotes
Precisión de Intermediarios	CV% combinado ≤ 5% para tres lotes de hidróxido de aluminio enriquecidas con concentraciones variables de sulfato de amonio, por triplicado, durante cuatro días por dos operadores	CV% combinado osciló de 0,549-0,776, 0,486-0,619%, y 0,278-0,936%, para sulfato de amonio enriquecido en concentraciones de 5, 15, y 25 mg/l respectivamente, para los tres lotes
Límite de Detección (LOD)	Sin criterios de aceptación; los resultados se proporcionan únicamente por propósitos informativos	LOD = 0,025 mg amoníaco/l

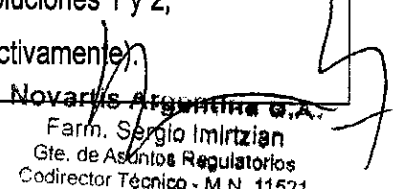
  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Terancio  
 Director Técnico  
 MN 14840

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



Parámetros Probados	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Límite de Cuantificación (LOQ)	Sin criterios de aceptación; los resultados se proporcionan únicamente por propósitos informativos	LOQ = 0,075 mg amoníaco /l
Linealidad	Coeficiente de determinación ( $r^2$ ) $\geq$ 0,99 para tres lotes	$r^2 = 1,000$ para los tres lotes probados
Rango	Los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, y precisión deben cumplirse sobre el rango de análisis.	El rango abarca de 1-25 mg amoníaco /l
Resistencia	<p>La resistencia se demostró sobre muestras de hidróxido de aluminio enriquecidas con amonio, por la variación de la concentración de compañeros de reacción y su estabilidad dentro de un período predefinido; esta evaluación se condujo en dos partes. En el Experimento 1, cantidades de fenol en Solución 1 e hipoclorito de sodio en Solución 2 se variaron <math>\pm</math> 10% de los valores especificados en el SOP. En el Experimento 2, soluciones recién preparadas de fenol e hipoclorito de sodio se compararon a soluciones cerca del final de la vida útil (6 meses) y 5 meses después de la vida útil (total de 11 meses).</p> <p>La recuperación porcentual debe estar entre 95-105% de la teórica.</p>	<p>Las recuperaciones porcentuales para el contenido de hipoclorito de sodio en Solución 2 (101,9% y 100,9%) no fueron críticas dentro de las variaciones probadas de + y -10%, respectivamente.</p> <p>Las recuperaciones porcentuales para el contenido de fenol en Solución 1 (103,4% y 92,7%) fueron críticas dentro de las variaciones probadas de + y -10%, respectivamente. Sin embargo, se monitorea el peso del fenol y debe ser &lt; 1%; no se espera que produzca impacto alguno sobre la valoración.</p> <p>No se observaron efectos significativos (100,3% y 100,6% para las Soluciones 1 y 2, respectivamente) entre las soluciones recién preparadas y las soluciones final de la vida útil (6 meses). Las valoraciones llevadas a cabo por el uso de soluciones que exceden la vida útil (11 meses) fueron significativamente impactadas (99,7% y 105,8% para las Soluciones 1 y 2, respectivamente).</p>

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

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



### 3.4 Justificación de Especificaciones

Las especificaciones de excipientes para histidina, cloruro de sodio, sacarosa, y agua para inyección incluyen todos los parámetros descritos en las monografías respectivas. Los certificados de análisis se presentarán a pedido.

Para todos los lotes de hidróxido de aluminio elaborados en, y después de noviembre de 2010, las especificaciones para el excipiente de hidróxido de aluminio estarán completamente de acuerdo con la Monografía de Ph. Eur. actual para *Hidróxido de Aluminio Hidratado, para adsorción*. También se ha implementado una prueba de esterilidad como una garantía adicional de la seguridad del producto.

Para los lotes elaborados antes de noviembre de 2010, la compañía aplicó las especificaciones de elaboración informadas en la Tabla 14.

**Tabla 14 Especificaciones sobre Hidróxido de Aluminio (15 g/l) Elaborado Antes de Noviembre de 2010**


Prueba	Método de Análisis	Referencia	Especificación
pH	Potenciométrico	Ph. Eur.	5,8-6,5
Capacidad Adsorptiva	Unión a Albúmina	Interna	≥ 20%
Volumen de Sedimentación	Determinación del valor de 24 horas	Interna	≥ 20 ml/dl
Cloruros de Sodio	Detección Argentométrica de Cloruro	Ph. Eur.	1,8-3,3 mg/ml
Sulfatos	Cromatografía Iónica	Interna	≤ 100 µg/ml
Amonio	Reacción de Berthelot Espectrofotométrica	Interna	≤ 20 µg/ml
Contenido de Hidróxido de Aluminio	Espectrometría de absorción atómica (AAS)	Interna	14,5-16,1 mg/ml igual a 5,03-5,56 mg/ml como Al <sup>3+</sup>
Esterilidad	Inoculación Directa	Ph. Eur./USP	Pasa
Timerfonato de Sodio	Determinación de Mercurio	Ph. Eur.	No detectable

### 3.5 Excipientes de Origen Humano o Animal

No se utilizan excipientes de origen humano o animal en la elaboración de Bexsero.

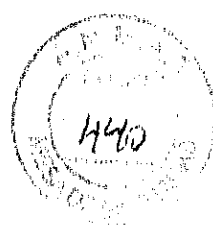
### 3.6 Excipientes Novedosos

No se utilizan excipientes novedosos en la elaboración de Bexsero.

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

  
 Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Sergio Imirtzián  
 Director Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





## 4) CONTROL DE CALIDAD - METODOS DE CONTROL PRODUCTO TERMINADO

### 4.1 Especificaciones

Las especificaciones para la liberación de Bexsero en el granel final, llenado y empaçado se proporcionan en la Tabla a continuación.

**Tabla 15 Especificaciones de Liberación para Bexsero en el Granel Final, llenado y Empacado**

Prueba	Método de Análisis	Referencia	Especificación	
<b>Fases Anteriores al Granel Final</b>				
Biocarga	Filtración de membrana	Ph. Eur./USP	Ver Sección 2.4 Controles de Pasos Críticos e Intermedios	
<b>Granel Final</b>				
Título de Hidróxido de Aluminio	Titulación	Interna	2,4-3,6 mg/ml	
Esterilidad	Inoculación directa	Ph. Eur./USP	Estéril	
<b>Producto Llenado (en Jeringas Preenadas)</b>				
Identidad	Proteína recombinante NadA	Inmunoquímico	Interna	Positiva
	Proteína recombinante de fusión fHbp			Positiva
	Proteína recombinante de fusión NHBA			Positiva
	Vesículas de la membrana externa (OMV)			Positiva
Volumen	Volumen Extraíble	Ph. Eur./USP	≥ 0,50 ml	
Aspecto	Inspección visual	Interna	Líquido opalescente (suspensión blanca)	
Título de Hidróxido de Aluminio	Titulación	Interna	2,4-3,6 mg/ml	


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


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



441

Prueba		Método de Análisis	Referencia	Especificación
Homogeneidad de Hidróxido de Aluminio				≤ 20%
Uniformidad de Hidróxido de Aluminio				Cumple <sup>2</sup>
pH		Potenciómetro	Ph. Eur./USP	6,0-7,0
Osmolaridad		Osmometría, punto de congelamiento	Ph. Eur./USP	240-360 mOsm/Kg
Endotoxina		Método cinético	Ph. Eur./USP	≤ 9600 IU/ml
Tasa de Adsorción <sup>1</sup>		SDS-PAGE	Interna	≥ 90%
Esterilidad		Inoculación directa	Ph. Eur./USP	Estéril
Pirógeno		In vivo, conejos	USP/CFR	No Pirogénico
Inmunogenicidad	Proteína recombinante NadA	Inmunización de ratones seguida por ELISA en suero	Interna	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
	Proteína recombinante de fusión fHbp			UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
	Proteína recombinante de fusión NHBA			UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
	Vesículas de la membrana externa (OMV)			UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5
Partículas visibles		Inspección visual	Ph.Eur	Cumple (ausencia de partículas extrañas)
<b>Producto Empacado</b>				
Identidad	Proteína recombinante NadA	Inmunoquímico	Interna	Positiva
	Proteína recombinante de fusión fHbp			Positiva

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

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



442

Prueba		Método de Análisis	Referencia	Especificación
	Proteína recombinante de fusión NHBA			Positiva
	Vesículas de la membrana externa (OMV)			Positiva

ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; IU: Unidades Internacionales; MEU: Unidad ELISA de Ratón; mOsm: Milli-Osmoles; OMV: Vesículas de la Membrana Externa; Ph. Eur.: Farmacopea Europea; RP: Potencia Relativa; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; USP: Farmacopea de los Estados Unidos

<sup>1</sup> La Tasa de Adsorción también puede denominarse Porcentaje de Adsorción.

<sup>2</sup> Para la evaluación de uniformidad de contenido, cumple' se refiere a los siguientes criterios de aceptación. Si la totalidad de las 10 repeticiones cae dentro del promedio de  $10 \pm 15\%$ , el resultado cumple. Si 2 o más repeticiones exceden el promedio de  $10 \pm 15\%$ , el resultado no cumple.

Si sólo 1 repetición supera a la media de  $10 \pm 15\%$ , calcular el promedio de rango de  $\pm 25\%$ . Si ninguna supera el promedio de  $10 \pm 25\%$ , repetir sobre 20 muestras adicionales. Para la repetición sobre estas 20 muestras adicionales, calcular el promedio de la totalidad de los 30 valores y evaluar de la siguiente manera: si no más de 1 repetición supera la media de  $30 \pm 15\%$ , y ninguna se encuentra fuera del rango de  $30 \pm 25\%$ , el resultado cumple. Si 2 o más repeticiones exceden de la media de  $30 \pm 15\%$ , o incluso 1 repetición supera la media de  $30 \pm 25\%$ , los resultados no cumplen.

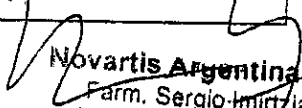
#### 4.2 Procedimientos Analíticos

Se describen en las siguientes tablas procedimientos analíticos para el granel final y en el envase terminado.

**Tabla 16 Tasa de Adsorción**

Muestras de Prueba	Producto llenado
Descripción de la Valoración	<p>Estándares de Referencia para las proteínas recombinantes (de fusión NHBA, NadA, y de fusión fHbp), que consisten en acervos de las tres proteínas, se cargan en cantidades diferentes, correspondientes a 15%, 10%, y 5% de vacuna no absorbida. Estándares de Referencia para OMV (Cepa de Nueva Zelanda), se cargan en cantidades diferentes, correspondientes a 15%, 10%, and 5% de vacuna no absorbida. El antígeno, a una cantidad correspondiente a 5% de vacuna no absorbida para cada proteína recombinante y para Vesículas de la membrana externa (OMV), sirve como enriquecimiento de muestra y se opera en cada valoración.</p> <p>El sobrenadante utilizado para las pruebas se separa del adyuvante vía centrifugación. Los estándares de referencia, muestras de prueba, y muestras más enriquecimiento se precipitan con desoxicolato y TCA, y los pelets resuspendidos se calientan. Los sobrenadantes de muestra, junto con un marcador</p>

  
 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

