


462

				<p>términos generales, la prueba de pirógeno en conejos puede considerarse una prueba confirmatoria para la seguridad del contenido de endotoxina biodisponible de la vacuna y puede discontinuarse luego de que se haya reunido más experiencia referente al producto y se haya reemplazado la prueba de pirogenicidad por una prueba alternativa.</p>
Inmuno- genicidad	proteína recombinante NadA	Inmunización de ratones seguida por ELISA en suero	UCL (P=0,95) ≥ 1,0 RP ≥ 0,5	<p>Las especificaciones a la liberación y al final de la vida útil se basan en la no inferioridad del lote probado a una dosis completa de estándar de referencia calificado clínicamente del que se asume que tiene una potencia relativa de 1,0. Este enfoque es coherente con el enfoque utilizado para la Vacuna contra Pertussis (acelular, componente, adsorbida) Ph. Eur. Por esta razón por la especificación se ha establecido en base al Límite Superior de Confianza (UCL) para la estimación de potencia relativa (P = 0,95) ≥ 1,0. A fin de controlar la variabilidad del ensayo, la Empresa ha incluido un criterio de aceptación adicional para la estimación puntual de la potencia relativa que debe ser ≥ 0,5.</p>
	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	Cumple (ausencia de partículas extrañas)	<p>La prueba está prevista para proporcionar un procedimiento simple para la evaluación visual de la calidad de soluciones parenterales en lo que se refiere a partículas visibles. La prueba se realiza de acuerdo a Ph. Eur. Se considera que la muestra "cumple" si no contiene ninguna partícula extraña. Se registrará la presencia de cualquier partícula.</p>	
Producto Empacado				

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

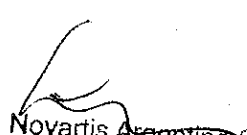
  
 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado

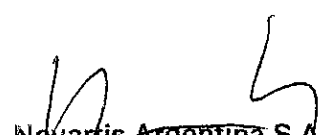


463

Identidad	proteína recombinante NadA	Inmunoquímico	Positiva	La Identidad por Western blot se pretende para asegurar que el producto terminado contenga cada una de los 4 componentes del principio activo.
	proteína recombinante de fusión fHbp		Positiva	
	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 Ratones; LPS: Lipopolisacáridos; mOsm: Mili-Osmoles;  $\mu$ S: Micro-Siemens; NVD: Novartis Vaccines y Diagnostics; OMV: Vesículas de la Membrana Externa; Ph. Eur.: Farmacopea Europea; rp: proteína recombinante; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; USP: Farmacopea de los Estados Unidos

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

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





## Novartis

**Managed Document Approval Certificate /  
Freigabenachweis "Managed Document" /  
Certificato di approvazione per i "Managed Documents"**

The individuals listed have approved this document for implementation using an electronic signature in the Atlas EDMS. / Die aufgeführten Personen haben durch ihre elektronische Unterschrift, dieses Dokument im Atlas EDMS genehmigt. / Le persone sotto riportate hanno approvato questo documento per consentirne l'utilizzo (l'approvazione avviene mediante firma elettronica su sistema Atlas EDMS).

UserName: Viti, Stefano (vitist1)

Title: Head of QP Office/Qualified Person

Date: Wednesday, 20 November 2013, 16:45 GMT

Meaning: Approved by additional signer; responsible for the content of the document. / Genehmigung durch zusätzliche Unterzeichner; mitverantwortlich für den Dokumenteninhalte. / Approvato da un firmatario addizionale; assicura la correttezza del contenuto del documento

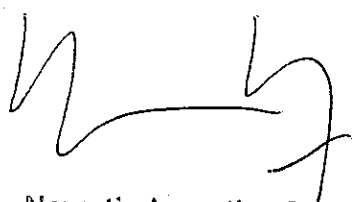
UserName: Vannoni, Barbara (vannoba1)

Title: Certification Services Manager

Date: Wednesday, 20 November 2013, 17:08 GMT

Meaning: Approved by Document Owner; responsible and accountable for the content of the document. / Genehmigung durch Dokumenteninhaber; zuständig und verantwortlich für den Dokumenteninhalte. / Approvato dal Proprietario del documento; assicura che le informazioni siano tecnicamente corrette.

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

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

signature certificate is only valid when accompanied by all the pages of the document. /  
Nachweis ist nur zusammen mit allen Seiten des Dokumentes gültig. /  
certificazione è valida solamente se accompagnata da tutte le pagine del documento cui si riferisce





## 5) VALIDACIÓN PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

La síntesis para la validación de procedimientos analíticos para el granel final y en el envase terminado se describe en la siguiente sección.


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

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

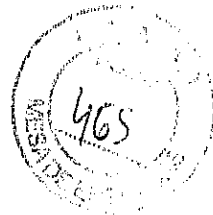


**Tabla 32 Resultados de Validación para Tasa de Adsorción**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Una matriz de muestra similar al lote de vacuna se analizó con y sin enriquecimiento de estándar de referencia.	Las bandas para proteínas enriquecidas deberían estar correctamente alineadas al marcador de PM y estándares de referencia; la matriz debería ser igual a la hilera de blanco (sin bandas).	Bandas para proteínas enriquecidas correctamente alineadas; no se observan bandas para hileras de matriz y blanco.
Límite de Detección	Se sometieron a electroforesis concentraciones variables de acervo de estándar de referencia para proteínas recombinantes y estándar de referencia de vesículas de la membrana externa (OMV).	Las bandas para proteínas enriquecidas deberían estar correctamente alineadas al marcador de PM y estándares de referencia; la examinación visual de proteínas recombinantes y las vesículas de la membrana externa (OMV) debería mostrar intensidad decreciente de las bandas a medida que se reducen las concentraciones.	Bandas para proteínas enriquecidas correctamente alineadas y reducidas en intensidad a medida que se reducen las concentraciones.
Reproducibilidad	Tres lotes de vacuna, no enriquecidos o enriquecidos con acervo de estándar de referencia para proteínas recombinantes o con estándar de referencia de vesículas de la membrana externa (OMV), se sometieron a electroforesis en dos laboratorios.	Las bandas para proteínas enriquecidas deberían estar correctamente alineadas al marcador de PM y estándares de referencia; todos los ensayos analíticos llevados a cabo por dos laboratorios son comparables y la adsorción porcentual de componentes antigénicos a adyuvante en cada lote > 90%.	Bandas para proteínas enriquecidas correctamente alineadas; los resultados fueron comparables entre los dos laboratorios y la adsorción porcentual > 90% para cada lote.

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

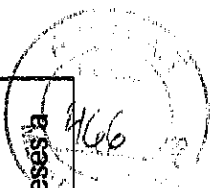
Novartis Argentina S.A.  
 Farn. Sergio Imirtzian  
 Gte. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





**Tabla 32 Resultados de Validación para la Prueba para Hidróxido de Aluminio – Título y Homogeneidad**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	Seis repeticiones de un único lote se analizaron por duplicado en una valoración única.	CV% ≤ 4% y cada valor debe cumplir la especificación para hidróxido de aluminio	CV% = 0,4%; todos los valores cumplen la especificación
Precisión de Intermediarios	La homogeneidad y determinación de títulos de hidróxido de aluminio se evaluaron sobre tres lotes de envases llenados por dos operadores, durante tres días, con tiempos de procesamiento de muestras variables.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Título: CV% para resultados combinados ≤ 5 % y el resultado debe cumplir la especificación para hidróxido de aluminio</li> <li>Homogeneidad: La diferencia máxima en desviación porcentual de la teórica debe ser &lt; 7%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Para el título, CV% combinado para ambos operadores fue 1,87%, 2,35%, y 1,75%, para los Lotes X38D24N1, X38D29N1, y Z38D30N1, respectivamente; todos los valores cumplen la especificación</li> <li>Para homogeneidad, la desviación % fue 2,67%, 2,00%, y 2,00%, para los Lotes X38D24N1, X38D29N1, y Z38D30N1, respectivamente; todos los valores cumplen la especificación</li> </ul>
Exactitud	Diez viales de un lote se combinaron y diluyeron para obtener una concentración de hidróxido de aluminio en el extremo más bajo de la ventana de titulación, enriquecidos con dos concentraciones de estándar de referencia, y se analizaron por triplicado.	la recuperación porcentual para cada enriquecimiento debe caer entre 90-110% de los valores teóricos	la recuperación porcentual osciló de 99-102%
Resistencia: estabilidad de soluciones	Se verificó el tiempo de almacenamiento para la estabilidad del reactivo a partir de la fecha de preparación.	La diferencia del título de aluminio con respecto al T0 debe ser menor que la diferencia máxima en los resultados de la prueba de precisión de intermediarios	<ul style="list-style-type: none"> <li>El sulfato de cobre puede almacenarse hasta 3 semanas a temperatura ambiente</li> <li>El tampón de acetato e hidróxido de sodio pueden almacenarse hasta 2 meses a</li> </ul>



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

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



			temperatura ambiente
Especificidad	Una matriz de muestra similar al lote de vacuna (sin hidróxido de aluminio) se analizó por triplicado, por el uso de sulfato de cobre para titular EDTA en la matriz.	La diferencia porcentual de la cantidad de sulfato de cobre utilizada para titular entre la matriz sintética y el blanco debe ser $\leq 2\%$	diferencia porcentual = 1,1%

CV%: Coeficiente porcentual de variación

Nota: Dado que el resultado se basa en el título de hidróxido de aluminio, la comprobación para uniformidad no se incluyó como parte de esta validación.

**Tabla 34 Resultados de Validación para la Prueba de Identidad de Antígenos**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Western blots se operaron para cada uno de los cuatro sustancias activas para Bexsero; cada operación de gel incluyó una matriz similar a un lote de vacuna tetravalente, estándares de referencia específicos y no específicos al antígeno evaluado, y un control negativo blanco.	Los marcadores del peso molecular (PM) deberían ser visibles y estar correctamente distribuidos; 2) los estándares de referencia para cada antígeno deberían exhibir una banda principal correctamente alineada con el marcador de PM; 3) la matriz de control negativo debería ser igual que el blanco (hilera vacía); y 4) la vacuna tetravalente debería mostrar una banda principal alineada con la banda principal del estándar de referencia.	Todas las alineaciones de banda eran correctas; no se observan bandas en las hileras blanco
Reproducibilidad	Tres lotes de Bexsero se evaluaron para las tres proteínas recombinantes y sículas de la membrana externa (OMV), junto con los estándares de referencia adecuados, por dos laboratorios.	Los marcadores de PM deberían ser visibles y estar correctamente distribuidos; 2) los estándares de referencia para cada antígeno deberían exhibir una banda principal correctamente alineada con el marcador de PM; 3) la vacuna tetravalente debería exhibir una banda principal alineada a la banda principal del estándar de referencia; y 4) todos los ensayos analíticos llevados a cabo por los dos laboratorios deberían ser comparables.	Todas las alineaciones de banda eran correctas, los resultados fueron comparables entre los dos laboratorios; no se observan bandas en las hileras blanco

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 35 Resultados de Validación para el Aspecto**

Parámetros Probados		Parámetros Probados	Parámetros Probados
La prueba para aspecto es una prueba cualitativa. No se llevó a cabo validación/calificación. La validación se ha reemplazado por el programa de entrenamiento de Novartis Vaccines and Diagnostics que asegura que todo el personal está adecuadamente entrenado en un procedimiento antes de que se lleve a cabo.		No aplicable	No aplicable

**Tabla 36 Resultados de Validación para la Prueba de Biocarga**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Inhibición de los microorganismos de prueba bacterianos y fúngicos	Los recuentos se determinan en presencia de cinco organismos microbianos de referencia: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , y cuatro contaminantes ambientales locales. Una cantidad conocida de cada microorganismo se enriquece en muestra de prueba de tres lotes de granel final, luego se laminan por duplicado sobre un medio adecuado por el uso del método de filtración de membrana. Luego, las placas se incuban durante un período de tiempo predefinido, se recuentan las colonias.	La tasa de recuperación de microorganismos utilizados para la validación debe ser de al menos 70% cuando se compara con el control positivo	La recuperación porcentual osciló de 72-124% para los tres lotes

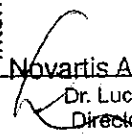
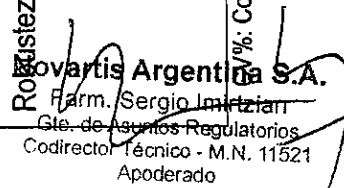
Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 14840

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

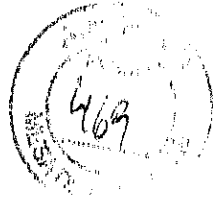




**Tabla 37 Resultados de Calificación para la Prueba de Endotoxina**

Parámetros Probados	Descripción de la Valoración	Criterios de Aceptación de la Calificación	Resultados de la Calificación
Precisión de Intermedios   Novartis Argentina S.A. Dr. Lucio Jeroncio Director Técnico MN 14840	Tres lotes del producto terminado se diluyeron 1:10000 y 1/100000 y luego se analizaron por duplicado, sobre tres placas separadas en tres sesiones de valoración, por dos operadores (seis determinaciones/ valoración /operador). Las muestras se enriquecieron con 0,5 IU/ml de Endotoxina Estándar de Referencia para comprobar inhibición/potenciación de endotoxina. Se calculó el coeficiente de variación porcentual (CV%) a partir de la media geométrica de los seis resultados producidos por cada lote, para dos operadores, durante tres sesiones.	CV% <35% para resultados combinados sobre ensayos realizados en duplicado sobre tres placas en tres sesiones analíticas por dos operadores. Se evaluaron dos diluciones: 1/10000 y 1/100000.	1/10000: CV% Combinados de ambos operadores fueron 13%, 15% y 10%, para los Lotes 090101, 113101A, y 113301A, respectivamente 1/100000: CV% Combinados de ambos operadores fueron 8%, 9% y 14%, para los Lotes 090101, 113101A, y 113301A, respectivamente
 Roberto Novartis Argentina S.A. Farm. Sergio Imetzián Ge. de Asuntos Regulatorios Codirector Técnico - M.N. 11521 Apoderado	Un lote de producto terminado se diluyó a 1:10000 y 1:100000 y luego se analizó utilizando dos lotes diferentes de reactivo lisado de LAL (LL155G y LL157C) sobre tres placas, con dos repeticiones de cada placas y por un operador (seis determinaciones).	El GMT obtenido utilizado un lote de lisado de LAL debe estar dentro del 50-200% de un segundo lote. Se evaluaron dos diluciones: 1/10000 y 1/100000.	1/10000: GMT de 5513 para el lote LL155G de lisado de LAL GMT de 5996 para el lote LL157C de lisado de LAL. Los valores están dentro del 92% entre sí. 1/100000: GMT de 5470 para el lote LL155G de lisado de LAL GMT de 5742 para el lote LL157C de lisado de LAL. Los valores están dentro del 95% entre sí.

CV%: Coeficiente porcentual de variación; GMT: Media Geométrica del Título





**Tabla 38 Resultados de Validación para Valoración de MDRP CD1 por ELISA**

<b>Repetibilidad</b>	<p>Se realizaron cuatro inmunizaciones: dos operadores cada uno realizaron dos repeticiones del Lote 1 y una repetición del lote 2 en 4 sesiones diferentes de inmunización (denominadas corridas 1 a 4). Se consideraron todas las combinaciones posibles de corridas y jaulas (dentro del mismo operador y lote).</p>	<p>Solamente para infirmación</p>	<p>CV % para cada antígeno:                      proteína recombinante de fusión NHBA: 33%                      proteína recombinante de fusión fHbp: 41%                      proteína recombinante NadA: 20%                      vesículas de la membrana externa (OMV): 21%</p>
<b>Precisión Intermedia</b>	<p>Se calculó la precisión intermedia mediante el uso de los resultados de todos los ensayos anteriores, que cumplieron con los criterios de validez del método PLAS.</p>	<p>proteína recombinante de fusión NHBA : CV ≤ 62%*                      proteína recombinante de fusión fHbp : CV ≤ 68%*                      proteína recombinante NadA: CV ≤ 82%*                      vesículas de la membrana externa (OMV): CV ≤ 60%*</p>	<p>% CV para cada antígeno:                      proteína recombinante de fusión NHBA: 37%                      proteína recombinante de fusión fHbp : 47%                      proteína recombinante NadA: 44%                      vesículas de la membrana externa (OMV): 25%</p>
<b>Linealidad</b>	<p>La linealidad es uno de los criterios de aceptación para la evaluación de la validez del ensayo y se evaluó para cada ensayo.</p>	<p>La linealidad es parte de los criterios de validez de cada ensayo individual.</p>	<p>Sólo se han considerado los ensayos válidos para CV% de Repetibilidad y Precisión Intermedia</p>
<b>Especificidad</b>	<p>La especificidad se evaluó mediante inmunización de ratones con vacunas monovalentes formuladas con la dosis máxima. Los sueros para cada grupo fueron probados por ELISA para medir los títulos de anticuerpos contra cada antígeno.</p>	<p>Valores de OD &gt; 0,4 para grupos inmunizados con la vacuna monovalente específica.                      valores de OD &lt; 0,4 para vacunas no relacionadas</p>	<p>Valores de OD no específicos para:                      proteína recombinante de fusión NHBA                      ≤ 0,167                      proteína recombinante de fusión fHbp                      ≤ 0,184                      proteína recombinante NadA ≤ 0,199</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

