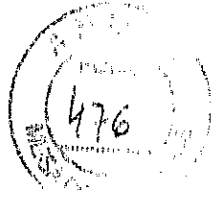


Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
	<p>Se evaluaron tiempos de incubación mínimos y máximos para suero, conjugado, y sustrato, concentraciones de recubrimiento, incubación, y tampones de lavado, y tiempo de recubrimiento de incubación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Los tiempos de incubación de sueros, conjugado, y sustrato deben caer dentro de $100 \pm 15\%$ de SOP • El título para concentración de tampón de recubrimiento variable a $100 \pm 15\%$ de 0,148 M • Incubación concentrada y tampones de lavado a $100 \pm 15\%$ de 0,074 M • Tiempo de incubación de recubrimiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Las proporciones oscilaron de 89,4-110,0%, verificando tiempos de incubación para sueros (110-130 minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$), conjugado (80-100 minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$), y sustrato (27-33 minutos a TA). • Los títulos fueron 117,5% y 79,6% para concentraciones a 0,140 M y 0,160 M, respectivamente; no se cumplen los criterios de aceptación; sólo se da sustento a la concentración de tampón de 0,148 M. • Los títulos fueron 99,3% y 98,6% para concentraciones a 0,065 M y 0,085 M, verificando el rango de concentración del tampón. • Tiempo de recubrimiento de incubación a 14-18 horas, $2-8^\circ\text{C}$ y tiempo de recubrimiento posterior a la incubación a $110-130$ minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ confirmados.

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. 11321
 Apoderado



Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
	Se evaluó el tiempo máximo de almacenamiento de placa luego de un almacenamiento de hasta 18 días; la prueba se llevó a cabo con estándar de referencia y sueros de control positivo.	Para un tiempo máximo de almacenamiento de placas, los títulos obtenidos no difieren en más que 20 % (80-120%) del título del Tiempo 0.	La actividad porcentual osciló de 89,7%-108,2%; por lo tanto, las placas pueden almacenarse hasta 18 días a 2-8°C.
Estabilidad	Se midió la estabilidad del estándar de referencia y sueros de control positivo luego de múltiples ciclos de congelamiento/descongelamiento.	Para estabilidad de congelamiento/descongelamiento de sueros de referencia y control, los títulos obtenidos no difieren en más que 10% (90-110%) del título del Tiempo 0.	La actividad porcentual fue 104,9% y 98,5% para el estándar de referencia y control positivo, respectivamente, para un ciclo de congelamiento/descongelamiento.
	Se evaluaron tiempos de espera de hasta 30 días para tampones de recubrimiento, lavado, y dilución, por un único operador por el uso de sueros de control positivo.	Tiempos de Espera para Tampones de Recubrimiento, Lavado, y Dilución	Tiempos de espera máximos para los tampones de recubrimiento y lavado de 7 días cuando se almacenan a temperatura ambiente y de 15 días para el tampón de dilución cuando se almacena a 2-8°C.
	Se evaluaron tiempos de espera durante hasta 30 días para sueros de referencia y control por un único operador.	Tiempos de espera para sueros de referencia y control	Los sueros deberían descongelarse y utilizarse el mismo día que se lleva a cabo la prueba.

CV%: Coeficiente porcentual de variación; MEU: Unidad ELISA de Ratones; OD: Densidad Óptica; TA: Temperatura Ambiente

Basado en los resultados obtenidos durante la validación del SOP interno, con valores de DO aceptables que van de 0,1 a 3,5, la dilución 1/1000 es la dilución mínima de los sueros de prueba para ser utilizados en el ensayo.

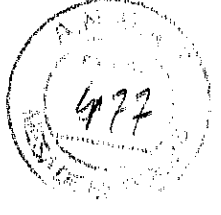
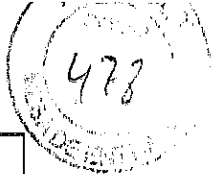
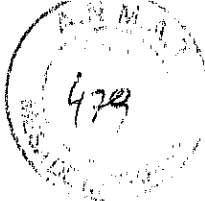


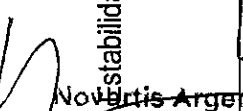
Tabla 41 Resultados de Validación para Inmunogenicidad de proteína recombinante de fusión rHbp por ELISA

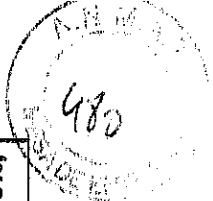
Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	<p>Estándar de Referencia: Ocho repeticiones de ocho concentraciones diferentes de estándar de referencia se probaron en ELISA por un único operador.</p> <p>Sueros de Control Positivo: Ocho repeticiones de una única dilución de suero de control positivo se probaron en valoración de ELISA por un único operador.</p>	<p>CV% < 15%</p>	<ul style="list-style-type: none"> • CV% osciló de 2,1% a 11,3% para el estándar de referencia, en las diluciones probadas • CV% = 5,1% para control positivo, en la dilución probada
Reproducibilidad	<p>En la Parte 1, la reproducibilidad se evaluó por el análisis del estándar de referencia, por cuadruplicado, por un operador de cada uno de los dos laboratorios diferentes durante tres días. Además, se llevaron a cabo pruebas y se analizaron sobre tres placas diferentes, para cada serie de dilución, en cada día de prueba.</p> <p>En la Parte 2, la reproducibilidad se evaluó por el análisis del suero de control positivo en una única dilución, por cuadruplicado, por un operador de cada uno de los dos laboratorios diferentes durante tres días. Además, se llevaron a cabo pruebas y se analizaron sobre tres placas diferentes, para cada serie de dilución, en cada día de prueba.</p>	<p>CV% para resultados combinados < 20%.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Para el estándar de referencia, el valor más alto para CV% combinado fue 11,2% • Para el control positivo, el CV% combinado fue 9,0%
Exactitud	<p>La exactitud se verificó por la titulación de cuatro repeticiones del</p>	<p>La recuperación porcentual de los títulos debe</p>	<p>La recuperación porcentual osciló de 94,2% a</p>



Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
	estándar de referencia en cuatro concentraciones.	caer entre 80-120%	101,0%
Especificidad	Evaluada como parte de la prueba de Inmunogenicidad		Véase la validación para la prueba de Inmunogenicidad
Linealidad	Se utilizaron los resultados de reproducibilidad para evaluar la linealidad.	La curva de regresión (r) es > 0,9900	r (promedio) = 0,99720, el valor más bajo fue 0,99104
Rango*	El rango se estandarizó con base en los títulos de estándar de referencia, la dilución más alta de los sueros de prueba, y el diseño del programa		0,100-3,000 unidades de OD, que se correlaciona con el rango de 35-1133MEU/ml
Resistencia	Se evaluaron tiempos de incubación mínimos y máximos para suero, conjugado, y sustrato, concentraciones de recubrimiento, incubación, y tampones de lavado, y tiempo de recubrimiento de incubación.	<ul style="list-style-type: none"> Concentración de antígeno para recubrir placa a $100 \pm 15\%$ de 0,015 μM CV% < 15% para placas individuales y CV% acumulativo < 20% para uniformidad del recubrimiento 	<ul style="list-style-type: none"> Rango de 0,01 a 0,02 μM de antígeno aceptable para recubrimiento, con títulos de estándar de referencia a 104,3% y 109,3% de título a 0,015 μM y títulos de control positivo a 100,3% y 108,5% de título a 0,015 μM CV% para placas osciló de 3-4%; CV% acumulativo osciló de 3-4%



Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
		<ul style="list-style-type: none"> • Los tiempos de incubación de sueros, conjugado, y sustrato deben caer dentro de 100 ± 15% de SOP • El título para concentración de tampón de recubrimiento variable a 100 ± 15% de 0,148 M • Incubación concentrada y tampones de lavado a 100 ± 15% de 0,074 M • Tiempo de incubación de recubrimiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Las proporciones porcentuales oscilaron de 88,0-101,2%, verificando tiempos de incubación para sueros (110-130 minutos a 37 ± 1°C), conjugado (80-100 minutos a 37 ± 1°C), y sustrato (27-33 minutos a TA) • Título a 0,160 M (100%) cumplen los criterios de aceptación • Los títulos fueron 110% y 113% para concentraciones a 0,065 M y 0,085 M, verificando el rango de concentración del tampón • Tiempo de recubrimiento de incubación a 14-18 horas, 2-8°C y tiempo de recubrimiento posterior a la incubación a 110-130 minutos a 37 ± 1°C confirmados.
Estabilidad 	Se evaluó el tiempo máximo de almacenamiento de placa luego de un almacenamiento de hasta 18 días; la prueba se llevó a cabo con estándar de referencia y sueros de control positivo. Se midió la estabilidad del estándar de referencia y sueros de	Para un tiempo máximo de almacenamiento de placas, los títulos obtenidos no difieren en más que 20% (80-120%) del título del Tiempo 0. Para estabilidad de congelamiento /	La actividad porcentual osciló de 90,6-100,0 %; por lo tanto, las placas pueden almacenarse hasta 18 días a 2-8°C. La actividad porcentual fue 98,5% y 79,6%,



Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
	control positivo luego de múltiples ciclos de congelamiento/descongelamiento.	descongelamiento de sueros de referencia y control, los títulos obtenidos no difieren en más que 10% (90-110%) del título del Tiempo 0.	para el estándar de referencia y control positivo, respectivamente, para ciclo de congelamiento/descongelamiento
	Se evaluaron tiempos de espera de hasta 30 días para tampones de recubrimiento, lavado, y dilución, por un único operador por el uso de sueros de control positivo.	Tiempos de Espera para tampones de recubrimiento, lavado, y dilución	Tiempo de espera máximo de 15 y 7 días a temperatura ambiente para los tampones de recubrimiento y lavado, respectivamente, cuando se almacenan a temperatura ambiente y de 15 días para el tampón de dilución cuando se almacena a 2-8°C.
	Se evaluaron tiempos de espera durante hasta 30 días para sueros de referencia y control por un único operador.	Tiempos de espera para sueros de referencia y control	Los sueros deberían descongelarse y utilizarse durante hasta 7 días cuando se almacenan a 2-8°C.

CV%: Coeficiente porcentual de variación; MEU: Unidad ELISA de Ratonés; OD: Densidad Óptica; TA: Temperatura Ambiente

* basado en los resultados obtenidos durante la validación del SOP interno, con valores de DO aceptables que van de 0,1 a 3,5. La dilución 1/1000 es la dilución mínima de los sueros de prueba para ser utilizados en el ensayo.

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


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

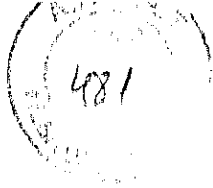


Tabla 42 Resultados de Validación para proteína recombinante NadA -Inmunogenicidad-ELISA

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	<p>Estándar de Referencia: Ocho repeticiones de ocho concentraciones diferentes de estándar de referencia se probaron en ELISA por un único operador.</p> <p>Sueros de Control Positivo: Ocho repeticiones de una única dilución de suero de control positivo se probaron en valoración de ELISA por un único operador.</p>	CV% <15 %	CV% osciló de 1,5% a 12,0% para el estándar de referencia, en las diluciones probadas CV% = 9,7% para control positivo, en la dilución probada
Reproducibilidad	<p>En la Parte 1, la reproducibilidad se evaluó por el análisis del estándar de referencia, por cuadruplicado, por un operador de cada uno de los dos laboratorios diferentes durante tres días. Además, se llevaron a cabo pruebas y se analizaron sobre tres placas diferentes, para cada serie de dilución, en cada día de prueba.</p> <p>En la Parte 2, la reproducibilidad se evaluó por el análisis del suero de control positivo en una única dilución, por cuadruplicado, por un operador de cada uno de los dos laboratorios</p>	CV% para resultados combinados < 20%.	<p>Para el estándar de referencia, el valor más alto para CV% combinado fue 18,9%</p> <p>Para el control positivo, el CV% combinado fue 11,1%</p>



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

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

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
	diferentes durante tres días. Además, se llevaron a cabo pruebas y se analizaron sobre tres placas diferentes, para cada serie de dilución, en cada día de prueba.		
Exactitud	La exactitud se verificó por la titulación de cuatro repeticiones del estándar de referencia en cuatro concentraciones.	La recuperación porcentual de los títulos debe caer entre 80-120%	La recuperación porcentual osciló de 99,2% a 103,5%
Especificidad	Evaluada como parte de la prueba de inmunogenicidad		Véase la validación para la prueba de Inmunogenicidad
Linealidad	Se utilizaron los resultados de reproducibilidad para evaluar la linealidad.	La curva de regresión (r) es > 0.9900	r (promedio) = 0.9984, el valor más bajo fue 0,99261
Rango*	El rango se estandarizó con base en los títulos de estándar de referencia, la dilución más alta de los sueros de prueba, y el diseño del programa		0,100-3,000 unidades de OD, que se correlaciona con el rango de 10.6-340 MEU/ml
Resistencia	Se evaluaron tiempos de incubación mínimos y máximos para suero, conjugado, y sustrato, concentraciones de recubrimiento, incubación, y tampones de lavado, y tiempo de recubrimiento de incubación.	Concentración de antígeno para recubrir placa a $100 \pm 15\%$ de 0,015 μM CV% < 15% para placas individuales y CV% acumulativo < 20% para uniformidad del recubrimiento	Rango de 0,01 a 0,02 μM de antígeno aceptable para recubrimiento, con títulos de estándar de referencia a 97,5% y 104,9% de título a 0,015 μM y títulos de control positivo a 102,3% y 100% de título a 0,015 μM CV% para placas osciló de 3-9%; CV% acumulativo osciló de 4-9%

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

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

483

