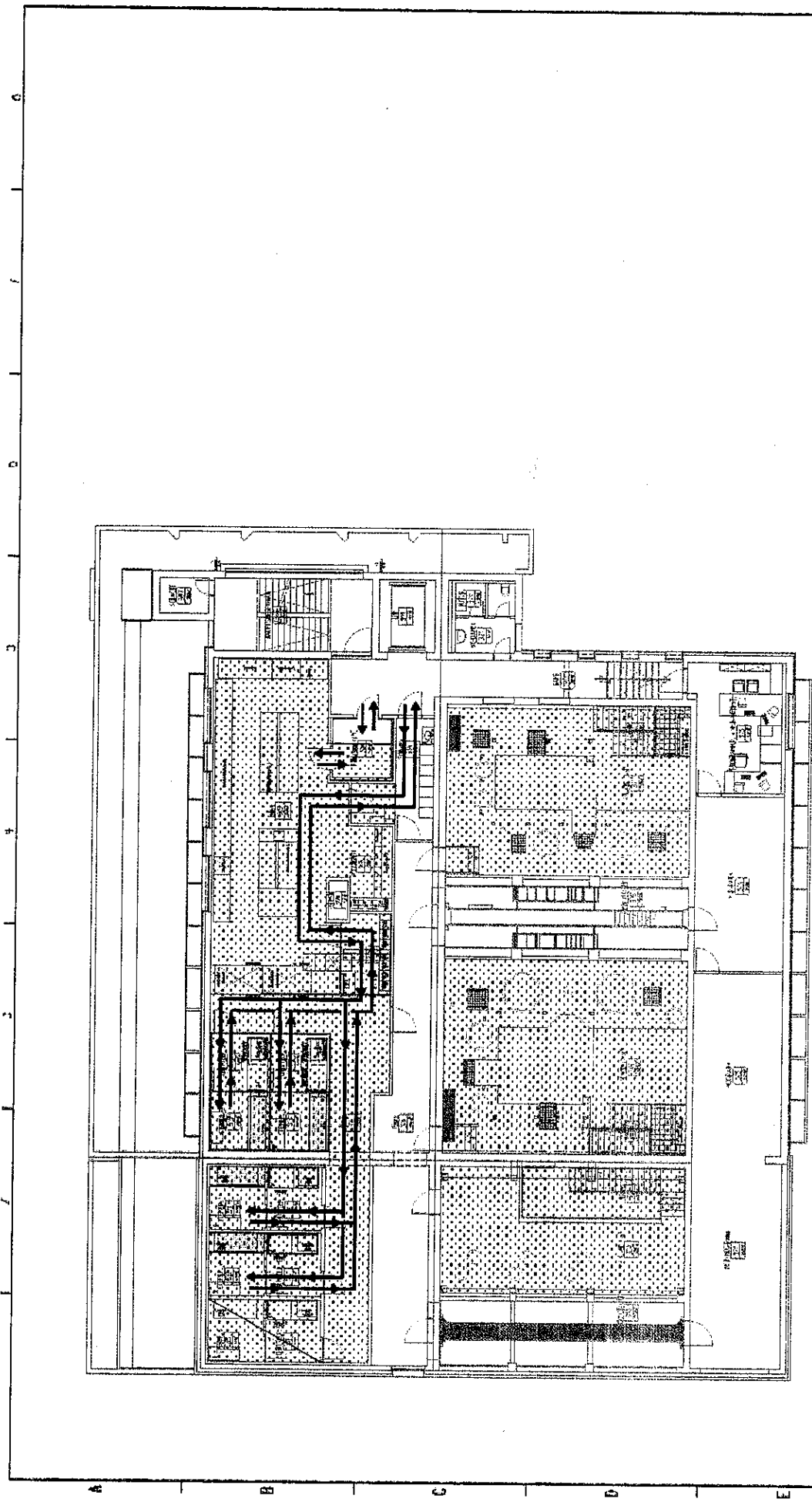


SMF 48.354 V2.0 SMF BMK 220 Appendix 6

PERSONALFLUSS 2.0G

Rev. Datum	23.03.2009	Zählungsnummer	29197	Stand	01
EMD-Zeichner	Grünevald, Hannes	Zählungsverantwortlicher	Nisti, Josef	SANDOZ	
Fa. GreenJet	Marktstab	Zählungsart	Personal-/Materialfluss		
ist-Stand	Änderung				
Richtgründe	100% -> Zehn zu Bestand Bau23				
DIN Format	A				

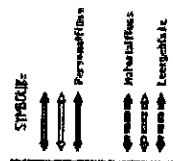
Die Angaben sind ohne Gewähr zu verstehen und können ohne vorherige Ankündigung geändert werden. Die Verantwortung für die Richtigkeit der Angaben liegt bei dem Auftraggeber. Die Haftung für Schäden, die aus dem Gebrauch der Zeichnung resultieren, ist ausgeschlossen.



LEGENDE:

ZONEN:

Zone A	Küchenflur	Gehebot
Zone B	Gehebot	Zone 7
Zone C	Gehebot	Zone 7
Zone D	Gehebot	Zone 7
Zone E	Gehebot	Zone 7
Zone F	Gehebot	Zone 7



ANMERKUNGEN:

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

Novartis Argentina S.A.
Farm. Sergio Imirtzian
Gle. de Asuntos Regulatorios
Codirector Técnico - M.N. 1742-1
Apoderada




Método Analítico



Confidencial

Atlas N°	SOP 201796 - 33	
Código interno (SOP N°)	CQS 07.034	
Versión adjuntos	0	
Título:	Determinación de pirógenos en las materias primas, en los productos semielaborados y terminados.	
Fecha de aplicación	Ver atributos de impresión	
DMW ID	53993401	
Secc.	Descripción de las modificaciones	Motivo de las modificaciones
Adj. 1	Se agrega la especificación MNNZ_225 para la producción de un lote de Men B full OMV en ampollas en área clínica, destinado al proyecto MenB/ACWY	Se agrega una nueva especificación como se requiere en el secundario 222113 de la CR 214586


Novartis Argentina S.A.
Dr. Lucio Jeroncio
Director Técnico
MN 14640


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



Método Analítico

 **NOVARTIS**
VACCINES AND
DIAGNOSTICS

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

1. Introducción y objetivos

Ofrecer instrucciones para la ejecución de las pruebas de pirógenos.

Se aplica a los productos semielaborados, materias primas y productos terminados en los que se requiere la prueba de pirógenos.

1.1 Ámbito operativo

La prueba se realiza en los edificios N° 12A (Animalario Central)

1.2 Personal Encargado

El presente procedimiento será efectuado por el personal de la sección AE (ARC).


2. Abreviaturas y definiciones

- ARC = Centro de Recursos Animales
- AE = Experimentos Animales
- ml = mililitro
- Kg = kilogramo
- ° C = grados centígrados
- P.C. = Ordenador personal
- S.P.F = patógenos libres específicos

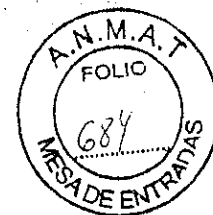
Abreviaturas utilizadas para la redacción de los registros de uso de los conejos

- SCROK = Selección Ok
- SCRNOK = Selección no OK
- ELIM = Eliminado
- NS = NO elegido
- NU = No utilizado
- FS = Realizar Selección
- OK = Prueba aprobada
- NOK = Prueba no aprobada


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


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

Página 2 de 27



Método Analítico

 **NOVARTIS**
VACCINES AND
DIAGNOSTICS

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

3. Materiales e instrumentos

3.1 Materias primas y materiales

- Conejos adultos machos o hembras (SPF) de peso no inferior a los 1,5 Kg, cepa de Nueva Zelanda, provenientes de criaderos calificados
- Matraces de plástico de 125 y 250 ml , probetas de plástico de 15 y 50 ml estériles y apirógenas
- Solución fisiológica o destilada apirógena en ampollas o frascos
- Jeringas descartables estériles de 1, 2,5 , 5, 10, 20, 30

3.2 Instrumentos

- Sistema Pharmalab (ver Sop 301968)
- Balanza digital Sartorius modelo I6800 interfaz o equipo análogo;
- Termostato KW modelo 94 IN-J4410
- Cajones contenedores para conejos provistos por la empresa Tecniplast (Gazzada VA)

4. Instrucciones operativas

4.1 Preparación de Reactivos y Soluciones

No aplicable.

4.2 Preparación de Estándares (o Referencias)

No aplicable

4.3 Preparación de las muestras

Ver adjunto N° 1 "Ejemplo de tabla de preparación de las muestras" según FE y CFR

4.4 Método operativo

4.4.1. DE ACUERDO CON LA FARMACOPEA ITALIANA (FUI) Y EUROPEA (FE)

4.4.2. Animales


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

Página 3 de 27

Después de por lo menos ocho días de cuarentena / aclimatación los conejos se identifican (además del tatuaje impreso en el pabellón auricular) con un número correlativo escrito en el pabellón interno de la oreja u otro sistema considerado apto y posteriormente se los pesa.

Todos los conejos son mantenidos bajo control mediante la redacción de un Registro (ver adjunto N° 3) en el que se especifica lo descrito en el punto 4.5.4.

El registro se actualiza en el laboratorio después de cada prueba y se archiva en el departamento ARC (local 102)

4.4.3. Selección de los animales (selección previa y selección del producto)

La elección de los animales se realiza excluyendo de las pruebas a los conejos que:

1. en la semana anterior hayan perdido masa corpórea. Para verificar la pérdida de masa corpórea los animales se pesan una vez por semana. Las condiciones de comparación (hora, administración de la comida y agua) entre los dos pesajes deben ser las mismas. El animal es considerado apto si entre un pesaje y el otro no pierde más del 10% de su peso, atribuible a una variabilidad fisiológica (heces, orinas, estado de hidratación). Los pesos de los animales se registran mediante el sistema Pharmed.
2. hayan sido utilizados en los tres días anteriores, mientras hayan tenido siempre un resultado negativo;
3. hayan sido utilizados en las tres semanas anteriores en una prueba que haya revelado la existencia de pirógenos;
4. en cualquier prueba sobre los pirógenos en los que el aumento promedio de la temperatura de los animales haya sido superior a 1,2° C (aumento térmico de la tripleta de los conejos mayor a 3,6° C)

En este caso los conejos ya no pueden ser empleados para las pruebas de los pirógenos y se sacrifican o se destinan a otros experimentos (por ejemplo: producción de anticuerpos policlonales).

4.4.4 PRUEBA PREVIA (Selección previa)

Una prueba preliminar con suministro de solución fisiológica estéril apirógena debe ser efectuada de uno a tres días anteriores a la prueba definitiva en los conejos, considerados aptos en el punto 4.4.3, que si bien no fallaron nunca la prueba no fueron utilizados en los catorce días anteriores, con inclusión de los conejos empleados por primera vez en una prueba de pirógenos.

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

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



Método Analítico

 **NOVARTIS**
VACCINES AND
DIAGNOSTICS

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

4.4.5 Preparación de los animales

- El día anterior a la prueba, por lo menos 18 horas antes, los conejos se ponen en ayunas.
- La prueba se realiza en el correspondiente local de tratamiento (habitación 005A Ed. 12A). La diferencia de temperatura entre el animalario de los conejos (habitación 004 Ed. 12A° o habitación 009 Ed. 12A) y el local de tratamiento no debe ser superior a 3° C como lo revela el sistema Pharmalab.
- Los conejos se colocan con el máximo cuidado y delicadeza en los correspondientes contenedores numerados, por lo menos una hora antes de la prueba, y deben permanecer allí durante el tiempo que dure la prueba.
- La sonda para detectar la temperatura del conejo se introduce en el recto con una profundidad de por lo menos 5 cm y se sujeta a la cola del animal con un hilo de plomo u otro sistema considerado apto.
- El número de la sonda, el número y el peso del conejo, la marcha de la prueba, son detectados por el sistema informatizado.

4.4.6 Determinación de la temperatura inicial

En esta fase se obtiene la temperatura rectal de todos los conejos cada 15' por 105' para determinar la temperatura inicial. Pasados los 105' se podrán utilizar todos los animales que:

1. no presenten una variación de temperatura superior a los 0,2° C en dos lecturas consecutivas;
2. cuya temperatura rectal no es inferior a 38° C ni superior a los 39,8° C;


La temperatura inicial del conejo se obtiene del promedio de las lecturas al minuto 75 y al minuto 105.

Si durante la selección para la prueba previa una sonda se sale el conejo debe ser descartado.

4.4.7 Inoculación de la solución fisiológica:

A cada animal se le aplica 10 ml/ kg de solución fisiológica apirógena estéril por vía endovenosa (ver adjunto 4 como ejemplo)

4.4.8 Determinación de la variación de temperatura


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

Página 5 de 27

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

Nº: SOP 201796-33

En esta fase se toma la temperatura cada 30' durante las tres horas posteriores a la inoculación del producto a través del sistema informatizado. La *temperatura máxima* de cada conejo es la temperatura más elevada detectada en dicho lapso de tiempo.

La diferencia entre la *temperatura máxima* y la *temperatura inicial* de un mismo conejo constituye el aumento térmico determinante para la respuesta.

Los conejos que aumentan su temperatura menor o igual a 0,6° C son aptos a la inoculación de la muestra en estudio que deberá ocurrir dentro de los 3 días posteriores (superado dicho período hay que repetir la prueba de detección); los conejos que presentan un aumento térmico superior a los 0,6° C no pueden ser utilizados para la siguiente prueba de los pirógenos.

4.4.9 Limpieza de las sondas rectales


Al finalizar cada sesión (selección previa y selección del producto) las sondas utilizadas se limpian y se desinfectan con desinfectante en uso de acuerdo a SOP 236619

4.4.10 PRUEBA PARA EL PRODUCTO

4.4.11 Preparación del animal

- El día anterior a la prueba por lo menos 18 horas antes, los conejos se ponen en ayunas.
- La prueba se realiza en el correspondiente local de tratamiento (habitación 005A Ed. 12A). La diferencia de temperatura en el animalario de los conejos (habitación 004 Ed. 12A° o habitación 009 Ed. 12A) y el local de tratamiento no debe ser superior a 3° C como lo revela el sistema Pharnalab.
- Los conejos se colocan con el máximo cuidado y delicadeza en los correspondientes contenedores numerados, por lo menos una hora antes de la prueba, y allí deben permanecer durante el tiempo que dure la prueba.
- La sonda para detectar la temperatura del conejo se introduce en el recto con una profundidad de por lo menos 5 cm y se sujeta a la cola del animal con un hilo de plomo u otro sistema considerado apto.
- El número de la sonda, el número y el peso del conejo, la marcha de la prueba, son detectados por el sistema informatizado.

4.4.12 Determinación de la temperatura inicial


Novartis Argentina S.A.
Dr. Lucio Jeroncio
Director Técnico
M.N. 14840


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

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

En esta fase se obtiene la temperatura rectal de todos los conejos cada 15' por 105' para determinar la temperatura inicial. Pasados los 105' se podrán utilizar todos los animales que:

1. no presenten una variación de temperatura superior a los 0,2° C en dos lecturas consecutivas;
2. cuya temperatura rectal no es inferior a 38° C ni superior a los 39,8° C;
3. en el ámbito de la misma terna no presentan temperaturas rectales que difieren entre sí en más de 1° C

La temperatura inicial del conejo se obtiene del promedio de las lecturas al minuto 75 y al minuto 105.

En la prueba definitiva se forman triplas (ternas) de conejos y a cada una de ellas se le inocula el mismo producto.

Si durante la selección una sonda se sale el conejo debe ser descartado.

4.4.13 Inoculación del producto a examinar

El producto, previamente calentado a la temperatura de 37° C ± 2, se inocula lentamente por vía endovenosa en no más de 4 minutos en la vena marginal de la oreja, según las especificaciones del producto que se examina y siempre en un volumen no inferior a los 0,5 ml/ kg y no superior a los 10 ml/ kg de masa corpórea (ver adjunto 4 como ejemplo)

4.4.14 Determinación de la variación de temperatura

En esta fase se toma la temperatura cada 30' durante las tres horas posteriores a la inoculación del producto a través del sistema informatizado. La *temperatura máxima* de cada conejo es la temperatura más elevada detectada en dicho lapso de tiempo.

La diferencia entre la *temperatura máxima* y la *temperatura inicial* de un mismo conejo constituye el aumento térmico determinante para la respuesta.


Si durante la prueba de los pirógenos sobre una muestra una sonda se sale y la temperatura se registra, la prueba queda invalidada.

4.4.15 Limpieza de las sondas rectales

Ver punto 4.4.9

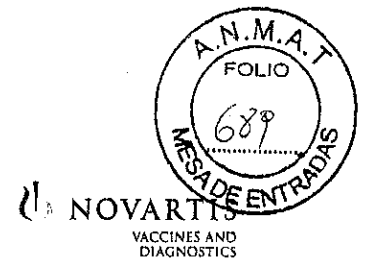
4.4.16 DE ACUERDO CON LA FARMACOPEA NORTEAMERICANA (USP)

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

Método Analítico



Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

Nº: SOP 201796-33

4.4.17 Animales

Ver puntos 4.4.2 y 4.4.3

4.4.18 PRUEBA PREVIO (selección previa)

Una prueba preliminar (selección previa) con suministro de solución fisiológica estéril apirógena debe ser efectuada de uno a siete días previos a la prueba definitiva en los conejos antes de utilizar los conejos por primera vez en una prueba de pirógenos;

No deben ser utilizados los conejos:

1. Más de una vez cada 48 horas.
2. Antes de dos semanas si se detectó un aumento de la temperatura superior a los 0,6° C.
3. Que hayan dado para una prueba un resultado pirógeno.


En este caso los conejos ya no pueden ser empleados para las pruebas de los pirógenos y se sacrifican o se destinan a otros experimentos (por ejemplo: producción de anticuerpos policlonales)

4.4.19 Preparación de los animales

- El día anterior a la prueba por lo menos 18 horas antes, los conejos, considerados aptos de acuerdo al punto 4.4.3, se ponen en ayunas.
- La prueba se realiza en el correspondiente local de tratamiento (habitación 005A Ed. 12A o habitación 009 Ed. 12A) en el que la temperatura debe estar comprendida entre los 20 y 23° C y no debe variar en $\pm 3^{\circ}$ C de la seleccionada.
- Los conejos se colocan con el máximo cuidado y delicadeza en los correspondientes contenedores numerados y deben permanecer allí durante el tiempo que dure la prueba.
- La sonda para detectar la temperatura del conejo se introduce en el recto con una profundidad de por lo menos 7,5 cm y se sujeta a la cola del animal con un hilo de plomo u otro sistema considerado apto.
- El número de la sonda, el número y el peso del conejo, la marcha de la prueba, son detectado por el sistema informatizado.

4.4.20 Determinación de la temperatura inicial


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

Página 8 de 27



Método Analítico

 **NOVARTIS**
VACCINES AND
DIAGNOSTICS

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

En esta fase se obtiene la temperatura rectal de todos los conejos cada 15' por 105' para determinar la *temperatura inicial*. Pasados los 105' se podrán utilizar todos los animales que:

1. cuya temperatura rectal no sea inferior a 38° C ni superior a los 39,8° C;

La *temperatura inicial* del conejo se obtiene del promedio de las lecturas al minuto 75 y al minuto 105.

Si durante la selección para la prueba previa una sonda se sale el conejo debe ser descartado.

4.4.21 Inoculación de la solución fisiológica:

Ver punto 4.4.7

4.4.22 Determinación de la variación de temperatura

En esta fase se toma la temperatura cada 30' durante las tres horas posteriores a la inoculación del producto a través del sistema informatizado. La *temperatura máxima* de cada conejo es la temperatura más elevada detectada en dicho lapso de tiempo.


La diferencia entre la *temperatura máxima* y la *temperatura inicial* de un mismo conejo constituye el aumento térmico determinante para la respuesta.

Los conejos que aumentan su temperatura menor o igual a 0,6° C son aptos a la inoculación de la muestra en estudio que deberá ocurrir dentro de los 7 días posteriores (superado dicho período hay que repetir la prueba de detección); los conejos que presentan un aumento térmico superior a los 0,6° C no pueden ser utilizados para la siguiente prueba de los pirógenos.

4.4.23 Limpieza de las sondas rectales

Ver punto 4.4.9


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


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

Página 9 de 27



Método Analítico



Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

N°: SOP 201796-33

4.4.24 PRUEBA PARA EL PRODUCTO

4.4.25 Selección de los animales

No deben ser utilizados los conejos:

1. Más de una vez cada 48 horas.
2. Antes de dos semanas si se detectó un aumento de la temperatura superior a los 0,6° C.
3. Que hayan dado para una prueba un resultado pirógeno.

En este caso los conejos ya no pueden ser empleados para las pruebas de los pirógenos y se sacrifican o se destinan a otros experimentos (por ejemplo: producción de anticuerpos policlonales).

4.4.26 Preparación de los animales

Ver puntos 4.4.5

4.4.27 Determinación de la temperatura inicial

En esta fase se obtiene la temperatura rectal de todos los conejos cada 15' por 105' para determinar la temperatura inicial. Pasados los 105' se podrán utilizar todos los animales que:

1. cuya temperatura rectal no es inferior a 38° C ni superior a los 39,8° C;
2. en el ámbito de la misma terna no presentan temperaturas rectales que difieren entre sí de más de 1° C

La temperatura inicial del conejo se obtiene del promedio de las lecturas al minuto 75 y al minuto 105.

En la prueba definitiva se forman tripletes (ternas) de conejos y a cada una de ellas se le inocula el mismo producto.

Si durante la selección una sonda se sale el conejo debe ser descartado.

4.4.28 Inoculación del producto a examinar

El producto, previamente calentado a la temperatura de 37° C±2, se inocula lentamente por vía endovenosa en no más de 4 minutos en la vena marginal de la oreja, según las especificaciones del producto que se examina. Como prevé la USP 24 el producto cuando no está especificado por ninguna publicación, debe ser preparado e inoculado de acuerdo a los parámetros indicados en el 21 CFR

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



Método Analítico

Confidencial

Código Interno: CQS 07.034

Nº: SOP 201796-33

4.4.29 Determinación de la variación de temperatura

Ver punto 4.4.14

4.4.30 Limpieza de las sondas rectales

Ver punto 4.4.9

4.5 Criterio de validez del análisis / Evaluación de los resultados

4.5.1. De Acuerdo con la FE

La variación negativa de temperatura se considera como aumento cero y se registra como 0,00. Según la Farmacopea Italiana y Europea la prueba realizada en 3 conejos puede repetirse en otros 3 conejos hasta un máximo de 12.

La prueba resulta positiva cuando la suma de las respuestas de los primeros 3 conejos no supera el valor indicado en la segunda columna de la tabla A. Si la suma de las respuestas está comprendida entre los valores indicados en la segunda y la tercera columna de la tabla A, la prueba debe repetirse / continuarse como se especifica en la presente. Si la suma de las respuestas es superior al valor indicado en la tercera columna el control no es positivo.

TABLA A: SEGÚN FARMACOPEA ITALIANA Y EUROPEA

Cantidad de los conejos	El control es positivo si la suma de las respuestas no supera:	El control es negativo si la suma de las respuestas supera:
3	1,15° C	2,65° C
6	2,80° C	4,30° C
9	4,45° C	5,95° C
12	6,60° C	6,60° C

4.5.2 Evaluación de la respuesta referida al producto Encepur / Botulino

En relación al producto Encepur y Botulino la evaluación de los resultados es la misma de la indicada en el punto 4.5.1 con la diferencia que el formulario de análisis (adjunto) indica en la primera página la leyenda PASS o FAIL.

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. 11621
Apoderado

Página 11 de 27

