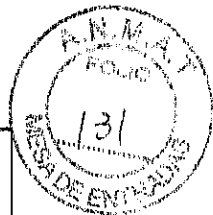


<p>Precisión de Intermediarios</p>	<p>Se evaluaron los datos de los estudios de linealidad, LOD/LOQ, y exactitud.</p>	<p>Para el contenido, pureza, y proporción Ox-Red, deben cumplirse criterios de aceptación para linealidad, LOQ, LOD, y exactitud para un segundo operador.          Para el contenido, RSD <math>\leq</math> 5% (n=6). La diferencia de contenido relativa de Op2 a Op1 es <math>\leq</math> 10,0%.          Para pureza, RSD <math>\leq</math> 10 % para especies individuales cuya área es <math>&gt;</math>0,5% del área total de la proteína recombinante de fusión NHBA, RSD <math>\leq</math> 20% para especies individuales cuya área es <math>\leq</math>0,5% del área total de proteína recombinante de fusión NHBA.          La diferencia de contenido relativa de Op2 a Op1 es <math>\leq</math>5,0%          Para proporción Ox-Red, no se establece criterio de aceptación.</p>	<p>Se cumplieron todos los criterios de aceptación para el contenido y pureza.</p>
<p>Resistencia</p>	<p>La valoración se evaluó por la resistencia de los parámetros operacionales, la estabilidad de muestra, y el número de ciclos de congelamiento/descongelamiento permitibles.</p>	<p>Para automuestreador, estabilidad de muestra, y ciclos de congelamiento/descongelamiento:          Para el contenido, la diferencia relativa porcentual promedio al Tiempo 0 para muestras durante el proceso debe ser 85-115% y la diferencia relativa porcentual promedio al Tiempo 0 para el estándar de referencia debe ser 90-110%. Para pureza, la diferencia relativa porcentual promedio al Tiempo 0 debe ser <math>\leq</math> 10% para muestras durante el proceso y <math>\leq</math> 5% para el estándar de referencia. Para proporción Ox-Red, no se establece criterio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para el contenido y pureza, el estándar de referencia y las muestras durante el proceso pueden almacenarse a 4-8°C en un automuestreador durante hasta 24 horas; las muestras para proporción Ox-Red pueden almacenarse durante hasta 6 horas a 4-8°C.</li> <li>• Las muestras utilizadas para las determinaciones del contenido y pureza pueden almacenarse a 2-8°C durante hasta 72</li> </ul>

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

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





		<p>de aceptación.</p> <p>RSD para el contenido y pureza dentro del mismo tipo de muestra debe ser <math>\leq 5\%</math>.</p>	<p>horas y hasta 24 horas para la proporción Ox-Red</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Para el contenido, pureza, y proporción Ox-Red, las muestras pueden someterse a hasta tres ciclos de congelamiento/descongelamiento, con una excepción. Las muestras UF/DF 1 únicamente pueden congelarse y descongelarse una sola vez.</li> </ul>
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

RSD: Desviación Estándar Relativa; SN: Proporción Señal/Ruido

**Tabla 27 Resultados de Calificación para pH**

<b>Parámetros Probados</b>	<b>Descripción de la Prueba de Validación</b>	<b>Criterios de Aceptación de la Validación</b>	<b>Resultados de la Validación</b>
<p>Precisión de Intermedios</p>	<p>Tres lotes de granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes.</p>	<p>El CV% combinado para cada uno de los tres lotes de la proteína recombinante de fusión NHBA, por dos operadores, tres días diferentes, luego de tiempos de espera a temperatura ambiente de 1, 2, y 4 horas antes de la prueba, deben ser <math>&lt; 3\%</math>.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CV % (combinado): 0,7 para el Lote No. 36438404</li> <li>• CV % (combinado): 0,0 para el Lote No. 36438405</li> <li>• CV % (combinado): 0,7 para el Lote No. 36438406</li> </ul>

CV%: Coeficiente porcentual de variación





**Tabla 28 Resultados de Validación para Método Micro-BCA de Placas de Microtitulación para la Concentración de Proteínas (Sandoz)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	La influencia de los componentes del tampón se evaluó sobre las muestras de la matriz de muestra a partir de homogeneización/solubilización, Cromatografía I, II, y III, UF/DF 1 y 2, y Granel Concentrado.	Sin influencia de los componentes de la matriz.	Sin influencia de los componentes de la matriz.
Linealidad	La linealidad se determinó a partir de las curvas de calibración preparadas para el Estudio de Exactitud.	$r^2 \geq 0,99$	$r^2 = 0,997$ y $0,994$ para curvas de calibración generadas por los Operadores 1 y 2, respectivamente.
Exactitud	Muestras de matriz de homogeneización/solubilización; Cromatografía I, II, y III; e intermedarios de proceso de UF/DF 1 se enriquecieron con la proteína recombinante de fusión NHBA en una concentración, y UF/DF 2/Granel Concentrado en tres concentraciones. Todas las muestras se llevaron a cabo por triplicado.	Recuperación porcentual media 70-130%.	La recuperación promedio osciló de 87-114%.
Repetibilidad	Los resultados del Estudio de Exactitud se evaluaron para Repetibilidad.	CV % < 15%	CV % osciló de 1,3% a 5,2%.
Precisión de Intermedarios	Los resultados del Estudio de Exactitud y Repetibilidad se evaluaron para la Precisión de Intermedarios.	CV % $\leq$ 15% para cada operador; la diferencia porcentual relativa entre ambos operadores $\leq$ 10%.	El CV% más elevado fue 5,2% y 9,4% para los Operadores 1 y 2, respectivamente; la diferencia porcentual relativa -1,7 a

Novartis Argentina S.A.  
 Dr. Lucio Jerončić  
 Director Técnico  
 MN 14846

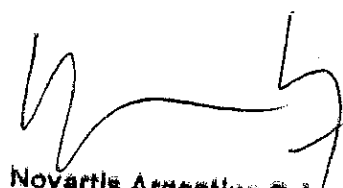
Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Site. de Asuntos Regulatorios  
 Director Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado





				1,1%.	
Rango	El rango se determinó a partir de los resultados de los Estudios de Linealidad, Exactitud, y Precisión.	Establecidos con base en los resultados de linealidad, precisión, y exactitud de la validación.		Osciló de 15-40 µg/ml	
Resistencia	El elaborador del kit ha evaluado el kit para la variación lote a lote en reactivos y materiales de referencia, así como también en sustancias interferentes. Novartis ha evaluado la interferencia de la matriz.	Incluidos como parte de la validación del método.		Se cumplen todos los criterios.	

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

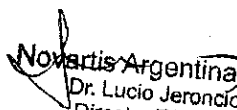
  
 Novartis Argentina S.A.  
 Farm. Sergio Imirtzian  
 Gle. de Asuntos Regulatorios  
 Codirector Técnico - M.N. 11521  
 Apoderado

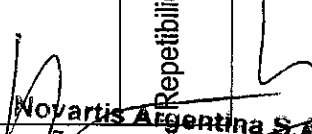




**Tabla 29 Resultados de Validación para el Método Micro-BCA de Tubos de Ensayo para Concentración de Proteínas (Valoración de Novartis)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Una matriz sintética se preparó por triplicado, compuesta por sustancias probablemente interferentes del proceso de elaboración del principio activo, en los peores casos de concentraciones.	Diferencia entre la absorbancia promedio a 562 nm para el blanco y la matriz sintética $\leq 0,0500$ .	La diferencia entre la absorbancia promedio para el blanco y la matriz sintética fue 0,0193.
Linealidad	Seis repeticiones de una curva estándar de BSA de cinco puntos se prepararon y evaluaron para linealidad. Se prepararon seis repeticiones de diluciones seriales de muestra a través de las concentraciones en el rango lineal de valoración.	$r^2 > 0,995$	$r^2 = 0,998$ para el estándar y 0,999 para la muestra.
Exactitud	Muestras de los tres lotes de Granel Concentrado se diluyeron por triplicado a niveles inferiores al punto más bajo sobre la curva estándar, luego se enriquecieron con cantidades variables de BSA o la proteína recombinante de fusión NHBA. Se calculó la recuperación de muestras enriquecidas.	La recuperación porcentual para las muestras de los tres lotes enriquecidos con BSA debería ser 80-120%.	Recuperación porcentual de 95-109%, 95-109%, y 89-107%, para Lotes TRFASEII02, RS21-03-01, y RS21-03-02, respectivamente.
Repetibilidad	Se evaluaron seis repeticiones de un lote único del granel concentrado.	$CV \% \leq 5 \%$ para análisis de seis repeticiones en una sesión analítica única.	$CV \% = 0,6\%$

  
**Novartis Argentina S.A.**  
 Dr. Lucio Jeroncio  
 Director Técnico  
 MN 1484n

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





<p>Precisión de Intermediarios</p>	<p>Parte 1: Tres lotes del granel concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes tres días diferentes. Se evaluó la variabilidad en ciertos parámetros de operación. Parte 2: Muestras de dos lotes se diluyeron a niveles en las partes más bajas y más elevadas de la curva estándar. Se evaluó la variabilidad en ciertos parámetros de operación.</p>	<p>El CV% combinado para los lotes la proteína recombinante de fusión NHBA por operadores múltiples debe ser &lt;7%.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parte 1: CV % (combinado) = 3%, 2%, y 2%, para los Lotes N° TRFASEII02, RS21-03-01, y RS21-03-02, respectivamente.</li> <li>• Parte 2: CV% (combinado) 2% y 4% para los Lotes 36438404 y 36438405, respectivamente.</li> </ul>
<p>Rango</p>	<p>El rango se determinó a partir de los resultados de los Estudios de Linealidad, Precisión, y Exactitud.</p>	<p>Establecidos con base en los resultados de linealidad, precisión, y exactitud de la validación.</p>	<p>Rango de 5-20 µg/ml.</p>
<p>Resistencia</p>	<p>Se llevaron a cabo estudios de resistencia con respecto al tiempo de incubación y a la temperatura de la muestra. 1) Las muestras se incubaron hasta 10 minutos más que los 60 minutos requeridos por el SOP. 2) Las muestras se incubaron a 60 ± 5°C.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La diferencia máxima entre las concentraciones de proteínas de muestra en los tiempos de incubación de 60-65-70 minutos no debería ser mayor que la diferencia máxima para la prueba de precisión de intermediarios para el Lote RS21-03-01 (44.1 µg/ml).</li> <li>• La diferencia máxima entre las concentraciones de proteínas de muestra a las temperaturas de incubación de 55-60-65°C no debería ser mayor que la diferencia máxima para la prueba de</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La diferencia máxima fue de 33,3 µg/ml.</li> <li>• El rango de temperatura se estableció como 58-62°C, con base en los resultados de resistencia y precisión de intermediarios.</li> </ul>

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

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





	precisión de intermediarios para el Lote RS21-03-01 (44,1 µg/ml).
--	-------------------------------------------------------------------

BSA: albúmina de suero bovino; SOP: Procedimiento de operación estándar.

**Tabla 30 Resultados de Validación para la Transferencia del Método Analítico para la Concentración de Proteínas del Método Micro-BCA de Tubos de Ensayo de Novartis a**

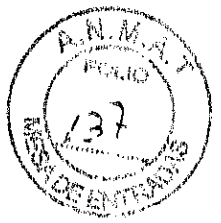
**Sandoz**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de la Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Reproducibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se evaluaron por dos operadores diferentes dos días diferentes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>CV % para ambos operadores en cada laboratorio <math>\leq 7\%</math>, para cada lote.</li> <li>CV % combinado para todos los operadores, en ambos laboratorios <math>\leq 10\%</math>, para cada lote.</li> <li>Valor de <math>p &gt; 0,01</math> para la prueba t de Student para evaluar las diferencias entre las medias de los laboratorios, para cada lote.</li> <li>La diferencia porcentual entre las medias de los laboratorios en comparación con la media total es <math>\leq 10\%</math>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>CV% combinado para dos operadores en el laboratorio de Novartis: 4,7, 4,6, y 4,4%, y para el laboratorio de Sandoz: 0,9, 0,9, y 0,8%, para 36443501, 35443502, y 36443503, respectivamente.</li> <li>CV% combinado: 3,6, 5,3, y 3,9% para los Lotes 36443501, 35443502, y 36443503, respectivamente.</li> <li><math>p = 0,2</math> para el Lote 36443501, <math>p = 0,01</math> para el Lote 35443502, y <math>p = 0,05</math> para el Lote 36443503, respectivamente.</li> <li>diferencia porcentual entre las medias de 2,3, 7,9, y 4,7% para los Lotes 36443501, 35443502, y 36443503, respectivamente.</li> </ul>

El Lote 36443502 no cumplió el criterio de aceptación de  $p > 0,01$  debido a la baja variabilidad del método. En cuanto a los criterios de aceptación, en el caso de insuficiencia del criterio del valor de p, el método se consideró transferido si se satisficieron los criterios para CV % y la diferencia porcentual entre las medias de los laboratorios. Se cumplieron ambos criterios.

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

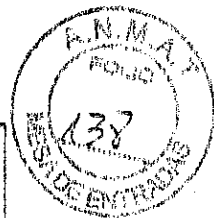
Novartis Argentina S.A.  
Farm. Sergio Imirtzian  
Gte. de Asuntos Regulatorios  
Codirector Técnico - M.N. 11521  
Apoderado





**Tabla 31 Resultados de Validación para Pureza por SDS-PAGE (Valoración de Sandoz)**

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de la Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Matrices de muestra de homogeneización/solubilización, Cromatografía I, II, y III, UF/DF 1 y 2/ Granel Concentrado se enriquecieron con estándar en una concentración.	Las muestras de blanco no mostraron ninguna banda que migrara comparablemente con el estándar. En hileras cargadas con la matriz de muestra enriquecida, una banda principal debe estar visible y la migración debe ser comparable al estándar.	Criterios de aceptación cumplidos.
Linealidad	Se cargaron tres muestras de material estándar en 3 concentraciones.	El coeficiente de correlación ( $r$ ) > 0,950, en el rango de 0,5 a 12 $\mu\text{g}$ .	$r = 0,999$
Exactitud	La muestra se operó en siete diluciones. Las bandas sobre el gel teñido se cuantificaron por densitometría. Los resultados se evaluaron por análisis de regresión lineal.	El coeficiente de correlación ( $r$ ) > 0,950	$r = 0,999$
Límite de Detección (LOD)	Descrito en la Tabla 32.	Evaluados con validación de cuantificación (S/N >5).	LOD = 0,1 $\mu\text{g}$ (Proporción S/N = 17).
Límite de Cuantificación (LOQ)	Descrito en la Tabla 32.	Evaluados con validación de cuantificación (S/N >10).	LOQ = 0,6 $\mu\text{g}$ (Proporción S/N = 100).
Rango	Los resultados del Estudio de Linealidad se evaluaron para determinar el rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 8 (0,6 $\mu\text{g}$ ) a 100% (7,5 $\mu\text{g}$ ) de pureza.



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

