
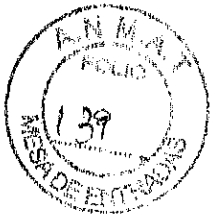


Repetibilidad	La matriz de muestra de UF/DF 2/Granel Concentrado se enriqueció con tres concentraciones de estándar y se analizó por triplicado.	CV % < 10%	CV% osciló de 0,4 a 1,3%.
Precisión de Intermediarios	La matriz de muestra de UF/DF 2/ Granel Concentrado se enriqueció con una concentración de estándar por dos operadores diferentes dos días diferentes.	CV% < 15%	CV% osciló de 0,8 a 2,3%.
Resistencia	Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros tales como estabilidad de solución de parámetros de tinción, variación de geles de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.	Incluidos como parte de la validación del método.	Se cumplen todos los criterios.

S/N: Proporción Señal:Ruido; CV%: Coeficiente porcentual de variación.


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


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



Límite de Cuantificación (LOQ)	Los resultados del estudio de LOD se utilizaron para determinar LOQ.	Proporción S/N del estándar de calibración más bajo > 10.	LOQ = 0,6 µg (Proporción S/N = 100).
Rango	Los resultados de los Estudios de Linealidad y Exactitud se evaluaron para determinar el Rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 0,6 (LOQ) a 2,4 µg.
Repetibilidad	Los resultados del Estudio de Exactitud se evaluaron para Repetibilidad.	CV % < 10% para niveles de concentración media y elevada; CV % < 15% para un nivel de concentración baja.	CV% fue 5%, 8%, y 5%, para 0,8, 1,5, y 2,2 µg, respectivamente.
Precisión de Intermediarios	Los resultados para el Operador 1 del Estudio de Repetibilidad se utilizaron para evaluar la Precisión de Intermediarios (sólo se requirió un operador para llevar a cabo el Estudio de Repetibilidad). Se preparó un segundo grupo de diluciones de la misma manera por un segundo operador otro día.	CV % < 15%	Criterio de Aceptación cumplido para niveles de 1,5 y 2,2 µg ¹ .
Robustness	Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros operacionales tales como tinción, carga de proteínas, estabilidad de solución, variación de gel de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.	Incluidos como parte de la validación del método.	Se cumplen todos los criterios.

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

SN: Proporción Señal/Ruido; CV%: Coeficiente porcentual de variación
 No se cumplieron los criterios de aceptación para el nivel de 0,8 µg. No se presume que esta restricción constituya un problema dado que el uso crítico del método SDS-PAGE es para evaluar muestras en concentraciones de 0,25 mg/ml o mayores. La evaluación de las muestras de fermentación se lleva a cabo únicamente por propósitos de monitoreo del proceso.

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

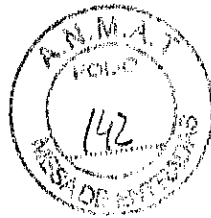


Tabla 33 Resultados de Validación para Pureza por SDS-PAGE (Valoración de Novartis)

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Linealidad	Se prepararon cinco diluciones de Granel Concentrado dentro del rango lineal de la valoración. Las muestras se analizaron por duplicado en tres sesiones analíticas.	El coeficiente de correlación (r^2) $\geq 0,950$.	$r^2 = 0,999, 0,988, \text{ y } 0,995$ para tres sesiones analíticas.
Exactitud	Los resultados del Estudio de Linealidad se evaluaron para determinar la Exactitud.	Recuperación porcentual 80-120%.	Las recuperaciones porcentuales fueron 101, 104, y 98%, para cargas de 4, 8, y 10 μg .
Rango	Los resultados de los Estudios de Linealidad y Exactitud se utilizaron para evaluar el rango.	Deben satisfacerse los criterios para linealidad, exactitud, y precisión.	El rango abarca de 4 a 10 μg , entre 50-120% de la carga nominal.
LOQ	Cinco cargas de 2 μg analizaron por duplicado.	$S/N > 10:1$; $CV \% \leq 10\%$ y diferencia entre la muestra de pureza promedio y el estándar $< 10\%$.	$S/N = 18:1$; $CV\% = 1\%$; diferencia en pureza porcentual del % 4% para una carga de 2 μg .
Repetibilidad	Seis repeticiones de un lote de Granel Concentrado se probaron por un operador sobre dos geles.	$CV \% \leq 5\%$	$CV \% = 0,4\%$
Reproducibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se probaron tres veces por dos operadores de un grupo, y seis veces por un operador de un segundo grupo, en momentos diferentes.	$CV \%$ para pureza e integridad $\leq 10 \%$ para los 12 valores para cada lote probado.	$CV \%$ fue 1,4%, 1,5%, y 2,1% para los Lotes TRFA5E1102, RS21-03-01, y RS21-03-02, respectivamente.
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.	Las muestras blanco y de matriz sintética no deben mostrar bandas que migren en forma comparable con la la proteína recombinante de	Las muestras blanco y de matriz sintética no mostraron ninguna banda que migre comparablemente con el estándar.

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



		<p>Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros operacionales tales como tinción, carga de proteínas, estabilidad de solución, variación de gel de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.</p>	<p>Se cumplieron todos los criterios.</p>
Resistencia	<p>Se llevaron a cabo estudios para evaluar parámetros operacionales tales como tinción, carga de proteínas, estabilidad de solución, variación de gel de lote a lote, y hardware y software del densitómetro.</p>	<p>Incluidos como parte de la validación del método.</p>	<p>Se cumplieron todos los criterios.</p>

CV%: Coeficiente porcentual de variación

Tabla 34 Calificación cruzada de los Métodos de SDS-PAGE de Sandoz y Novartis

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Reproducibilidad	Un operador de cada laboratorio analizó tres muestras por duplicado.	CV % para los 12 valores debe ser < 10%.	CV % para pureza fue 1,79%, 1,96%, y 2,21%, para los tres lotes (36443501, 36443502, y 36443503).


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

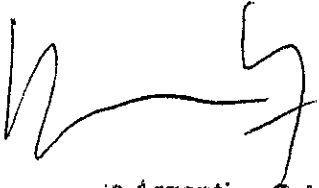

 Novartis Argentina S.A.
 Farm. Sergio Imirtzian
 Gte. de Asuntos Regulatorios
 Codirector Técnico - M.N. 11521
 Apoderado

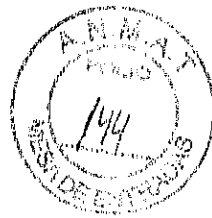


Tabla 35 Resultados de Validación para Pureza por SE-HPLC (Valoración de Sandoz)

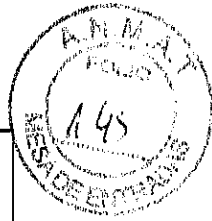
Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Especificidad	Se analizaron las muestras por duplicado de las matrices de muestra de Cromatografía II y III; UF/DF 1 y 2, y Granel Concentrado, así como también el material estándar.	<ul style="list-style-type: none"> No debería haber interferencia de los componentes de la matriz en el tiempo de retención del componente principal de la referencia. El cromatograma para la muestra de Granel Concentrado debe mostrar un pico correspondiente al antígeno de la proteína recombinante de fusión NHBA. La resolución entre el pico principal y el prepico para el estándar de referencia de la proteína recombinante de fusión NHBA $\geq 1,0$. El tiempo de retención del pico principal de la muestra de Granel Concentrado no debe desviarse del tiempo de retención del pico del estándar de referencia en más que $\pm 5\%$. 	<ul style="list-style-type: none"> El pico de la proteína recombinante de fusión NHBA para la muestra de prueba de Granel Concentrado correspondió al estándar del pico de la proteína recombinante de fusión NHBA; no se detectaron picos para la muestra blanco. El pico principal y el prepico se separaron visualmente y la resolución calculada fue de 2,3. Las desviaciones del tiempo de retención del estándar de referencia fueron de 0,34% y -0,75% para cada muestra de prueba duplicada.
Linealidad	Cinco diluciones del estándar de referencia se prepararon por duplicado. El análisis de regresión lineal se llevó a cabo por el uso de áreas de pico.	$r \geq 0,99$	$r = 0,998$


 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



Exactitud	Los resultados del Estudio de Linealidad se utilizaron para determinar la Exactitud.	$r \geq 0,99$, y la intersección "y" $\leq 10\%$ del área de pico para el promedio de los resultados de la inyección de 10 μg .	$r = 0,998$; intersección "y" = -49,1, que corresponde a -22%.
Límite de Cuantificación (LOQ)	Los resultados del Estudio de Linealidad se utilizaron para determinar el LOQ.	Proporción S/N $\geq 10:1$	Proporción S/N= 33-38 para LOQ = 0,1%.
Límite de Detección (LOD)	Las proporciones de Señal/Ruido se evaluaron a partir de seis series de dilución independientes de estándar de referencia inyectadas una por pieza. Cada serie de dilución consistía en seis muestras que oscilaban de 0,2 mg/ml (0,8% de la concentración nominal) a 0,001 mg/ml.	Proporción S/N $\geq 3:1$ el límite de detección (área de pico) debe ser inferior al 5% del área de pico de 20 μg de MenB proteína recombinante de fusión NHBA	Proporción S/N = 27 Área de pico de LOD = 0,1%
Repetibilidad	Cinco diluciones del estándar de referencia se prepararon por triplicado. Cada muestra se inyectó seis veces por el mismo operador.	Valoración: RSD (CV%) para un área de pico $\leq 10\%$.	Valoración: CV % osciló de 1,5 a 5,7%.
Precisión de Intermediarios	La misma muestra se inyecta seis veces por dos operadores dos días diferentes.	<ul style="list-style-type: none"> CV % de la muestra de Granel Concentrado de MenB proteína recombinante de fusión NHBA debe ser $< 2,5\%$ (n = 6). La diferencia de pureza relativa al Operador 1 debe ser $\leq 10\%$. 	<ul style="list-style-type: none"> CV % fue 0,4 y 0,4 para los Operadores 1 y 2, respectivamente. La diferencia promedio porcentual entre los operadores osciló de -1,3 a -0,7.
Rango	Los resultados del Estudio de Linealidad se utilizaron para determinar el rango.	Deben cumplirse los criterios de aceptación para linealidad, exactitud, y precisión sobre el rango de análisis.	El rango abarca de 120% (12 μg) a 25% (2,5 μg).



Resistencia	Las muestras por duplicado de Cromatografía II y III, UF/DF 1 y 2, y Granel Concentrado se probaron durante un período de 72 horas. Se llevaron a cabo estudios para evaluar la reproducibilidad, adecuación del sistema, optimización y estabilidad de tampones, y estabilidad del estándar de referencia tras el descongelamiento.	Estabilidad en el automuestreador: diferencia relativa al Tiempo $0 \leq 5\%$. Llevado a cabo como parte del desarrollo del método por Novartis.	Muestras estables durante 72 horas a 2-10°C, para intermediarios y Granel Concentrado probadas. Método desarrollado.
-------------	---	--	---

CV%: Coeficiente porcentual de variación; RSD: Desviación Estándar Relativa; S/N: Proporción Señal:Ruido


 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

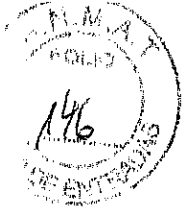


Tabla 36 Resultados de Validación para Pureza por SE-HPLC (Valoración de Novartis)

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Repetibilidad	Un lote de Granel Concentrado se probó por duplicado por un único operador. Se llevaron a cabo seis operaciones de prueba en una sesión analítica única.	CV % calculado para pureza (área %) de un único lote de granel de la proteína recombinante de fusión NHBA probado por duplicado, en seis operaciones de valoración, en la misma sesión analítica, debe ser $\leq 2\%$.	CV % para el Lote RS21-03-01 Lote de granel de la proteína recombinante de fusión NHBA = 0,6 %.
Reproducibilidad	Tres lotes de Granel Concentrado se analizaron en días diferentes por dos operadores de un grupo (tres veces cada uno), y un operador de un segundo grupo (seis veces).	CV % calculado para pureza (área %) para los 12 valores para 3 lotes de granel de la proteína recombinante de fusión NHBA debe ser $\leq 8\%$. Las pruebas se llevaron a cabo por dos técnicos de TD (3 pruebas cada uno) y por un técnico de QC (6 pruebas).	<ul style="list-style-type: none"> • CV% para el Lote TRFASEI02 = 0,7 • CV % para el Lote RS21-03-01 = 1,0 • CV % para el Lote RS21-03-02 = 0,8
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.	La muestra de la matriz no debe mostrar un pico con un tiempo de retención correspondiente al antígeno de la proteína recombinante de fusión NHBA.	<ul style="list-style-type: none"> • El pico de la proteína recombinante de fusión NHBA correspondió al antígeno de la proteína recombinante de fusión NHBA • No se detectaron picos para la muestra blanco. • No se detectaron picos en el tiempo de retención del antígeno de la proteína recombinante de fusión NHBA para la muestra de la matriz.

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

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



