


Tabla 37 Calificación Cruzada de los Métodos SE-HPLC de Sandoz y Novartis

Parámetros Probados	Descripción de la Prueba de Validación	Criterios de Aceptación de la Validación	Resultados de la Validación
Reproducibilidad	<p>En Novartis, se llevaron a cabo seis análisis de tres lotes de Granel Concentrado, por dos operadores (tres análisis por operador), por el uso de dos instrumentos y columnas diferentes, en tres días diferentes.</p> <p>En Sandoz, la valoración se llevó a cabo seis veces por un único operador en una sesión analítica única.</p> <p>Todas las inyecciones se llevaron a cabo por duplicado.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • La identidad se confirma como MenB proteína recombinante de fusión NHBA. • CV % de la muestra de granel concentrado de MenB proteína recombinante de fusión NHBA debe ser $\leq 8\%$ para las 12 repeticiones (resultados combinados de ambos laboratorios) para los tres lotes probados, confirmando la pureza. • La prueba t de Student para los resultados de ambos laboratorios debe ser $< 1\%$ (es decir, $p > 0.01$) 	<ul style="list-style-type: none"> • La identidad se confirma como MenB proteína recombinante de fusión NHBA. • CV % fue 3% para el Lote 36443501 y 36443502, y 2% para el Lote 36443503). • $p = 0,9043$ para el Lote 36443501; $p = 0,9007$ para el Lote 36443502, y $p = 0,6643$ para el Lote 35443503

CV%: Coeficiente porcentual de variación


 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


5) CONSISTENCIA DE LA PRODUCCION

Semilla Maestra

Tabla 38 Análisis de Lote para la Semilla Maestra S816P9MS01

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Resultado
Identidad	Métodos bioquímicos	Positiva	Positivo
Identidad de Antígeno	Western Blot	Positiva	Positivo
Vitalidad (Recuento de colonias)	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\geq 10^8$ CFU/ml	$4,3 \times 10^8$ CFU/ml
Pureza	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Estabilidad segregacional del plásmido ¹	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\leq 10\%$ Km -	8% Km -
Estabilidad estructural del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Electroforesis en gel	Cumple con el estándar (Perfil de fragmento de ADN)	Cumple con el estándar
Secuencia del plásmido	Secuenciación de ADN	Cumple con el estándar (Sin mutación de nucleótidos)	Cumple con el estándar
Número de copia del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Métodos bioquímicos	Resultados del registro (número por bacteria)	13 por bacteria
Bacteriófagos	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Cumple con el estándar (Ausencia de placas líticas)	Cumple con el estándar

CFU: Unidad de Formación de Colonias; Km - : colonias sin plásmido que confiera resistencia a kanamicina

¹ El plásmido segregacional también es conocido como retención del plásmido

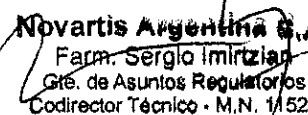
Semilla de trabajo

Tabla 39 Análisis de Lote para la Semilla de Trabajo S816P10WS01

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Resultado
Identidad	Métodos bioquímicos	Positiva	Positivo
Identidad de Antígeno	Western Blot	Positiva	Positivo
Vitalidad (Recuento de colonias)	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	$\geq 10^8$ CFU/ml	$1,1 \times 10^9$ CFU/ml
Pureza	Métodos microbiológicos (Placas de agar)	Ausencia de contaminantes	Ausencia de contaminantes
Número de copia del plásmido	Métodos microbiológicos (Placas de agar)/ Métodos bioquímicos	Resultados del registro (número por bacteria)	11 por bacteria

CFU: Unidad de Formación de Colonias


Novartis Argentina S.A.
 Dr. Lucio Jeroncio
 Director Técnico
 MN 14844


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

Granel concentrado

La información de elaboración general para tres lotes del granel concentrado de la proteína recombinante de fusión NHBA, utilizados en los ensayos clínicos de la Fase III y como lotes de consistencia de procesos, se proporciona en la Tabla 40 a continuación. Las pruebas, especificaciones, y resultados de liberación para los tres lotes del Granel Concentrado a escala completa se proporcionan en la Tabla 41.


Tabla 40 Información de Elaboración General de Fase III/Consistencia para los Lotes de Granel Concentrado de proteína recombinante de fusión NHBA

Purificación/Lotes de Granel Concentrado		
Lote No.	Fecha de Elaboración	Tamaño del Lote (Litros)
36439702	18-May-2007	301,2
36439703	26-May-2007	334,3
36439704	02-Jun-2007	325,2

La información de elaboración general para dos lotes recientes del granel concentrado de la proteína recombinante de fusión NHBA se proporciona en la Tabla 41 más abajo. Las pruebas, especificaciones y los resultados de la liberación para los dos lotes del granel concentrado a escala completa se proporcionan en la Tabla 43.

Tabla 41 Información de Elaboración General para los Lotes de Granel Concentrado de la proteína recombinante de fusión NHBA elaborados en 2012

Purificación/Lotes de Granel Concentrado		
Lote No.	Fecha de Elaboración	Tamaño del Lote (Litros)
B162339	11-Oct-2012	307,2
B162340	17-Oct-2012	304,8


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 42 Pruebas, Especificaciones, y Resultados para los Lotes 36439702, 36439703 y 36439704 de Granel Concentrado de proteína recombinante de fusión NHBA

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Lote 36439702	Lote 36439703	Lote 36439704
Granel Concentrado					
Pureza	SDS-PAGE	≥ 90%	97%	98%	97%
Pureza ¹	SE-HPLC	≥ 65%	82%	81%	79%
Contenido de Proteínas ²	Valoración de Proteínas Totales BCA	500-1100 µg/ml	755 µg/ml	687 µg/ml	690 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
HCP ³	Western Blot	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
HCP/Proteína ⁴	ELISA/cálculo	≤ 200 ppm	< 3 ppm	< 3 ppm	< 3 ppm
Osmolaridad ⁴	Osmometría, punto de congelamiento	600-750 mOsm/kg	696 mOsm/kg	690 mOsm/kg	700 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 IU/µg	< 0,01 IU/µg	< 0,01 IU/µg	< 0,01 IU/µg
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 5 CFU/ml ⁵	0 CFU/ml	0 CFU/ml	0 CFU/ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5	7,0	7,0	7,1
Conductividad	Potenciometría	11.000-14.500 µS/cm	13.760 µS/cm	13.600 µS/cm	13.690 µS/cm
ADN/Proteína ^{3,4}	Sistema de Umbral	≤ 10 pg/µg	< 1 pg/µg	< 1 pg/µg	1 pg/µg
IPTG ^{3,4}	RP-HPLC	≤ 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm
PPG ^{3,4}	HPTLC	≤ 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm	< 10 ppm

BCA: Ácido Bicincoínico; CFU: Unidades de Formación de Colonias; ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; HPTLC: Cromatografía de alto rendimiento en capa fina; HCP: Proteína de las Células Huésped; RP-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento en fase invertida; IU: Unidades Internacionales; mOsm: Mili-Osmoles; µS: Micro-Siemens; ppm: partes por millón; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; SE-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento con exclusión de tamaño

¹ Se ruega notar que, a pedido de las Autoridades de Salud, el término "integridad" se ha reemplazado con "Pureza" para SE-HPLC, en conformidad con las recomendaciones ICHQ6B.

² La prueba de Concentración de Proteínas se llevó a cabo por Novartis por el uso de la valoración de tubo de ensayo. A partir de entonces, el método se ha transferido a Sandoz para prueba de liberación de Granel Concentrado.

³ Con base en los Resultados de Validación de la Depuración, estas pruebas no se llevarán a cabo sobre lotes futuros.

⁴ La prueba se lleva a cabo por cuenta de Novartis Vacunas & Diagnósticos.

⁵ La especificación para Biocarga de ≤ 5 CFU/ml estaba en su lugar al momento de llevarse a cabo la prueba. A partir de entonces, la especificación se ha reducido a ≤ 10 CFU/100 ml para lotes futuros, con base en análisis de datos históricos.

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

Novartis Argentina S.A.
Fam. Sergio Imrtzian
Cte. de Asuntos Regulatorios
Codirector Técnico - M.N. 71521
Apoderado



Tabla 43 Pruebas, Especificaciones, y Resultados para los Lotes B162339 y B162340 de Granel Concentrado de proteína recombinante de fusión NHBA

Prueba	Método de Análisis	Especificación	Lotes	
Granel Concentrado			B162339	B162340
Pureza	SDS-PAGE	≥ 90%	95%	94%
Pureza	SE-HPLC	≥ 70%	84%	84%
Contenido de Proteínas	Valoración de Proteínas Totales BCA	500-1100 µg/ml	621 µg/ml	800 µg/ml
Identidad	Western Blot	Positiva	Positiva	Positiva
HCP/Proteína ¹	ELISA/cálculo	≤ 50 ppm	4 ppm	< 3 ppm
Osmolaridad ¹	Osmometría, punto de congelamiento	600-750 mOsm/kg	652 mOsm/kg	662 mOsm/kg
Endotoxina/Proteína	Prueba cromogénica cinética/cálculo	≤ 0,16 IU/µg	< 0,01 IU/µg	< 0,01 IU/µg
Biocarga	Filtración de membrana	≤ 10 CFU/ml	0 CFU/ 100 ml	0 CFU/100ml
pH	Potenciometría	6,5-7,5	7,1	7,0
Conductividad	Potenciometría	11.000-14.500 µS/cm	12.341 µS/cm	12.917 µS/cm
Proporción Ox-Red	RP-HPLC	Para información solamente (%) ²	85%	87%

BCA: Ácido Bicinonínico; CFU: Unidades de Formación de Colonias; ELISA: Valoración Inmunoabsorbente Vinculada con Enzimas; HCP: Proteína de las Células Huésped; RP-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento en fase invertida; IU: Unidades Internacionales; mOsm: Mili-Osmoles; µS: Micro-Siemens; Proporción Ox-Red: Proporción Oxidación-reducción; ppm: partes por millón; SDS-PAGE: Electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida; SE-HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento con exclusión de tamaño

¹ La prueba se lleva a cabo por cuenta de Novartis Vacunas & Diagnósticos.

² La especificación adecuada se definirá en una fecha futura, una vez elaborado un número suficiente de lotes.

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

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



6) MATERIALES DE REFERENCIA

Estándares o Materiales de Referencia proteína recombinante de fusión NHBA

Todos los estándares de referencia utilizados en los controles en proceso y pruebas de liberación de la proteína recombinante de fusión NHBA se utilizan sólo como controles positivos para evaluar la idoneidad del sistema y no se utilizan para determinar los resultados de la muestra de prueba.

Debe prepararse un protocolo de calificación especialmente dedicado para cada lote nuevo seleccionado para su uso como un estándar de referencia. El protocolo de calificación incluye una comparación con el lote anterior de estándar de referencia y los criterios de aceptación predefinidos relacionados. Un control positivo nuevo debe cumplir con la especificación de liberación del producto, así como los criterios de aceptación específicos definidos. La calificación incluye la evaluación de la idoneidad para su uso en pruebas de liberación y los estudios de estabilidad del Estándar de Referencia. Las pruebas de estabilidad se realizan mediante una nueva verificación contra del protocolo de calificación inicial. Los resultados se presentan en un informe de calificación y se asignan las fechas de caducidad.

Los detalles del Estándar de Referencia de proteína recombinante de fusión NHBA utilizado actualmente, lote B037463, y un resumen de los criterios de aceptación para calificar nuevos estándares de referencia de la proteína recombinante de fusión NHBA para los procedimientos analíticos empleados de Novartis y Sandoz se proporcionan en las Tablas 44 y 45 a continuación.


Siempre que los nuevos estándares de referencia, considerados como controles positivos, se califiquen de acuerdo con los criterios de aceptación descritos, entonces, no se prevén variaciones / modificaciones de la autorización de comercialización.


Table 44 Descripción del Estándar de Referencia de proteína recombinante de fusión NHBA, Lote B037463

Descripción:	Lote de Principio Activo
Número de lote:	B037463
Fecha de fabricación:	17 de Abril de 2010
Fecha de liberación:	24 de Mayo de 2012
Uso del lote:	Comercial
Condiciones de conservación	-20 ± 5° C
Período de vida útil o de nueva prueba	16 de abril de 2015

Tabla 45 Criterios de Aceptación para Validar Nuevos Estándares de Referencia para proteína recombinante de fusión NHBA

Producto	Prueba	Criterio de Aceptación
proteína recombinante	SE-HPLC (Pureza) ¹	El tiempo de retención de cada uno de los 6 replicados del estándar de referencia previo y nuevo debe encontrarse dentro de


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

