

Tabla 20: Contenido proteico del PRP: Validación, exactitud; factor de concentración calculada

Factor de concentración teórica	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
1,4	1,36	1,32	1,40
2,0	1,91	2,00	2,01
2,2	2,27	2,20	2,17
2,4	2,44	2,45	2,41

Se calculan las recuperaciones porcentuales entre los factores de concentración teórica y medida para cada nivel de concentración y para todos los grupos. Se verifica la homogeneidad de las varianzas intraniveles mediante una prueba de Cochran a un nivel de significancia del 5 %. Se demuestra la igualdad de las medias interniveles mediante el análisis de varianza y se calcula la recuperación porcentual media con límites de confianza del 95 %:

Tabla 21: Recuperación porcentual promedio

Recuperación porcentual	Límites de confianza del 95 %
99,4%	[97,7 – 101,2] %

El valor 100 % está dentro de los límites de confianza.

3.4.3 Precisión

Se llevaron a cabo análisis a 2 niveles: un agregado de 5 µg, que es la concentración más baja de la curva estándar, y un agregado de 100 µg, es decir, el 200 % de la especificación.

Para cada lote:

Se analizaron tres grupos en condiciones de precisión intermedia: los análisis se llevaron a cabo de manera independiente utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio y los realizaron 3 operadores en 3 diferentes días.

Dentro de cada grupo, se llevaron a cabo 6 análisis en condiciones que garantizaban la repetibilidad: los análisis se llevaron a cabo de forma independiente utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y los realizó el mismo operador en 3 días consecutivos.

Los datos analizados corresponden al contenido de proteínas presente en la muestra de prueba (%).

- Agregado 5 µg



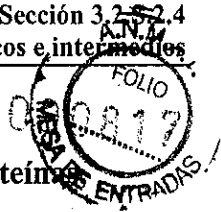


Tabla 22: Contenido proteico del PRP: Validación, precisión; contenido de proteínas agregado de 5 µg (%)

Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Grupo 3 (%)
0,12	0,11	0,11
0,10	0,13	0,12
0,12	0,12	0,11
0,11	0,13	0,11
0,12	0,13	0,11
0,11	0,13	0,11

- Agregado 100 µg

Tabla 23: Contenido proteico del PRP: Validación, precisión; contenido de proteínas, agregado de 100 µg (%)

Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Grupo 3 (%)
1,94	2,16	1,89
1,96	2,21	2,00
2,08	2,03	1,86
1,99	1,96	1,99
1,98	2,09	1,79
1,81	1,94	1,88

Se verifica la homogeneidad de las varianzas intragrupalas mediante una prueba de Cochran a un nivel de significancia del 5 %.

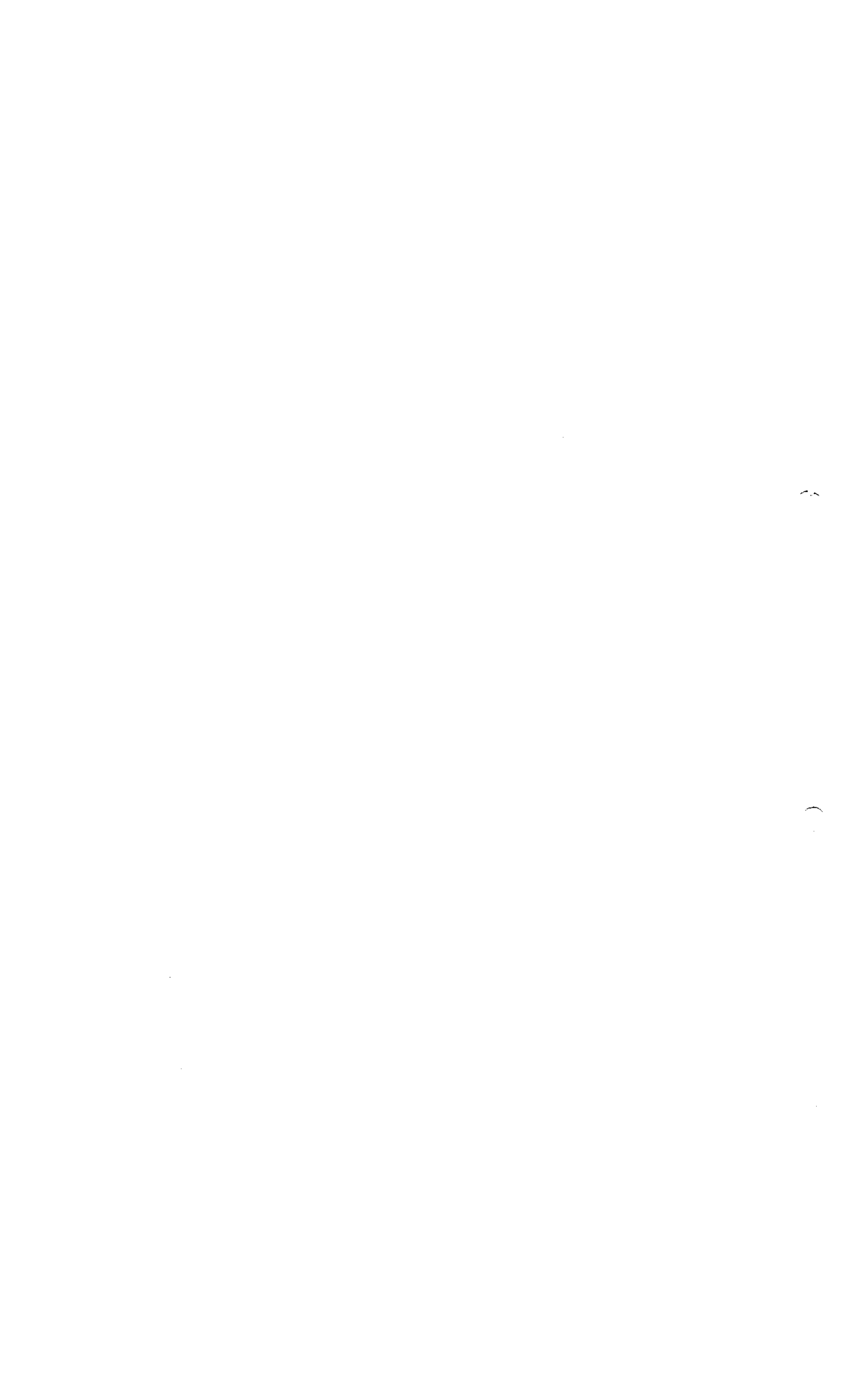
Los parámetros de repetibilidad/precisión intermedia se determinaron utilizando el cálculo de varianzas (varianza de repetibilidad en los grupos completos, varianza intergrupala y varianza de precisión intermedia). Se determinó el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia con la prueba de la t en un nivel de significancia del 5 % con varianzas de repetibilidad e intergrupales.

Las características de repetibilidad y precisión intermedia, así como el intervalo de confianza del 95 % para 1 corrida (1 medición) que se lleva a cabo de la manera habitual, son las siguientes:

- Agregado 5 µg

Tabla 24: Características de repetibilidad y precisión intermedia: Agregado de 5 µg

Características	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad	0,009	7,71%	/
Características de precisión intermedia	0,012	10,27%	± 0,025





- Agregado 5 µg

Tabla 25: Características de repetibilidad y precisión intermedia: Agregado de 100 µg

Características	Desviación estándar	Coficiente de variación	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad	0,093	4,68%	/
Características de precisión intermedia	0,119	6,01%	± 0,251

3.4.4 Límite inferior de cuantificación

Se evaluó a partir del testigo de la reacción.

Los datos analizados corresponden a las densidades ópticas del testigo de la reacción.

Se presentan en la tabla 26.



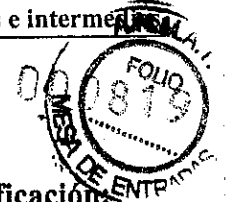
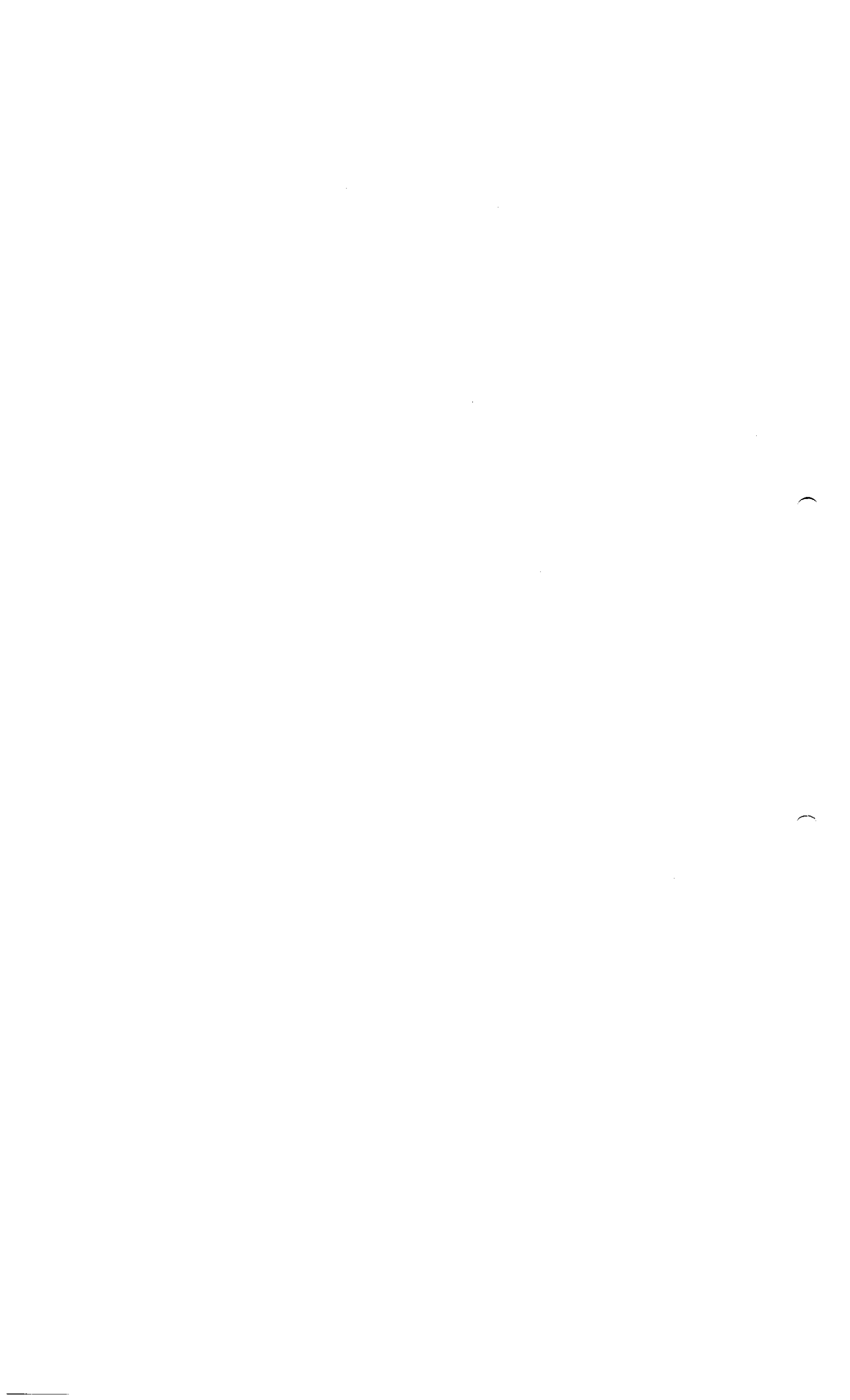


Tabla 26: Contenido de proteína en el PRP: Validación, límite inferior de cuantificación, altura de los picos del testigo

Fecha	Testigo
Día 0	0,0158
Día 4	0,0180
Día 4	0,0159
Día 4	0,0171
Día 4	0,0189
Día 4	0,0252
Día 4	0,0138
Día 4	0,0179
Día 4	0,0204
Día 5	0,0221
Día 5	0,0143
Día 5	0,0146
Día 5	0,0211
Día 6	0,0173
Día 6	0,0168
Día 15	0,0145
Día 18	0,0175
Día 19	0,0148
Día 19	0,0195
Día 19	0,0163
Día 20	0,0155
Día 20	0,0179
Día 20	0,0176
Día 21	0,0204
Día 21	0,0258
Día 21	0,0130
Día 21	0,0238
Día 21	0,0139
Día 22	0,0203
Día 22	0,0177

Se calculó la media y la desviación estándar de las mediciones del testigo (altura de los picos). Se determinó el límite inferior de cuantificación con la fórmula $LC = \text{media de las mediciones del testigo} + 10 * \text{desviación estándar de las mediciones del testigo}$. Se determinó el límite inferior de cuantificación en la concentración con la ecuación de la curva estándar; el resultado obtenido es $LC = 5 \mu\text{g}/\text{TS}$ que es inferior al límite inferior del rango de linealidad ($50 \mu\text{g}/\text{mL}$). Por lo tanto, este último valor se establece como el límite inferior de cuantificación.





3.4.5 Conclusión

El método es lineal en el rango: [0,7 - 2,9] % de proteínas.

Se demuestra la exactitud en el mismo rango, con una recuperación promedio del 99%.

La repetibilidad y la precisión intermedia son aceptables, dado que los coeficientes de variación de la precisión intermedia son de aproximadamente 10 % para el agregado de 5 µg y de 6 % para el agregado de 100 µg. La precisión del procedimiento se considera satisfactoria.

El límite inferior de cuantificación se establece como la concentración más baja de la curva estándar que corresponde a 5 µg/TS.

Este procedimiento es válido para medir las proteínas en el polisacárido conjugado de *Haemophilus* tipo b.

4 Método analítico utilizado durante el proceso de elaboración con propósitos de control

4.1 Contenido de humedad residual del PRP

El contenido de humedad residual del PRP es la suma del contenido de agua y del contenido de disolventes.

4.1.1 Contenido de agua del PRP

Referencia

Esta prueba se realiza de acuerdo con la Ph. Eur. 2.5.32 (método coulombimétrico de Karl Fisher).

Equipos y reactivos

- **Equipo:** equipo estándar de laboratorio; el equipo específico que se utilizará es:
 - balanza de precisión instalada bajo una campana de extracción de gases con flujo permanente de aire seco para garantizar una atmósfera seca. Antes de inyectarlo bajo la campana, el aire se deseca haciéndolo pasar a través de un tamiz molecular higroscópico que contiene un indicador de humedad
 - humedad del aire monitoreada
 - viales y jeringas de suero
 - titulador coulombimétrico y unidad de medición (que típicamente comprende un electrodo generador [ánodo y cátodo], un electrodo indicador doble de platino, un tubo de secado con tamiz molecular para la desecación, un recipiente de reacción, una barra de agitación magnética, un tubo para la entrada de gas [si se utiliza un horno])
- **Reactivos:** formamida al 99 % como mínimo; anolito Hydranal (disponible a nivel comercial); solución o compuesto adecuado para la prueba de validez de la exactitud





Procedimiento

- Preparación y cambio de la unidad de medición: antes de montar la unidad, asegúrese de que las partes de la unidad que se han limpiado estén totalmente secas. Verifique el consumo sin producto; debe ser bajo y estable. Este valor corresponde a la corriente residual que se requiere para mantener las condiciones necesarias para la indicación del criterio de valoración.
- Determinación del contenido de agua: se analizan las siguientes soluciones: solución de control, solución de formamida y solución muestra de polisacárido.
 - Determinación del contenido de agua de la prueba de idoneidad de la exactitud (análisis directo): Realice un análisis directo, es decir, agregue la muestra directamente al reactivo de la celda utilizando el compuesto adecuado, a fin de verificar la exactitud del sistema.
 - Determinación del contenido de agua en la solución de formamida (realice dos determinaciones): al inicio de la titulación, ajuste a 1 minuto el tiempo de homogenización en electrolito. Extraiga 1 mL de formamida con una jeringa. Tare la jeringa llena e inyecte formamida en el recipiente de titulación a través del septa. Pese la jeringa vacía (m_0 en mg). Realice la titulación.
 - Determinación del contenido de agua en la solución muestra (realice tres determinaciones): al inicio de la titulación, ajuste a 1 minuto el tiempo de homogenización en electrolito. Tare un vial de suero, pese aproximadamente 10 mg del PRP sometido a prueba en el vial (m_1 = cantidad exacta de la muestra en mg) y agregue 1 mL de formamida medida con una jeringa. Pese el vial lleno (m_2 en mg). Retire el vial de la balanza, ciérrelo y deje que la muestra se disuelva (2 horas mínimo).

Pese una jeringa vacía. Utilizando la jeringa, extraiga 1 mL de la muestra disuelta en formamida. Tare la jeringa llena. Inyecte el volumen extraído directamente en el recipiente de titulación. Pese la jeringa vacía (m_3 en mg). Realice la titulación.
- Limpieza de la celda: la celda de medición se atasca muy rápidamente con polisacárido disuelto en formamida y se debe vaciar y limpiar después de cada corrida.

Resultados

- Contenido de agua en la formamida (T_f):

$$T_f(\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{\text{agua medida en formamida } (\mu\text{g})}{\text{masa de 1 mL de formamida añadida al recipiente } (m_0 \text{ en mg})}$$

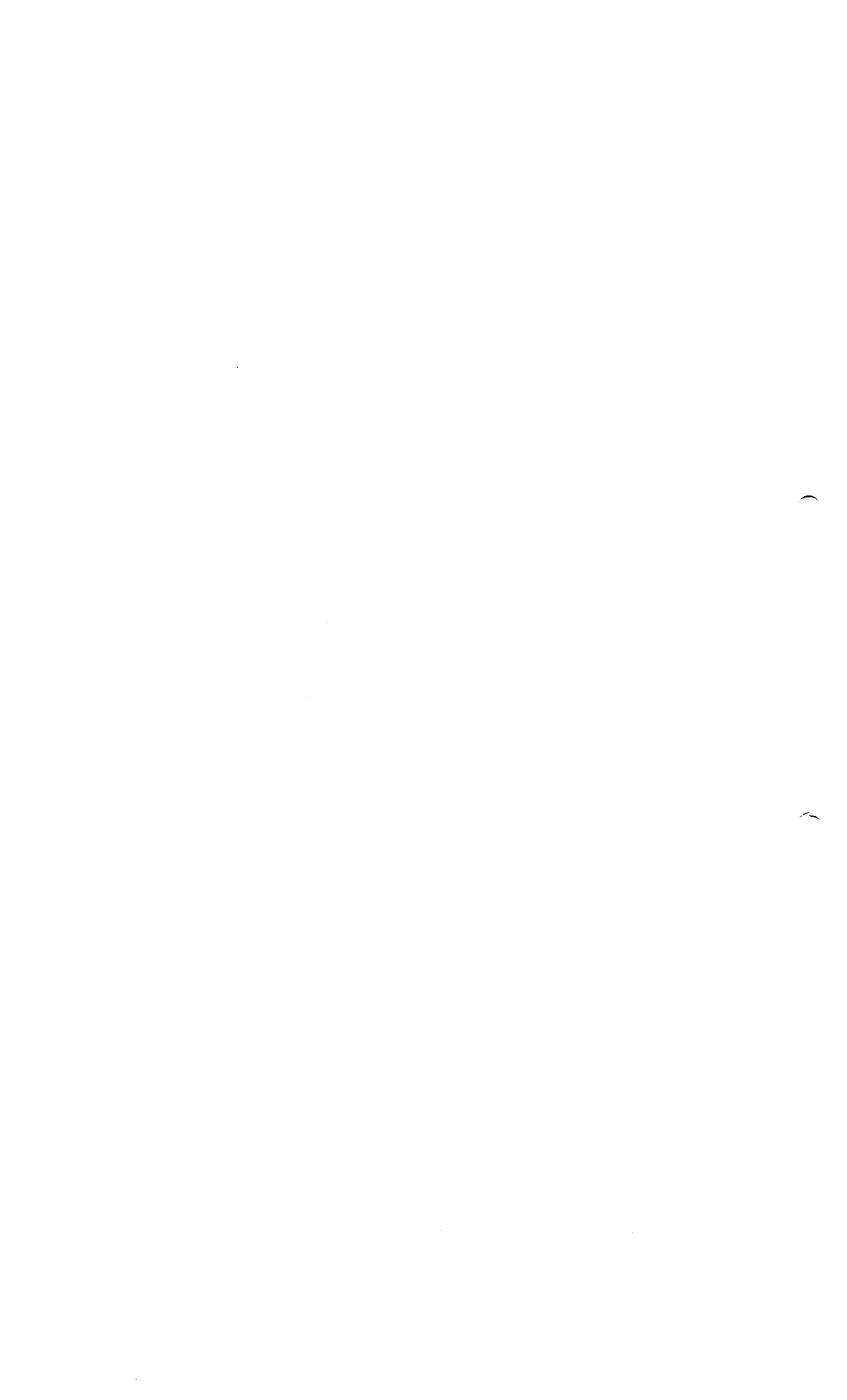
Use la media de 2 determinaciones.

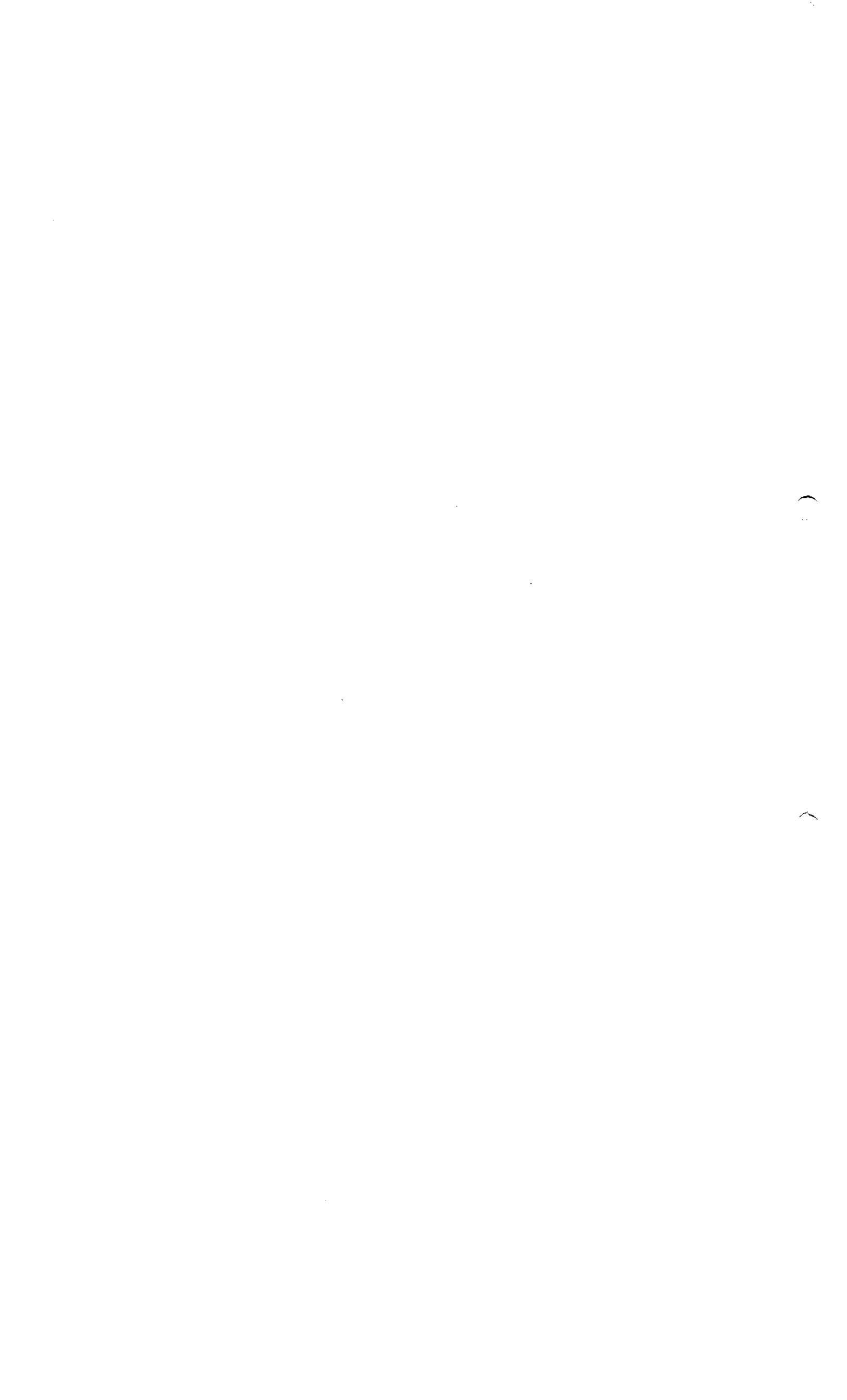
- Humedad residual en la muestra:
 - Masa (m_p) de la muestra añadida al recipiente (en mg):

m_1 = masa de la muestra pesada (mg)

m_2 = masa inicial de la muestra + formamida (mg)

m_3 = masa de la muestra + formamida añadida al recipiente (doble pesaje) (mg)







Soluciones

- **Soluciones estándar:** utilice etanol, acetona y éter pesados con exactitud y de una pureza 99,8 % diluidos en DUW para preparar soluciones primarias y secundarias independientes de concentraciones adecuadas. Agregue con exactitud estas soluciones utilizando pipetas en viales de espacio de cabeza y complete hasta 10 mL con DUW para obtener las concentraciones de cada uno de los disolventes que se muestran en la siguiente tabla. Selle los viales inmediatamente.

Rango		Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5
Etanol*	mg/L	5	10	50	100	200
Acetona*	mg/L	1	5	10	20	50
Éter*	mg/L	0,2	1	5	10	50

* Las concentraciones exactas se deben calcular de acuerdo con el peso exacto

- **Solución de idoneidad del sistema:** utilice etanol, acetona y éter etílico pesados con exactitud y diluidos en DUW para preparar soluciones independientes de las concentraciones adecuadas. Agregue con exactitud estas soluciones utilizando pipetas en viales de espacio de cabeza y complete hasta 10 mL con DUW para obtener las concentraciones de cada uno de los disolventes que se muestran en la siguiente tabla. Selle los viales inmediatamente.

Rango		Solución de control
Etanol*	mg/L	50
Acetona*	mg/L	10
Éter*	mg/L	5

* Las concentraciones exactas se deben calcular de acuerdo con el peso exacto

- **Testigo:** prepare 2 testigos colocando 10 mL de DUW en viales de espacio de cabeza.
- **Muestras:** prepare una solución de 1 mg/mL de solución de PRP pesada con exactitud en DUW. La disolución completa se obtiene después de agitar durante no menos de 2 horas a ± 3 °C con un agitador magnético. Agregue 10 mL de la solución en un vial de espacio de cabeza y séllelo inmediatamente. Duplique.

Procedimiento

- **Condiciones cromatográficas:**
Las condiciones que se mencionan a continuación se pueden modificar dependiendo del equipo utilizado.

Parámetros del muestreador de espacio de cabeza:

- La presión del gas se fija en 24 - 26 psi para el inyector del espacio de cabeza (estas condiciones pueden variar dependiendo del equipo utilizado)
- Temperatura de control de la muestra: 80°C
- Tiempo de control de la temperatura: 60 minutos
- Tiempo de presurización de la muestra: 2 minutos
- Temperatura de la aguja: 85°C
- Tiempo de inyección: 0,08 minutos
- Tiempo de extracción: 0,20 minutos





- Temperatura de la línea de transferencia: 90°C
- Tiempo del ciclo: 10 a 12 minutos (estas condiciones pueden variar dependiendo del equipo utilizado)

Parámetros de la cromatografía de gases:

- Temperatura del inyector: 180°C
- La división de flujo se ajusta automáticamente a 13 mL/min.
- Temperatura del horno: 60 °C durante 10 minutos
- Gas portador: Helio o nitrógeno
- La presión del gas helio o nitrógeno se fija a 17 psi en la columna
- Temperatura de FID: 250 °C
- Gas adicional para FID: hidrógeno y aire para uso médico.

Análisis:

Una secuencia típica incluye la inyección de una solución testigo, soluciones de idoneidad del sistema (que permiten verificar la idoneidad del sistema al comienzo de la secuencia, por lo general con 6 viales), soluciones estándar y soluciones de muestra (2 viales por muestra). Las soluciones de idoneidad del sistema (2 viales) se inyectan durante toda la secuencia analítica, y al final de la misma, para verificar la estabilidad del sistema.

Al final de una corrida, enjuague el sistema y las columnas.

Resultados

Los picos de interés se integran y se utilizan las áreas de los picos. Utilizando la media de los dos rangos, establezca las líneas de calibración $Y = aX + b$, donde $Y = \log$ (área del pico), $X = \log$ (concentración del compuesto examinado); a y b = constantes.

Utilizando la curva de calibración, deduzca la concentración (mg/L) de etanol, éter etílico y acetona en la muestra.

Calcule la concentración en mg/g de cada solvente según la fórmula:

$$Cw/w = \frac{Cw/v * v * d}{m}$$

- Cw/w: concentración de solvente en la muestra (mg/g)
- Cw/v: concentración de solvente en la muestra (mg/mL)
- v: volumen de la muestra disuelta (mL)
- m: peso en la muestra disuelta (mg)
- d: dilución

Criterios de validez

La idoneidad del sistema se define utilizando los siguientes criterios aplicados a las 6 primeras soluciones de idoneidad del sistema:

	Etanol	Éter etílico	Acetona
N: número de placas teóricas	$N \geq 20.000$	$N \geq 20.000$	$N \geq 20.000$
R: resolución	N/A	$\geq 1,5$	$\geq 1,5$
T: factor de coleo	0,8 a 1,5	0,8 a 1,5	0,8 a 1,5





La resolución de un pico se calcula con respecto al pico previo.

El coeficiente de variación de las áreas de las 6 soluciones de idoneidad del sistema al comienzo de la corrida debe ser $\leq 3\%$.

La diferencia relativa de las concentraciones de etanol, éter etílico y acetona de las dos pruebas independientes (puntos del rango, control interno, polvo purificado de polisacáridos) correspondientes a la misma muestra debe ser menor o igual al 10 %.

El coeficiente de correlación de la curva de calibración debe ser mayor o igual a 0,995.

Los valores observados de los solventes para las soluciones de idoneidad del sistema inyectadas antes o después de la muestra (media de las dos pruebas dependientes) debe estar dentro de los límites de $\pm 10\%$ del valor teórico.

4.2 Validación

La humedad residual del PRP corresponde a un cálculo en el que se utiliza el contenido de agua del PRP mediante el método de Karl Fisher y el contenido de solventes residuales mediante cromatografía de fase gaseosa. En consecuencia, los datos de validación que se presentan en esta sección incluyen métodos para determinar el contenido de agua y los solventes residuales.

4.2.1 Contenido de agua

Como el procedimiento de medición del contenido de agua del PRP mediante coulumbimetría según el método de Karl Fisher es un método instrumental, la única característica de la validación que se ha estudiado es la precisión, en cuanto a repetibilidad y precisión intermedia. También se realizó un estudio de robustez en relación con el orden de posición de las muestras. En la tabla 27 que aparece a continuación se presenta un resumen de la validación.

Tabla 27: Contenido de agua del PRP: Validación, resumen

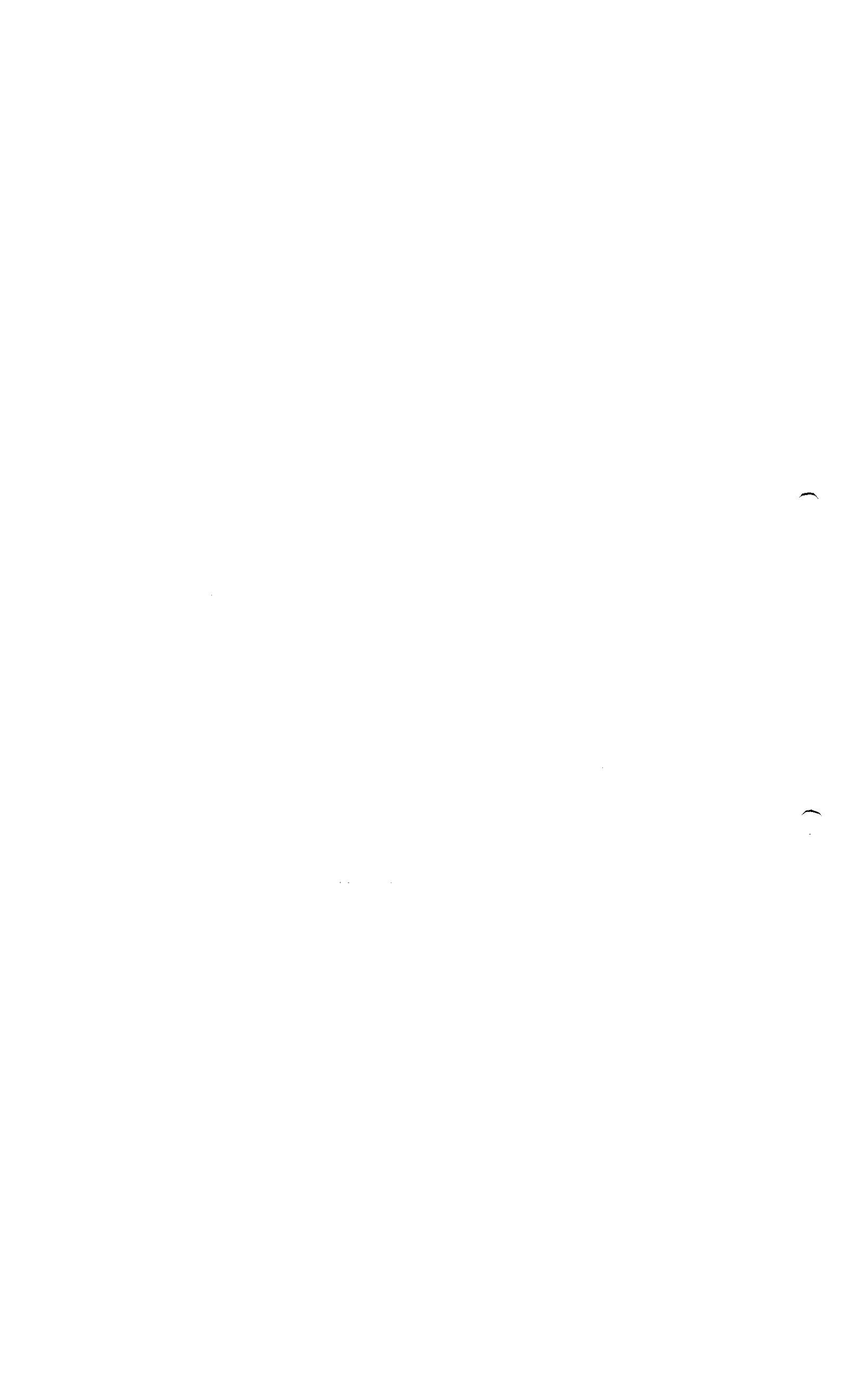
Característica	Criterio de aceptación	Resultado
Precisión	Coefficiente de variación de la precisión intermedia $\leq 20\%$	Los parámetros de repetibilidad y precisión intermedia son iguales a: - Coeficientes de variación: 8,3% - Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para una corrida con una determinación realizada de la manera habitual: $\pm 1,6\%$
Robustez	Sin diferencias significativas entre la primera determinación y la segunda.	Se observa una diferencia significativa entre las dos determinaciones: el valor obtenido para la segunda determinación es significativamente mayor que el valor obtenido para la primera determinación





4.2.2 Contenido de solventes residuales

El contenido de los tres solventes residuales (etanol, éter y acetona) en el PRP se analizó mediante el método de cromatografía de gases, que se describe en el capítulo 4.1.2. Como el método es un análisis cuantitativo, las características estudiadas fueron especificidad, límite de detección, linealidad, exactitud, precisión y límite inferior de cuantificación. La precisión se evaluó sólo con la precisión intermedia, porque la duración del análisis no permite un estudio en condiciones de repetibilidad.





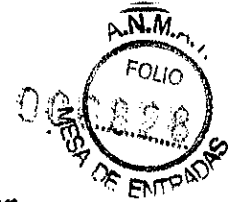
4.2.2.1 Análisis del etanol

En la tabla 28 que aparece a continuación se presenta un resumen de la validación.

Tabla 28: Contenido de disolventes residuales en el PRP: análisis de etanol; validación, resumen

Características	Criterios de aceptación	Resultados									
Especificidad	La muestra testigo no da una respuesta cuantificable En la muestra no hay ningún pico cromatográfico de un componente que pueda interferir con el pico característico de la acetona	La muestra testigo no produce un pico cromatográfico que pueda interferir con el pico del etanol. La muestra no contiene ningún componente que pueda interferir con el etanol.									
Linealidad	Significancia de la pendiente: $P_{linealidad} < 0,01$ No hay desviación de la linealidad: $P_{desviación\ de\ la\ linealidad} > 0,05$	$P_{linealidad} < 0,0001$; $P_{desviación\ de\ la\ linealidad} = 0,001$ Después del ajuste lineal en una escala logarítmica-logarítmica de $Y = \log$ cantidad medida con respecto a $X = \log$ cantidad log teórica de la acetona, se destaca la siguiente relación: $Y = -0,0004 + 1,0006 \cdot X$ Coeficiente de correlación lineal $r = 0,9999$ con 16 grados de libertad Intervalo de linealidad: [5,0 – 173,9] mg/L de etanol en la solución de PRP									
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los 6 niveles teóricos de agregado se encuentra entre el 75 % y el 125 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: Concentración teórica 5,23: 101,86 % Concentraciones teóricas de 10,46 a 124,59: 99,40 % [98,82 – 99,98] % Concentración teórica 164,59: 102,55%									
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para el PRP sin agregados y para el polvo agregado (10 mg/L de etanol) es $\leq \times$; 1,20 Las varianzas de la precisión intermedia para el PRP sin agregados y para el PRP con agregados (10 mg/L de etanol) son homogéneas.	Los parámetros de la precisión intermedia son iguales a:									
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Solución</th> <th>Varianza</th> <th>Intervalo de confianza del 95 %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PRP sin agregados</td> <td>0,000011</td> <td>$\pm 0,009$ que corresponde a $\pm 1,02$ en notación aritmética</td> </tr> <tr> <td>PRP con agregados (10 mg/L de etanol)</td> <td>0,000019</td> <td>$\pm 0,011$ que corresponde a $\pm 1,03$ en notación aritmética</td> </tr> </tbody> </table>	Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %	PRP sin agregados	0,000011	$\pm 0,009$ que corresponde a $\pm 1,02$ en notación aritmética	PRP con agregados (10 mg/L de etanol)	0,000019	$\pm 0,011$ que corresponde a $\pm 1,03$ en notación aritmética
		Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %							
PRP sin agregados	0,000011	$\pm 0,009$ que corresponde a $\pm 1,02$ en notación aritmética									
PRP con agregados (10 mg/L de etanol)	0,000019	$\pm 0,011$ que corresponde a $\pm 1,03$ en notación aritmética									
Las varianzas de la precisión intermedia para el PRP sin agregados y para el PRP con agregados (10 mg/L de etanol) son homogéneas.											
Límite de detección	La proporción señal-ruido es ≥ 3	$m_{señal/ruido} = 3,72$ y $LD = 2$ mg/L de solución de PRP									
Límite inferior de cuantificación	La proporción señal-ruido es > 10	$m_{señal/ruido} = 11,90$ y $QL = 6$ mg/L									
	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación es $\leq \times$; 1,20	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación de 6 mg/L es: $CI_R = \pm 0,016$ que corresponde a $\pm 1,04$ en forma aritmética.									



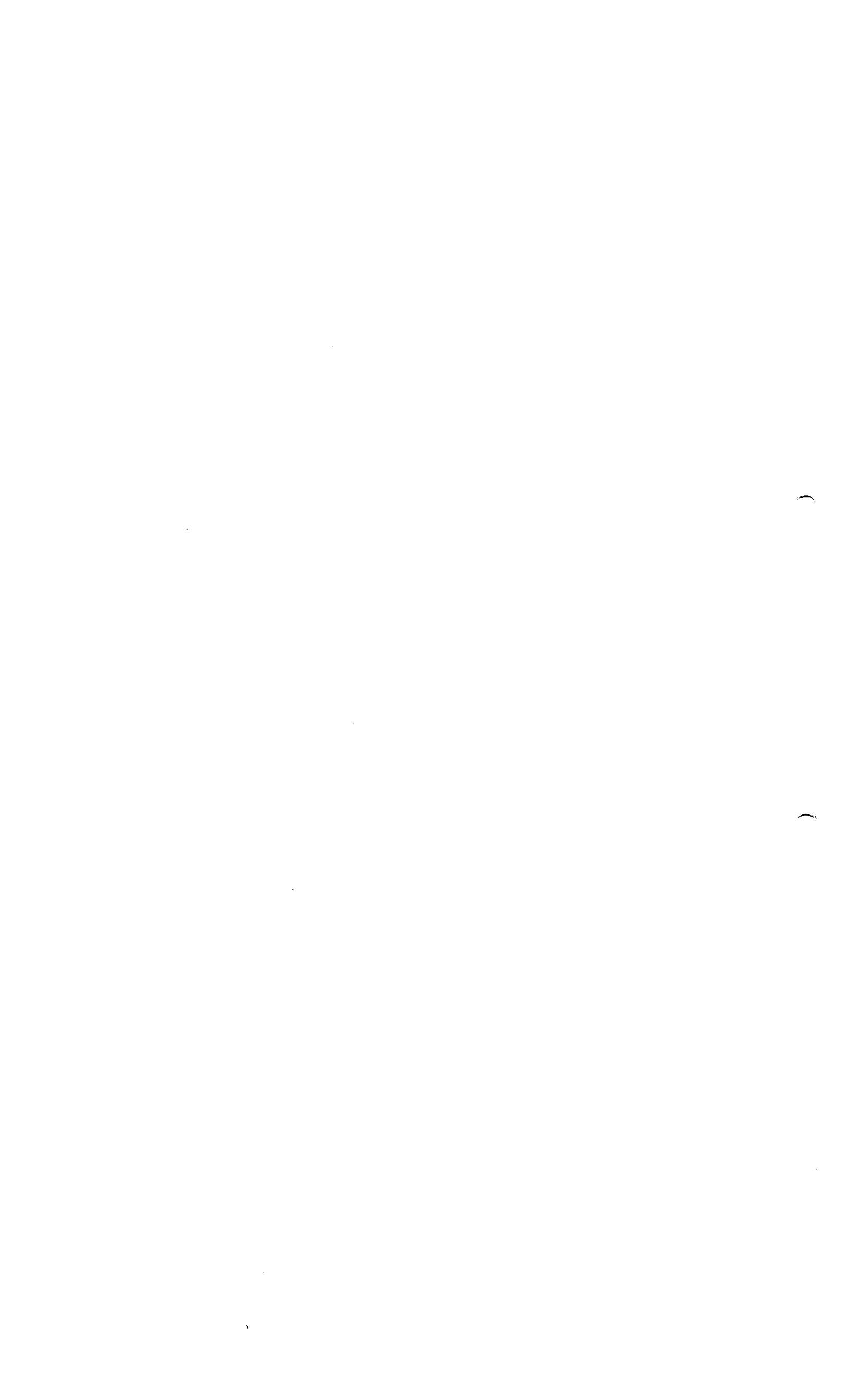


4.2.2.2 Análisis de acetona

En la tabla 29 que aparece a continuación se presenta un resumen de la validación.

Tabla 29: Contenido de solventes residuales en el PRP: Análisis de acetona; validación, resumen

Características	Criterios de aceptación	Resultados									
Especificidad	La muestra testigo no da una respuesta cuantificable En la muestra no hay ningún pico cromatográfico de un componente que pueda interferir con el pico característico de la acetona	La muestra testigo no produce un pico cromatográfico que pueda interferir con el pico de la acetona. La muestra no contiene ningún componente que pueda interferir con la acetona.									
Linealidad	Significancia de la pendiente: $P_{\text{linealidad}} < 0,01$ No hay desviación de la linealidad: $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$; $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,91$ Después del ajuste lineal en una escala log-log de Y = cantidad medida con respecto a X = cantidad teórica de acetona, se encuentra la siguiente relación: $Y = -0,0145 + 0,9814 \cdot X$ Coeficiente de correlación lineal $r = 0,9997$ con 19 grados de libertad Intervalo de linealidad: [0,976 – 11,087] mg/L de acetona en la solución de PRP									
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los 7 niveles teóricos de agregado se encuentra entre el 75 % y el 125 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: 102,0% [100,7% - 103,3%]									
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es $\leq \times 1,20$ para el polvo sin agregados y para el polvo con un agregado de 2,5 mg/L de acetona. Las varianzas de la precisión intermedia para el polvo sin agregados y para el polvo con un agregado de 2,5 mg/L de acetona son homogéneas.	Los parámetros de la precisión intermedia son iguales a: <table border="1"> <thead> <tr> <th>Solución</th> <th>Varianza</th> <th>Intervalo de confianza del 95 %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PRP sin agregados</td> <td>0,000053</td> <td>$\pm 0,019$ que corresponde a $\times 1,04$ en notación aritmética</td> </tr> <tr> <td>PRP con un agregado de 2,5 mg/L de acetona</td> <td>0,000111</td> <td>$\pm 0,027$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética</td> </tr> </tbody> </table> Las varianzas de la precisión intermedia obtenidas para el PRP sin agregados y para el PRP con un agregado de 2,5 mg/L de acetona son homogéneas.	Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %	PRP sin agregados	0,000053	$\pm 0,019$ que corresponde a $\times 1,04$ en notación aritmética	PRP con un agregado de 2,5 mg/L de acetona	0,000111	$\pm 0,027$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética
Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %									
PRP sin agregados	0,000053	$\pm 0,019$ que corresponde a $\times 1,04$ en notación aritmética									
PRP con un agregado de 2,5 mg/L de acetona	0,000111	$\pm 0,027$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética									
Límite de detección	La proporción señal-ruido es ≥ 3	$m_{\text{Señal/ruido}} = 4,21$ y $LD = 0,4$ mg/L									
Límite inferior de cuantificación	La proporción señal-ruido es ≥ 10 El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación es $\leq \times 1,20$	$m_{\text{Señal/ruido}} \text{ informe} = 10,41$ y $LC = 1,0$ mg/L El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación de 1,0 mg/L es: $IC_R = \pm 0,049$ que corresponde a $\times 1,12$ en forma aritmética.									





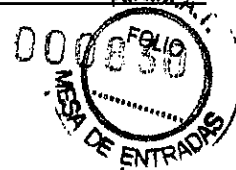
4.2.2.3 Análisis del éter

En la tabla 30 que aparece a continuación se presenta un resumen de la validación.

Tabla 30: Contenido de disolventes residuales en el PRP: contenido de éter; validación, resumen

Características	Criterios de aceptación	Resultados									
Especificidad	La muestra testigo no da una respuesta cuantificable En la muestra no hay ningún pico cromatográfico de un componente que pueda interferir con el pico característico del éter dietílico	El testigo no produce un pico cromatográfico que pueda interferir con el pico del éter dietílico. La muestra no contiene ningún componente que pueda interferir con el éter dietílico.									
Linealidad	Significancia de la pendiente: $P_{\text{linealidad}} < 0,01$ No hay desviación de la linealidad: $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$; $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,053$ Después del ajuste lineal en una escala log-log de Y = cantidad medida con respecto a X = cantidad teórica de acetona, se encuentra la siguiente relación: $Y = -0,0632 + 1,0101 \cdot X$ Coeficiente de correlación lineal $r = 0,9997$ con 19 grados de libertad Intervalo de linealidad: [1,75 – 11,19] mg/L de éter dietílico en la solución de PRP.									
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los 7 niveles teóricos de agregado se encuentra entre el 75 % y el 125 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: 87,2% [85,8% - 88,6%]									
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es $\leq \times 1,20$ para el polvo sin agregados y para el polvo con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico. Las varianzas de la precisión intermedia para el polvo sin agregados y para el polvo con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico son homogéneas.	Los parámetros de la precisión intermedia son iguales a: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Solución</th> <th>Varianza</th> <th>Intervalo de confianza del 95 %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PRP sin agregados</td> <td>0,000099</td> <td>$\pm 0,026$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética</td> </tr> <tr> <td>PRP con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico</td> <td>0,000073</td> <td>$\pm 0,022$ que corresponde a $\times 1,05$ en notación aritmética</td> </tr> </tbody> </table> Las varianzas de la precisión intermedia obtenidas para el polvo sin agregados y para el polvo con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico son homogéneas.	Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %	PRP sin agregados	0,000099	$\pm 0,026$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética	PRP con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico	0,000073	$\pm 0,022$ que corresponde a $\times 1,05$ en notación aritmética
Solución	Varianza	Intervalo de confianza del 95 %									
PRP sin agregados	0,000099	$\pm 0,026$ que corresponde a $\times 1,06$ en notación aritmética									
PRP con un agregado de 2,5 mg/L de éter dietílico	0,000073	$\pm 0,022$ que corresponde a $\times 1,05$ en notación aritmética									
Límite de detección	La proporción señal-ruido es ≥ 3	$m_{\text{Señal/ruido}} = 3,12$ y $LD = 0,02$ mg/L									
Límite inferior de cuantificación	La proporción señal-ruido es ≥ 10 El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación es $\leq \times 1,20$	$m_{\text{Señal/ruido informe}} = 10,13$ y $LC = 0,04$ mg/L El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia en el límite inferior de cuantificación de 0,04 mg/L es: $IC_R = \pm 0,050$ que corresponde a $\times 1,12$ en forma aritmética.									





5 Análisis de lotes

Los resultados obtenidos para las pruebas de control de calidad realizadas en 3 lotes industriales recientes del polisacárido (PRP) de *Haemophilus* tipo b se presentan en la tabla 31 (con fecha de elaboración).

Tabla 31: Resultados de los análisis de lotes de polisacárido de *Haemophilus* tipo b

Pruebas	Criterios de aceptación	FA363321 04 sep 2009	FA363635 08 oct. 2009	FA365093 05 nov. 2009
Contenido de fósforo	7,5 % - 9,4 %	7,93	8,48	8,25
Contenido de ribosa	≥ 35 %	39,6	40,1	40,5
Contenido proteico	≤ 1,0 %	< 0,13	< 0,12	< 0,12
Contenido de ácidos nucleicos	≤ 1,0 %	0,11	0,10	0,11
Contenido de endotoxinas bacterianas	< 10 UI/μg de polisacáridos	0,45	0,50	1,99
Distribución del tamaño molecular: - mediante HP-SEC: Determinación de K_D	$K_D \leq 0,31$	0,23	0,25	0,25
Prueba de identificación de <i>Haemophilus</i> b	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur. (Δ temperatura ≤ +1,15 °C en el análisis de 3 conejos)	(0,19-0,00-0,42) 0,50	(0,24-0,03-0,28) 0,55	(0,06-0,02-0,15) 0,22

