

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
0,555	0,553	0,557
0,560	0,555	0,550
0,557	0,554	0,549

Se verifica la homogeneidad de las varianzas intragrupalas mediante una prueba de Cochran a un nivel de significancia del 5 %. Los parámetros de repetibilidad y 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, y el intervalo de confianza del 95 % para 1 medición se encuentran en la tabla 29.

**Tabla 29: Características de repetibilidad y precisión intermedia**

Características	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad	0,0032	0,58%	/
Características de precisión intermedia	0,0041	0,75%	± 0,0087

El intervalo de confianza de la precisión intermedia es inferior a 0,04.

### 3.5.2 Conclusión

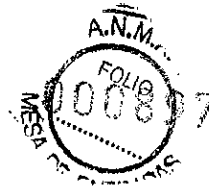
Se valida la precisión del método, dado que los coeficientes de variación de repetibilidad y precisión intermedia son de alrededor del 0,58 % y 0,75 %, respectivamente, y el intervalo de confianza de la precisión intermedia es de ±0,009 para 1 corrida.

El método para determinar la distribución del tamaño molecular ( $K_D$  del polisacárido) en el PRP-AH mediante HP-SEC y detección UV es válido.

### 3.6 Identificación de *Haemophilus* tipo b

El método para la identificación de *Haemophilus* tipo b en el PRP por el método de Ouchterlony se proporciona en el capítulo 2.2.1. La validación del PRP-AH queda cubierta con la validación que se presenta en esta sección.





#### 4 Análisis de lotes

Los resultados obtenidos de las pruebas de control de calidad realizadas en 3 lotes industriales recientes de polisacárido-AH activado de *Haemophilus* se presentan en la tabla 30.

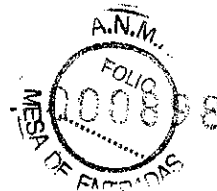
**Tabla 30: Resultados de los análisis de lotes para el polisacárido-AH activado de *Haemophilus***

Pruebas	Criterios de aceptación	FA373510* 12 dic. 2009	FA376923* 23 ene 2010	FA377119* 27 ene 2010
Contenido de cianuro residual (análisis cuantitativo†)	≤ 5 µg/mL	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Contenido de polisacárido (contenido de fósforo)	Para calcular el porcentaje de ADH unida al polisacárido	11,5 mg/mL	11,6 mg/mL	11,6 mg/mL
Porcentaje de ADH unida a polisacárido: - obtenido con ADH libre mediante HPLC	1,8 - 2,9%	2,56	2,60	2,61
Proporción ADH libre/ADH total: - obtenido con ADH libre mediante HPLC	< 0,1	0,043	0,039	0,029
Distribución del tamaño molecular mediante HPSEC - $K_D$ del polisacárido	$0,50 \leq K_D \leq 0,61$	0,55	0,56	0,56
Prueba de identificación de <i>Haemophilus</i> tipo b	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

\* Estos 3 lotes de PRP-AH se han elaborado a partir de los 3 lotes industriales de PRP analizados en la sección anterior: FA363321, FA363635 y FA365093.

† Método analítico vigente en el momento de los análisis de lotes. Este método analítico se describe en el capítulo 8.3.





## 5 Justificación de las especificaciones

Las pruebas se llevan a cabo de acuerdo con la Ph. Eur., monografía 1219.

- Contenido de cianuro residual

De acuerdo con los requisitos de la Ph. Eur. 1219, se evalúa el contenido de cianuros residuales, como parte de los reactivos residuales, para asegurar la eliminación del bromuro de cianógeno, un reactivo utilizado para el proceso de conjugación. El criterio de aceptación (menos de 5 µg por mL de PRP-AH, correspondiente a menos de 5 ng por dosis de vacuna que contiene 10 µg de polisacárido) se encuentra por debajo de los límites de tolerancia establecidos por los estudios toxicológicos (la LD50 en roedores por vía oral es igual a 5-10 mg/kg para el cianuro de potasio y a 6,4-15 mg/kg para el cianuro de sodio).

- Contenido de fósforo

Se determina el contenido de fósforo para calcular el contenido de polisacárido según se describe en la Ph. Eur.

- Contenido de polisacárido

El contenido de polisacárido se utiliza para calcular el porcentaje de ADH unida a polisacárido según se describe en la Ph. Eur.

- Porcentaje de ADH unida a polisacárido

Se monitorea el porcentaje de ADH unida a polisacárido como un indicador de la uniformidad de la producción, con el fin de verificar la calidad de la unión entre ADH y PRP. Se estableció el criterio de aceptación (1,8 - 2,9 %) mediante un estudio estadístico de los resultados de 118 lotes industriales, teniendo en cuenta la capacidad analítica y el proceso. La evaluación estadística consistió en calcular los límites de tolerancia después de verificar la normalidad. Los límites de tolerancia fueron del 1,85 % al 2,88 %, con un porcentaje medio de ADH unida a polisacárido obtenido del 2,36% y una desviación estándar de 0,171.

- Proporción ADH libre/ADH total

Se monitorea el grado de unión de la ADH como un indicador de la uniformidad de la producción, con el fin de verificar la calidad de la unión entre ADH y PRP. La especificación se definió durante el desarrollo del producto.

- Distribución del tamaño molecular: (coeficiente de partición  $K_D$ )

El tamaño molecular del PRP-AH es un parámetro importante para la calidad del producto terminado. Se establecen límites bilaterales con el fin de verificar que el PRP-AH tiene un tamaño molecular adecuado para la operación de unión.

Los criterios de aceptación iniciales estuvieron relacionados con el método inicial (porcentaje de polisacárido eluido antes de  $K_D$  de 0,20 inferior o igual al 15 % y  $K_D$  incluido entre 0,40 y 0,60, determinado mediante LP-SEC y contenido de fósforo). Esto se definió durante el desarrollo del producto.





## 6 Sistema de cierre del envase

La composición del sistema de cierre del envase para los intermedios almacenados se detalla en la tabla 31.

**Tabla 31: Composición del sistema de cierre del envase para el almacenamiento de los intermedios**

Producto	Sistema de cierre del envase
Polisacárido AH de <i>Haemophilus</i> activado	Envase de vidrio con tapón de goma

