



3.3 Contenido de fósforo

El método para la prueba límite del contenido de fosfatos usando el método de Chen para el fósforo de la CTP se describe en el capítulo 2.2. Dado que el procedimiento corresponde a un análisis límite, la única característica estudiada fue el límite de detección. Se presenta un resumen de la validación en la tabla 13.

Tabla 13: Contenido de fósforo en CTP: Resumen de validación

Características	Criterio de aceptabilidad	Principio
Límite de detección (DL)	La densidad óptica media para la proteína adicionada debe ser estadísticamente superior o igual a la densidad óptica media del control positivo (usando la prueba de la t a un nivel de significancia del 5 %).	La densidad óptica medida para la proteína adicionada es estadísticamente superior a la densidad óptica obtenida para el control positivo. DL= 1 µg de fósforo por mL de solución de CTP

3.3.1 Límite de detección

El límite de detección se evaluó en 6 análisis. Dos operadores realizaron los análisis de manera independiente. Cada operador realizó 3 análisis independientes en un día, con un espectrofotómetro diferente.

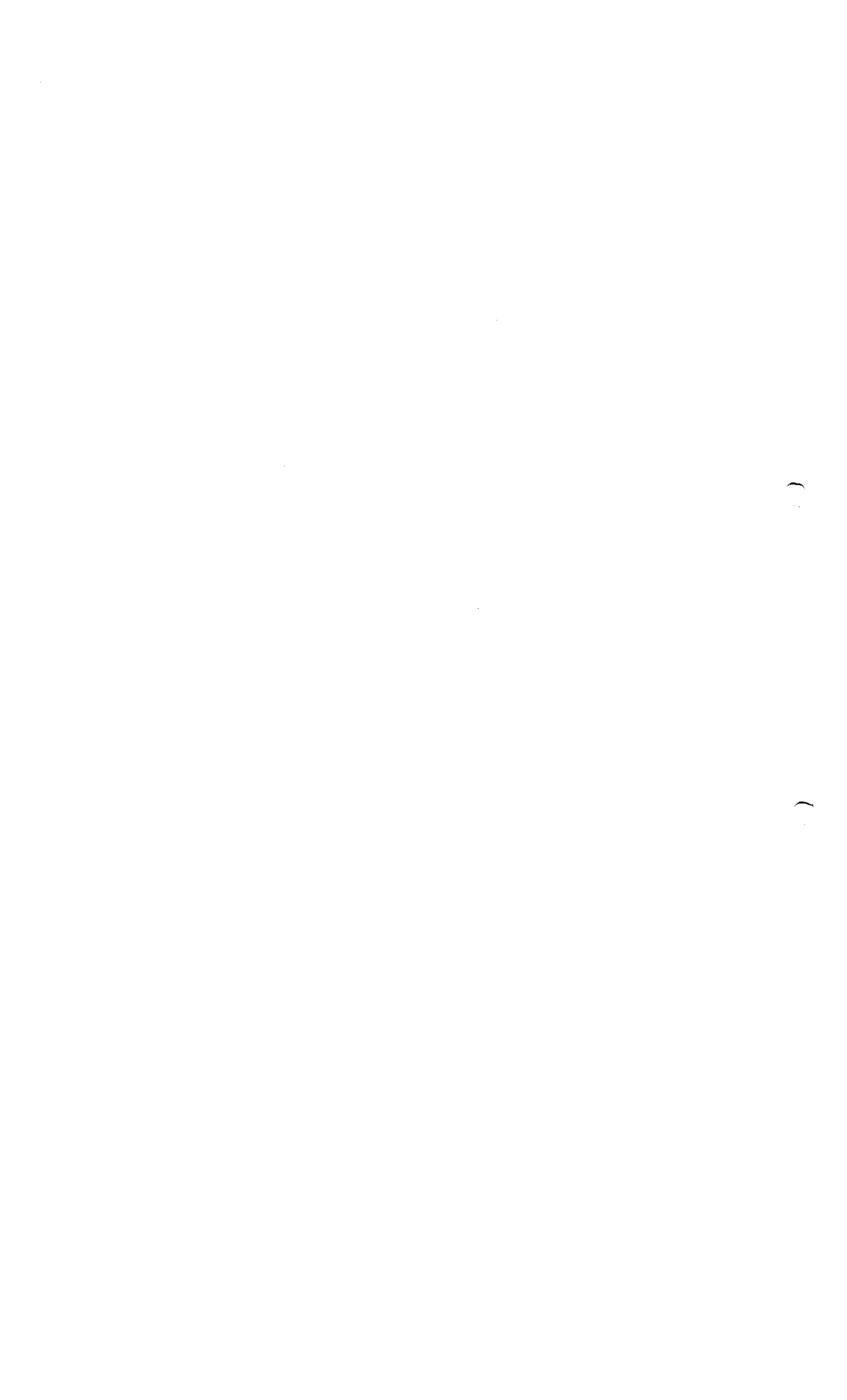
Cada análisis consistía en medir la densidad óptica del control positivo, para la proteína tetánica y para la proteína tetánica adicionada con una cantidad de fósforo correspondiente a la concentración más baja de la curva de calibración (control positivo). Se llevó a cabo la comparación estadística entre los resultados promedio de las densidades ópticas del control positivo y de la solución muestra adicionada para verificar el límite de detección.

Los datos analizados son densidades ópticas (media de dos determinaciones) y se presentan en la tabla 14.

Tabla 14: Contenido de fósforo en el CTP; Validación, límite de detección: Densidades ópticas

	Control positivo	Proteína tetánica	Proteína adicionada
Grupo 1	0,1071	0,0689	0,1742
	0,1093	0,0667	0,1736
	0,1076	0,0660	0,1730
Grupo 2	0,1067	0,0695	0,1755
	0,1097	0,0749	0,1785
	0,1092	0,0746	0,1766

La media, la desviación estándar y el intervalo de confianza del 95 % de la media se determinaron para el control positivo y para la solución adicionada de proteína.



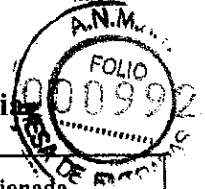


Tabla 15: Media, desviación estándar e intervalo de confianza del 95 % de la media

	Control positivo	Proteína adicionada
Media de las respuestas (densidades ópticas)	0,10823	0,17522
Desviación estándar de las respuestas	0,00127	0,00208
Intervalo de confianza del 95% de la media	0,0690--0,10957	0,17303--0,17740

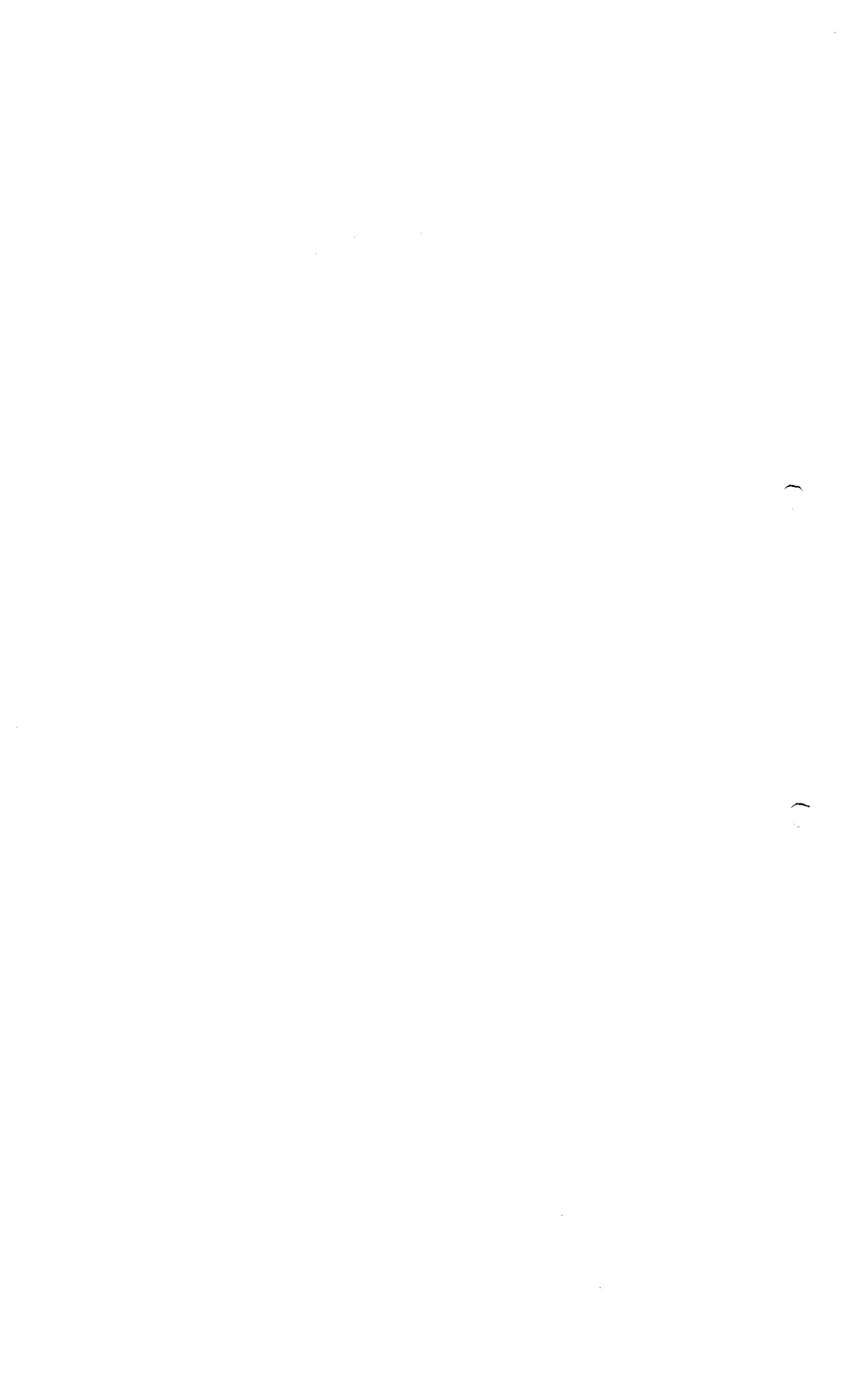
Se verifica la ausencia de diferencia entre las varianzas mediante una prueba Fisher-Snedecor a un nivel de significancia del 5 %. Las medias se compararon usando una prueba t unilateral a un nivel de significancia del 5 %. La respuesta media de la proteína adicionada no es menor que la respuesta media del control positivo.

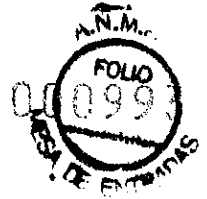
3.3.2 Conclusión

El límite de detección se establece en la concentración más baja de la curva de calibración (control positivo), correspondiente a una concentración de fósforo de 1 µg en la muestra de prueba. Dado que la muestra de prueba es de 2 mL para una preparación diluida a razón de 1:2, la concentración es igual a 1 µg/mL.

Para expresar el resultado final en relación con el contenido proteico, la concentración se divide entre el contenido proteico del lote analizado (30,69 mg/mL), correspondiente a 0,03 µg/mg de proteína.

El análisis de límites del contenido de fosfatos en la CTP con el método de Chen, con un límite de detección establecido en 1 µg de fósforo por mL de solución de CTP (en el caso del lote utilizado para validación es de 0,03 µg de fósforo por mg de proteína).





3.4 Contenido de formaldehído residual

La prueba para analizar el contenido de formaldehído residual en la CTP utilizando el método colorimétrico de Nash se describe en el capítulo 2.4. Debido a que es un análisis cuantitativo, se probaron la especificidad, la linealidad, la exactitud y la precisión de la prueba de liberación y la precisión del límite de cuantificación. El contenido de formaldehído libre se determina por reacción colorimétrica, la cual mide la absorción espectrofotométrica a 413 nm de un complejo coloreado que se deriva del formaldehído.

Se presenta un resumen de la validación en la tabla 16.

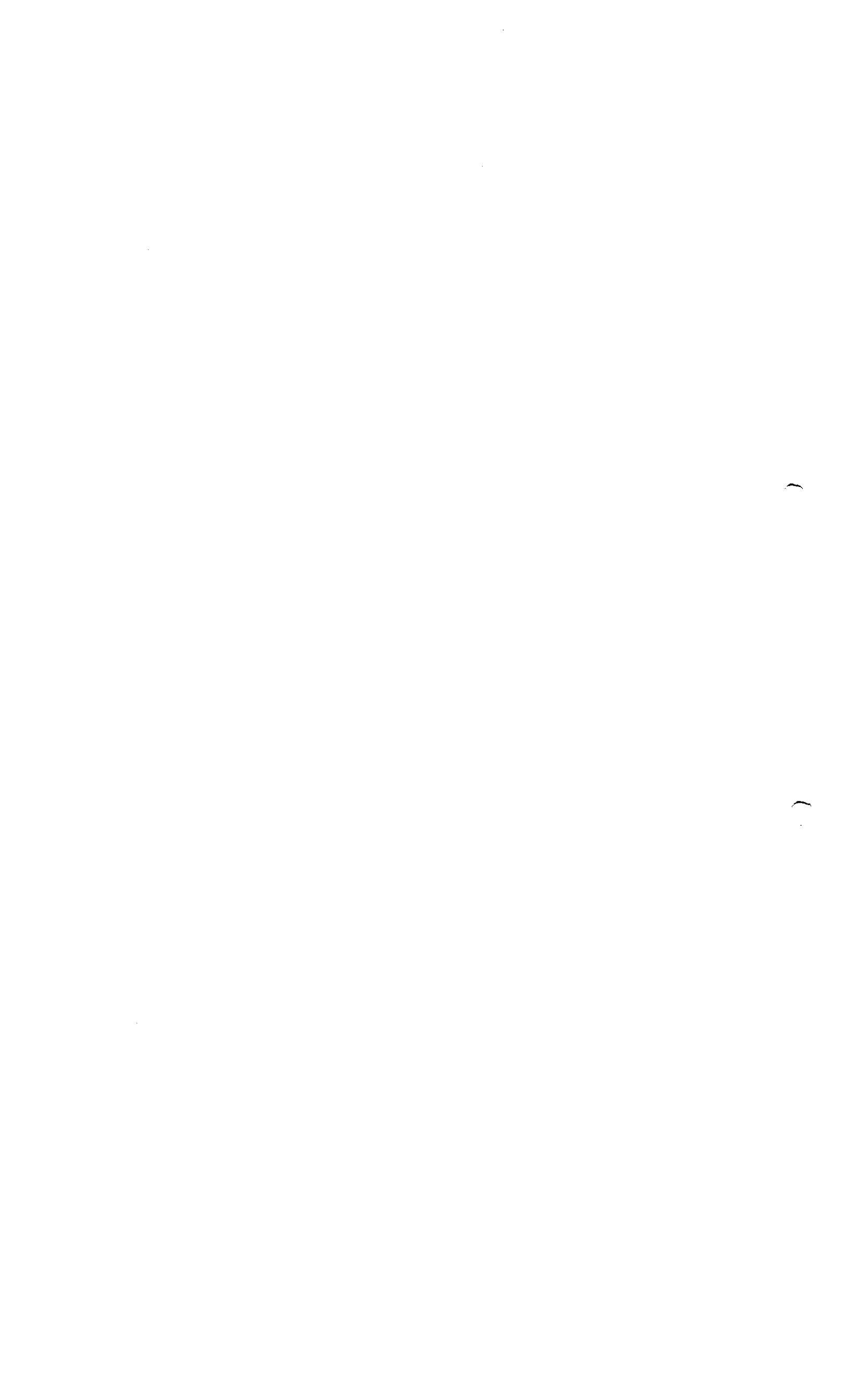
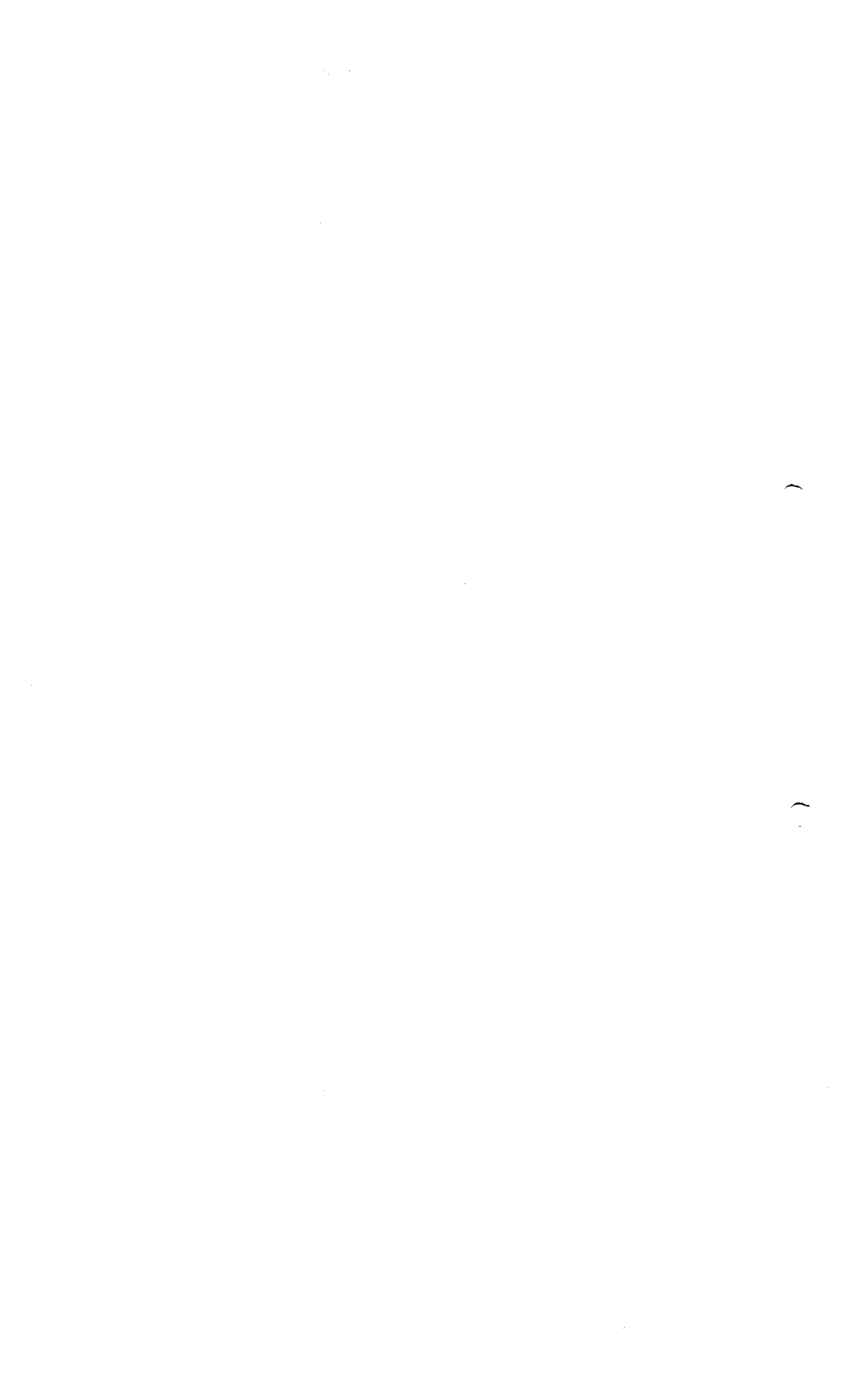
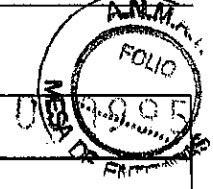




Tabla 16: Contenido de formaldehído residual en la CTP; validación, resumen

Características	Criterios de aceptación	Resultados
Especificidad	La recuperación porcentual promedio calculada para el compuesto adicionado se debe encontrar entre el 80 % y el 120 %.	La recuperación porcentual promedio del compuesto adicionado es igual a: $\bar{R} = 91\%$
Linealidad	Plinealidad ≤ 0.01 Pdesviación de la linealidad $> 0,05$	Plinealidad $< 0,0001$ Pdesviación de la linealidad $< 0,05$ Prueba de Bliss: Falta de ajuste insignificante, aceptación del modelo. Por lo tanto, se demuestra la linealidad. $Y = -0,013 + 0,990 \cdot X$ Donde X = concentración teórica del formaldehído residual (expresión logarítmica) y Y = concentración medida del formaldehído residual (expresión logarítmica). Rango de linealidad: [0,25 – 13,23] µg/mg de proteína El límite de cuantificación es igual a 0,29 µg/mg de proteína, por lo tanto el rango de aplicación del método es: [0,29 – 13,23] µg/mg de proteína
Exactitud	La recuperación porcentual media calculada para los niveles teóricos de concentración debe ser de entre el 90 % y el 110 %.	Para cada nivel, la recuperación porcentual media está entre el 92 % y el 99 %.
Precisión de la prueba de liberación Dilución 1:50; Muestra de prueba 2 mL	El intervalo de confianza del 95 % de precisión intermedia debe ser de \leq^x 1,5 µg/mg de proteína ($\pm 0,25$ µg/mg de proteína en el protocolo).	Media general: $\bar{m} = 0,57$ µg/mg de proteína Intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia para una corrida y una medición que se realizan de la manera habitual: $\pm 0,066$; es decir x 1,16 µg/mg de proteína en notación aritmética Cifras y redondeo significativos recomendados: hasta un centésimo





Características	Criterios de aceptación	Resultados
Precisión de la prueba de liberación Dilución 1:25; muestra de prueba 2 mL	El intervalo de confianza del 95 % de precisión intermedia debe ser de $\leq \bar{x} \pm 1,5 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína ($\pm 0,25 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína en el protocolo).	Media general: $\bar{m} = 0,58 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína Intervalo de confianza del 95% de la precisión intermedia para una corrida y una medición que se realizan de la manera habitual: $\pm 0,055$; es decir $\bar{x} \pm 1,13 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína en notación aritmética Cifras y redondeo significativos recomendados: hasta un centésimo
Precisión del límite de cuantificación Dilución 1:25; muestra de prueba 1 mL	El intervalo de confianza del 95 % de precisión intermedia debe ser de $\leq \bar{x} \pm 1,5 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína ($\pm 0,25 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína en el protocolo).	Media general: $QL = 0,29 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para una corrida y una medición que se realizan de la manera habitual: $\pm 0,069$; es decir $\bar{x} \pm 1,17 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína en notación aritmética Cifras y redondeo significativos recomendados: hasta un milésimo

3.4.1 Especificidad

Tres operadores analizaron dos muestras. La primera muestra fue la solución pura (nivel 0) y la segunda fue la solución a la que se le había agregado una cantidad conocida de formaldehído residual (nivel +1). Estos análisis se incluyeron en los estudios de linealidad-exactitud.

Los datos analizados son las concentraciones de formaldehído residual expresadas en $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína.





Tabla 17: Especificidad, linealidad, exactitud: Concentraciones de formaldehído residual (µg/mg de proteína)

Nivel	Concentración esperada (µg/mg de proteína)	Concentración medida (µg/mg de proteína)		
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
-3	0,28	0,27	0,26	0,28
-2	0,33	0,32	0,32	0,32
-1	0,50	0,48	0,49	0,51
0'	0,55 (dilución 1:50)	0,52	0,54	0,54
0	0,55 (dilución 1:25)	0,53	0,56	0,57
+1	5,44	5,00	5,00	4,98
+2	7,88	7,36	7,50	7,47
+3	12,77	12,21	12,50	12,50

Notas:

- El nivel 0' (dilución 1:50; TS 2 mL) no se incluye en el estudio de linealidad. Sólo se incluye el nivel 0 rutinario (dilución 1:25; TS 2 mL).
- Los niveles 0 (dilución 1:25; TS 2mL) y 0' (dilución 1:50; TS 2 mL) no se incluyen en el estudio de exactitud.
- La recuperación del nivel 0' (dilución 1:50; TS 2 mL) se calcula en contraste con el nivel 0 (dilución 1:25; TS 2 mL).

La especificidad se demuestra mediante el método de adiciones estándar. La recuperación se calcula entre la concentración medida y la adición teórica.

La especificidad se evalúa a partir de los valores obtenidos para el nivel de concentración +1 del estudio de linealidad.

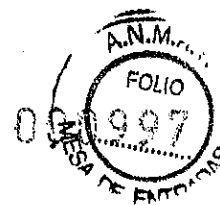
La concentración teórica del formaldehído residual en este nivel es de 4,89 µg/mg de proteína.

La recuperación porcentual se puede calcular de la siguiente manera:

Recuperación porcentual (%) =

$$\frac{(\text{Concentración medida de la vacuna con adición}) - (\text{Concentración medida de la vacuna sin adición})}{\text{Adición teórica}}$$





Las recuperaciones obtenidas (%) son las siguientes:

Tabla 18: Recuperación porcentual promedio

Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Grupo 3 (%)	Media (%)
91,50	90,88	90,27	90,88

La recuperación porcentual promedio es igual a 91 %.

La recuperación porcentual promedio está entre el 80 % y el 120%. Por lo tanto, el método es específico.

3.4.2 Linealidad

Tres operadores realizaron tres corridas independientes, el mismo día. Cada corrida incluyó un rango de 7 concentraciones de formaldehído residual.

Los datos analizados son los mismos que se obtuvieron para el estudio de especificidad que se presentan en la tabla 17.

Se les aplica a los datos una regresión lineal no ponderada, en la que se usa el método de los cuadrados mínimos. Se verifica la homogeneidad de las varianzas límite mediante una prueba de Cochran a un nivel de significancia del 5 %. La dependencia entre las cantidades esperadas (volumen de la muestra de solución de CTP) y las cantidades de nitrógeno proteico medidas, así como la linealidad de esta relación, se determinan mediante un análisis de varianza de la regresión. El análisis de varianza permite concluir la significancia de la pendiente ya que el valor P de linealidad con la tabla Snedecor a un nivel de significancia del 1% es inferior al 1% (valor $P < 0,0001$), y una desviación no significativa de la linealidad ya que el valor P de la falta de ajuste de la linealidad con la tabla Snedecor del 5 % es superior al 5 % (valor $P = 0,99$).

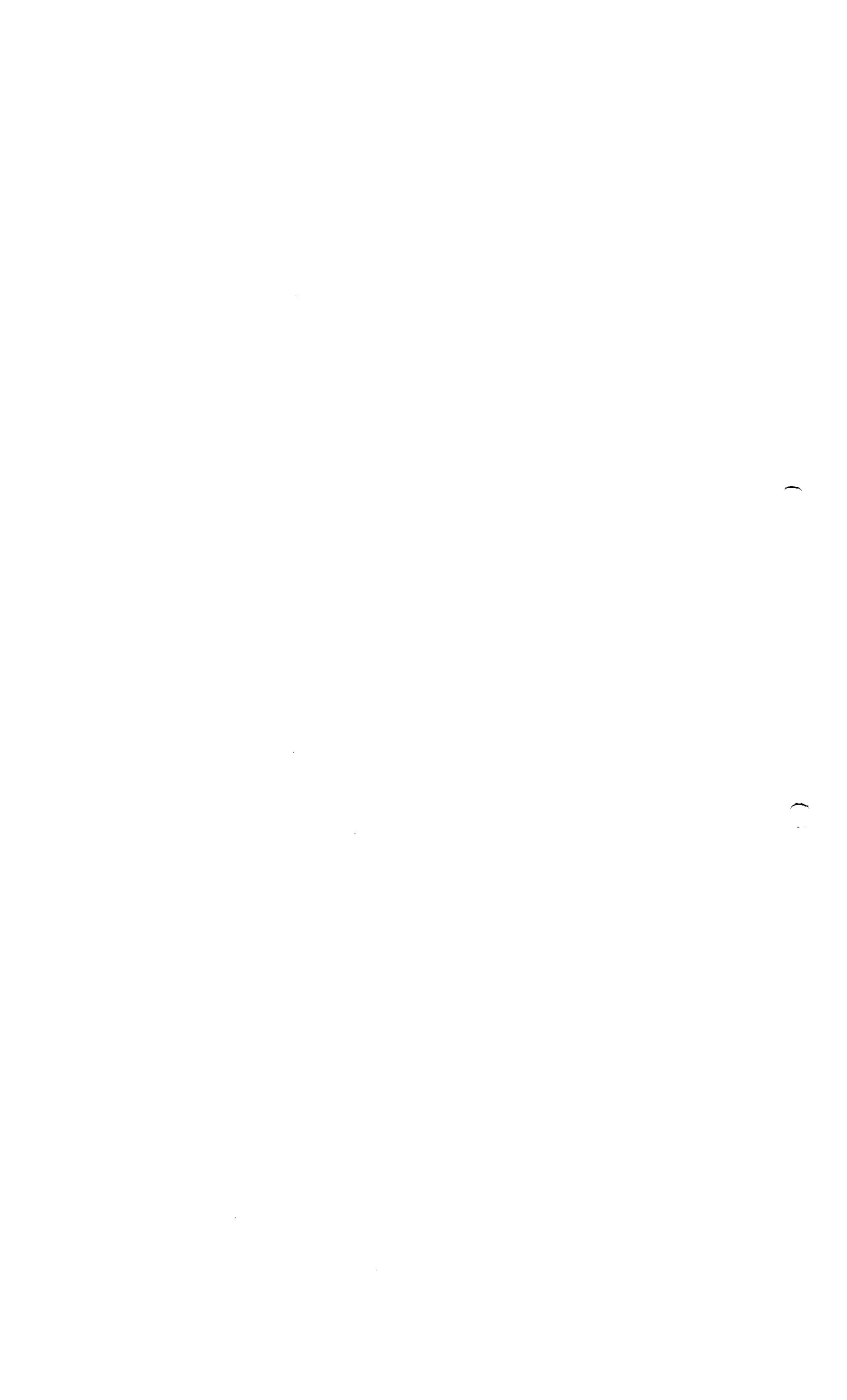
La ecuación de la recta de regresión es:

$$Y = (-0,013 \pm 0,006) + (0,990 \pm 0,009) \cdot X$$

Donde:

- X: cantidad teórica en log
- Y = cantidad medida en log
- Coeficiente de correlación lineal: $r = 0,9998$ con 19 grados de libertad
- Rango de linealidad: $[0,25 - 13,23] \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína

Por lo tanto, el método es lineal en el rango $[0,25 - 13,23] \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína



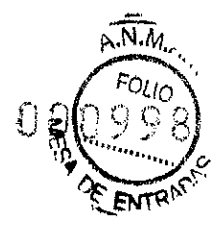
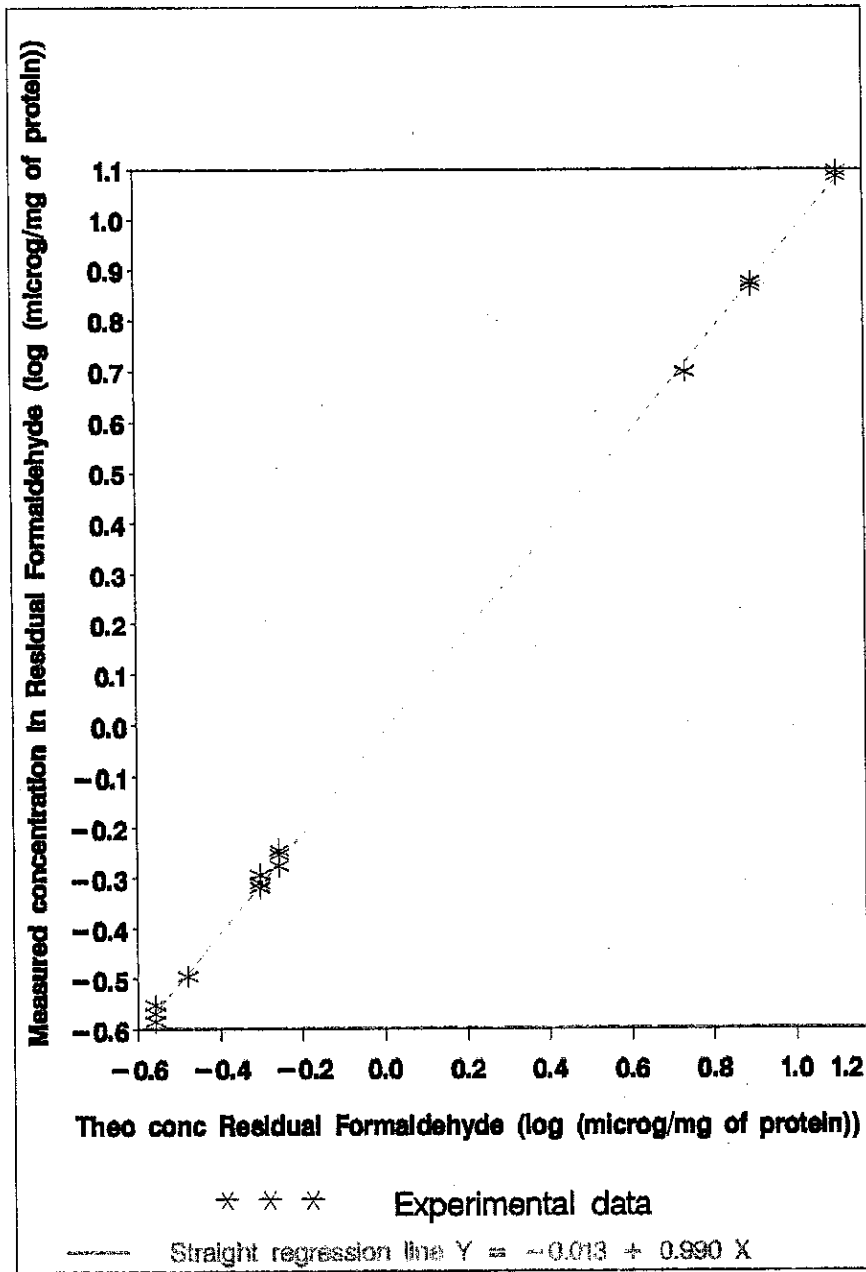
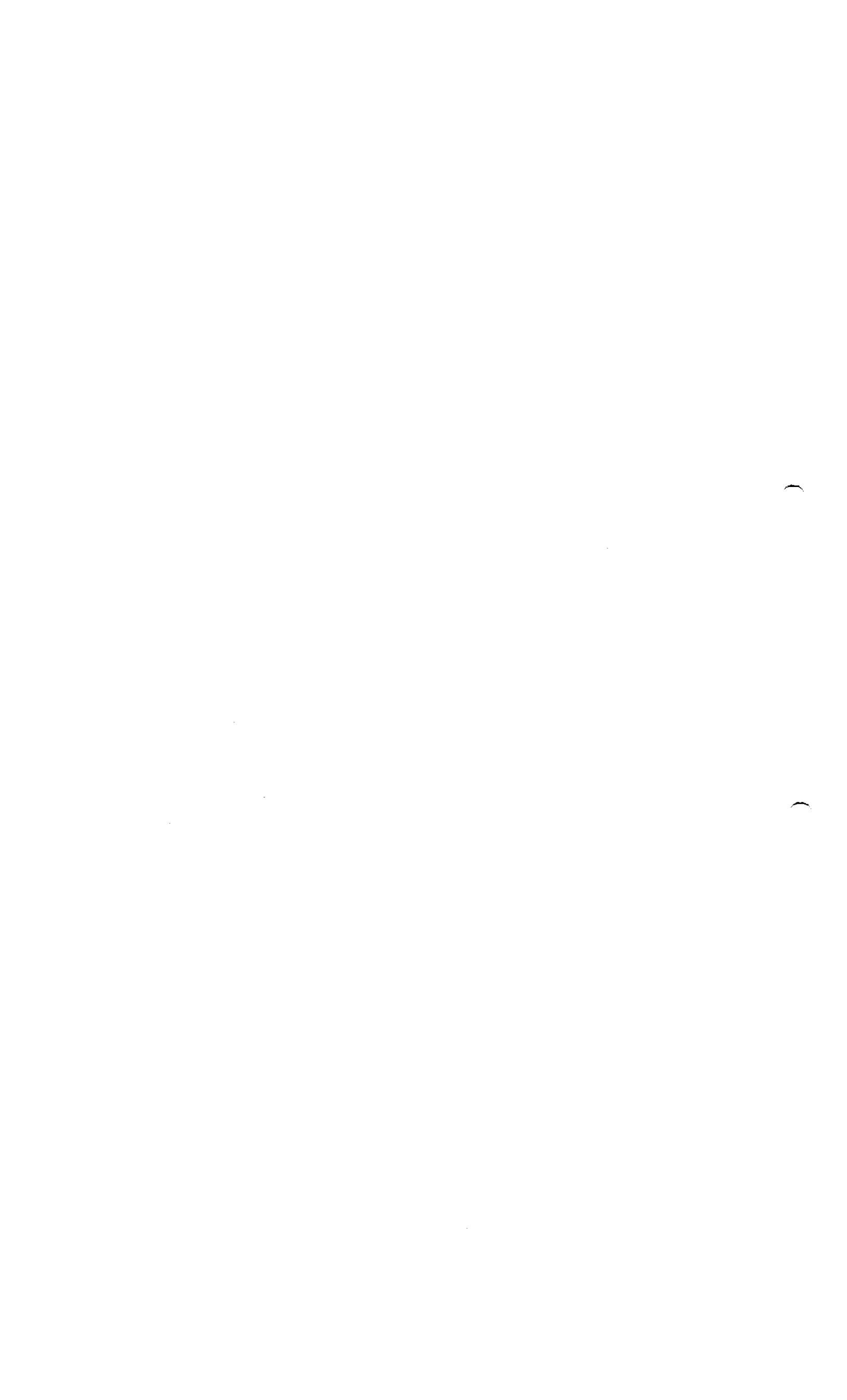
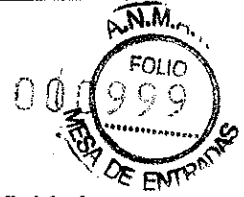


Figura 2: Gráfico de linealidad







3.4.3 Exactitud

Los datos analizados son los mismos que se obtuvieron para el estudio de especificidad que se presentan en la tabla 17.

Los niveles de concentración teórica se presentan en la tabla 19.

Tabla 19: Contenido de formaldehído residual en la CTP; Validación, exactitud: recuperaciones porcentuales para cada nivel

Nivel de concentración esperada (µg/mg de proteína)	Recuperación porcentual (%)
0,28	98
0,33	96
0,50	99
5,44	92
7,88	94
12,77	97

Todas las recuperaciones porcentuales medias están entre el 90 % y el 110 %.

Por lo tanto, el método es exacto.

3.4.4 Precisión

Se analizaron tres grupos bajo 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 el mismo día.

Dentro de cada grupo, se llevaron a cabo 6 análisis bajo condiciones que garantizaban la repetibilidad: los análisis se llevaron a cabo en 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.

3.4.4.1 Precisión del análisis al nivel de liberación

Las características de precisión se estudiaron en dos series de datos:

- Dilución 1:50; muestra de prueba 2 mL;
- Dilución 1:25; muestra de prueba 2 mL.

Los datos analizados son las concentraciones de formaldehído residual expresadas en µg/mg de proteína.



Tabla 20: Precisión del análisis al nivel de liberación: Concentraciones de formaldeshido residual ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)

Precisión	Grupo 1 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Grupo 2 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Grupo 3 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Dilución 1:50; muestra de prueba 2 mL	0,52	0,54	0,54
	0,58	0,55	0,54
	0,55	0,58	0,53
	0,64	0,60	0,60
	0,56	0,60	0,62
	0,60	0,55	0,66
Dilución 1:25; muestra de prueba 2 mL	0,53	0,56	0,57
	0,57	0,56	0,55
	0,55	0,59	0,58
	0,62	0,63	0,61
	0,56	0,58	0,64
	0,60	0,56	0,66

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

Los parámetros de repetibilidad y precisión intermedia se calcularon usando el cálculo de varianzas (varianza de repetibilidad en todos los grupos, la varianza intragrupal y la varianza de la precisión intermedia); el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia se determinó usando la prueba t con 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 una corrida con una medición realizada de la manera habitual se presentan en la tabla 21.

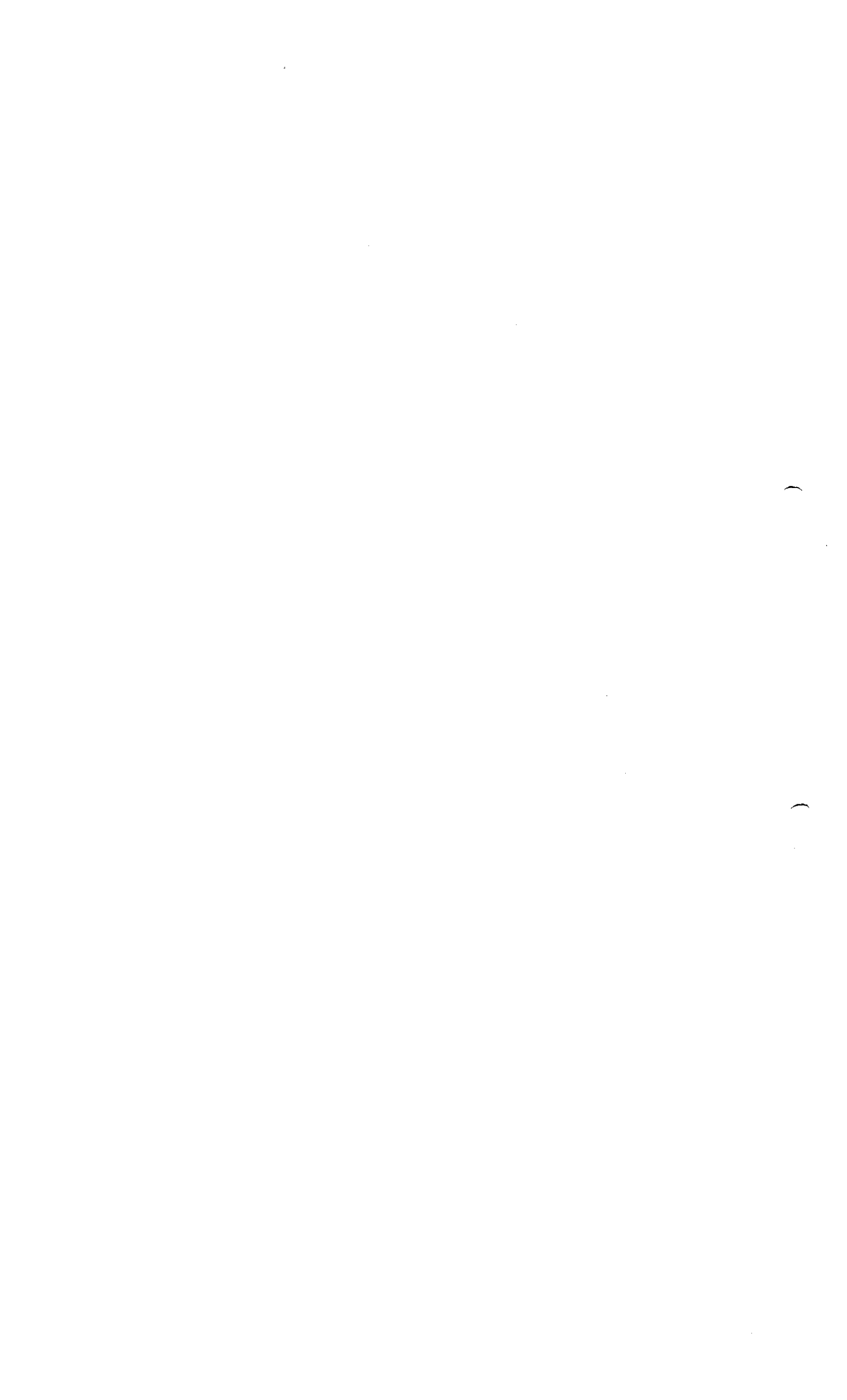




Tabla 21: características de repetibilidad y precisión intermedia

Características	Varianza	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % con una corrida y una medición
Características de repetibilidad de la solución con una dilución de 1:50	0,000978	0,031	/
Características de repetibilidad de la solución con una dilución de 1:25	0,000657	0,026	/
Características de repetibilidad de la solución con una dilución de 1:50	0,000978	0,031	± 0,066 es decir \bar{x} 1,16 µg/mg de proteína en notación aritmética
Características de precisión intermedia de la solución con una dilución de 1:25	0,000674	0,026	± 0,055 es decir \bar{x} 1,13 µg/mg de proteína en notación aritmética

3.4.4.2 Precisión del análisis al nivel de cuantificación

Tabla 22: Precisión del análisis al nivel de cuantificación: Concentración de formaldehído residual (µg/mg de proteína)

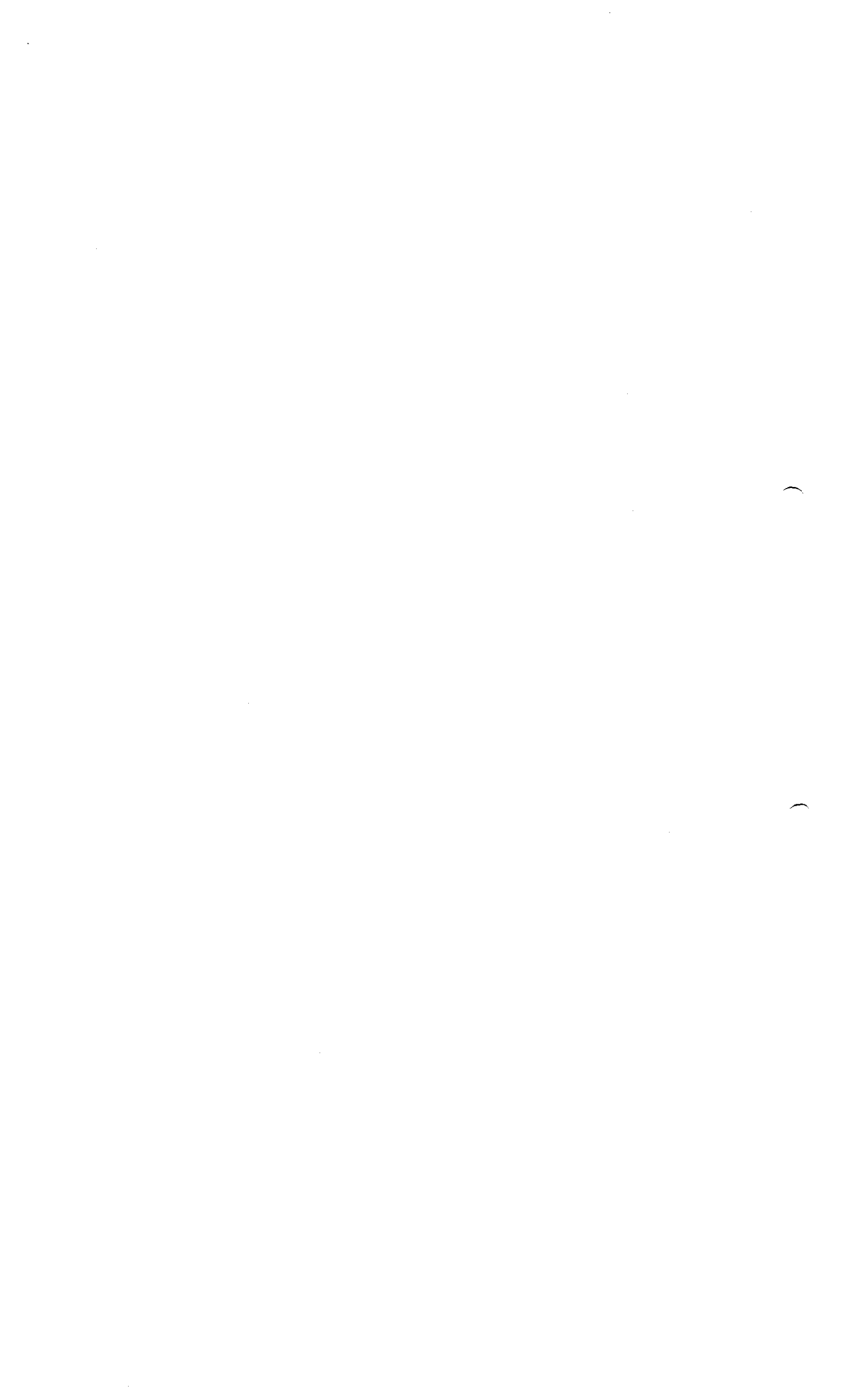
Grupo 1 (µg/mg)	Grupo 2 (µg/mg)	Grupo 3 (µg/mg)
0,27	0,26	0,28
0,29	0,27	0,29
0,27	0,29	0,25
0,31	0,32	0,30
0,28	0,29	0,30
0,30	0,30	0,33

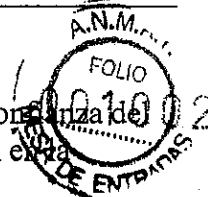
La concentración más baja que se analizó en el rango de linealidad es de 0,28 µg/mg de proteína.

La exactitud a este nivel queda demostrada.

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 calcularon usando el cálculo de varianzas (varianza de repetibilidad en todos los grupos, la varianza intragrupal y la varianza de la precisión intermedia); el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia se determinó usando la prueba t con 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 una corrida con una medición realizada de la manera habitual se presentan en la tabla 23.

Tabla 23: características de repetibilidad y precisión intermedia

Características	Varianza	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % con una corrida y una medición
Características de repetibilidad	0,001078	0,033	/
Características de precisión intermedia	0,001078	0,033	± 0,069 es decir \bar{x} : 1,17 µg/mg de proteína en notación aritmética

3.4.5 Conclusión

El método es específico ya que la recuperación porcentual media del compuesto agregado es del 91 %.

Es lineal en el rango: [0,25 – 13,23] µg/mg de proteína

En cuanto a cada nivel, la recuperación porcentual es de entre 92 % y 99 %, la exactitud se demuestra en el mismo rango.

La recuperación porcentual entre los resultados obtenidos con la dilución de 1:50; TS 2 mL y los obtenidos con la dilución de 1:25; TS 2 mL es igual al 96 %. Por lo tanto, los resultados obtenidos en estas dos condiciones son comparables en cuanto a promedios.

El método es preciso:

- a la dilución de 1:25 y la TS = 2 mL, ya que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es \bar{x} : 1,13 µg/mg de proteína, para una corrida con una medición realizadas de la manera habitual.
- a la dilución de 1:50 y la TS = 2 mL, ya que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es \bar{x} : 1,16 µg/mg de proteína, para una corrida con una medición realizadas de la manera habitual.

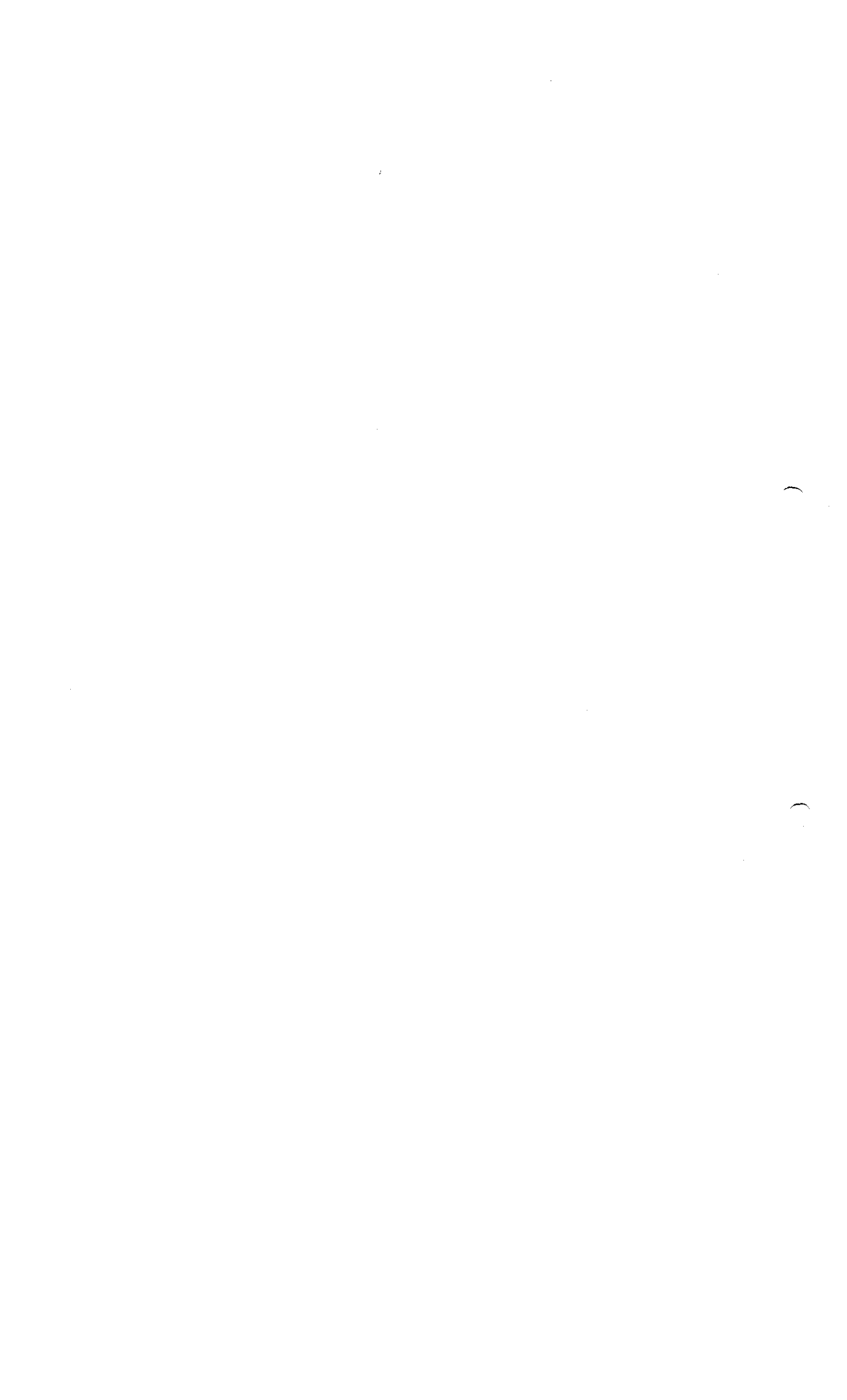
Se recomienda redondear los resultados finales al centésimo.

El límite de cuantificación se estima en 0,29 µg/mg de proteína y es preciso y exacto.

a la dilución de 1:25 y la TS = 2 mL, ya que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es \bar{x} : 1,17 µg/mg de proteína, para una corrida con una medición realizadas de la manera habitual.

El método es exacto en el límite de cuantificación.

El método es válido para medir el formaldehído residual usando el método colorimétrico de Nash, en la proteína tetánica concentrada (CTP).





3.5 Distribución del tamaño molecular por HPLC (porcentaje de monómeros)

El método para determinar la distribución del tamaño molecular (porcentaje de monómeros) de la CTP usando HPLC se describe en el capítulo 2.7. Dado que el procedimiento es una medición física, la única característica estudiada fue la precisión, en términos de repetibilidad y reproducibilidad. Se presenta un resumen de la validación en la tabla 24.

Tabla 24: Distribución del tamaño molecular en la CTP: validación, resumen

Características	Criterio de aceptación	Principio
Precisión	El coeficiente de variación de la precisión intermedia debería ser <5%	Coeficiente de variación de la precisión intermedia: 1,4% Intervalos de confianza del 95% de la precisión intermedia para 1 corrida realizada del modo habitual: ±2,1 por ciento de monómeros

3.5.1 Precisión

Se realizaron nueve mediciones 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 diferentes días.

Los datos analizados son los porcentajes de monómeros y se presentan en la tabla 25.

Tabla 25: Distribución del tamaño molecular en la CTP: validación, precisión Resultados de monómeros en porcentajes

Corrida	Porcentaje de monómeros
1	65,0
2	66,1
3	65,0
4	65,7
5	64,7
6	64,5
7	63,6
8	63,8
9	63,5

Las características de la precisión intermedia se determinaron mediante cálculos de desviación estándar y varianza. El intervalo de confianza del 95 % se determinó usando la prueba de la t a un nivel de significancia del 5 %.





Las características y el intervalo de confianza del 95% para 1 corrida que se lleva a cabo de la manera habitual, se describen en la tabla 26.

Tabla 26: Características de precisión intermedia

Características	Desviación estándar	Coficiente de variación	Intervalo de confianza del 95 %
Características de precisión intermedia	0,91	1,41%	±2,10 por ciento de monómeros

El coeficiente de variación es inferior al 5%.

3.5.2 Conclusión

El método es preciso, ya que los coeficientes de variación de precisión intermedia son iguales al 1,4% y el intervalo de confianza del 95 % de precisión intermedia es ± 2,1 % de monómeros para una corrida que se realiza de la manera habitual.

El método es válido para determinar el tamaño molecular (porcentaje de monómeros) de la CTP.





4 Análisis de lote

Los resultados obtenidos para las pruebas de control de calidad realizadas en tres lotes consecutivos de CTP se presentan en la tabla 27.

Tabla 27: Resultados de los análisis de lotes de CTP

Pruebas	Criterios de aceptación	FA364781* 08 oct 2009	FA365947* 15 oct 2009	FA366963* 22 oct 2009
Contenido de nitrógeno proteico	Para cálculo	5,19 mg/mL	5,09 mg/mL	4,78 mg/mL
Razón DO ₂₈₀ /DO ₂₆₀	≥ 1,3	1,97	1,95	1,97
Contenido de fósforo	< 1,5 µg/mg de proteína	< 0,04	< 0,04	< 0,04
Contenido de formaldehído residual libre	<10 µg/mg de proteína	0,74	0,57	0,68
Título de floculación	Para calcular la pureza antigénica	12 000 Lf/mL	12 000 Lf/mL	12 000 Lf/mL
Pureza antigénica	≥ 1500 Lf/mg de nitrógeno proteico	2312	2358	2510
Distribución del tamaño molecular (HPLC)	≥ 50 % de monómeros	65,90	66,80	67,20
Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica	Sin crecimiento microbiano	Cumple	Cumple	Cumple
Toxicidad específica e irreversibilidad del toxoide tetánico	No se observan síntomas tetánicos y hay por lo menos 93 % de supervivencia.	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Prueba de pirógenos	Cumple con la Ph. Eur., (Δ temperatura ≤ +1,15 °C para la prueba en 3 conejos)	(0,22-0,03-0,16) 0,41	(0,19-0,09-0,00) 0,28	(0,27-0,50-0,11) 0,88

* Estos 3 lotes de CTP se habían elaborado a partir de los tres lotes industriales de PTP analizados en la sección anterior (3.2.S.2.4 Controles de los pasos críticos e intermedios: Intermedio PTP): FA350783, FA350785 y FA354112





5 Justificación de las especificaciones

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

- Contenido de nitrógeno proteico

El contenido de nitrógeno proteínico se determina para calcular la pureza antigénica.

- Razón DO_{280}/DO_{260}

La proporción se evalúa como indicador de la uniformidad de la producción, para controlar la eficacia de la eliminación de ácidos nucleicos verificando que la contaminación de los aminoácidos (proteínas en este caso) (DO_{280}) con ácidos nucleicos (DO_{260}) es baja. La especificación se definió durante el desarrollo del producto.

- Contenido de fósforo

El contenido de fósforo se evalúa para determinar la cantidad de fosfatos provenientes de una fuente externa, lo que podría provocar que el contenido de polisacáridos se sobreestime. La especificación se definió durante el desarrollo del producto.

- Contenido de formaldehído residual libre

El contenido de formaldehído residual libre se determina para controlar la eliminación del formaldehído utilizado en la detoxificación. La especificación se definió durante el desarrollo del producto.

- Título de floculación

El título de floculación se determina para calcular la pureza antigénica.

El título de floculación se realiza usando un estándar de floculación interno para tétanos (antitoxina) calibrado frente al estándar de floculación internacional para tétanos, NIBSC. La prueba de inmunoprecipitación con un estándar para antitoxina tetánica garantiza la identificación de la proteína portadora según los requisitos de la monografía n.1 1219 de la Ph. Eur.

- Pureza antigénica

La especificación coincide con los requisitos de la Ph. Eur. n.º 0452 y permite evaluar la pureza del toxoide tetánico concentrado.

- Distribución del tamaño molecular (% de monómeros)

La proporción de la forma monomérica se evalúa como un indicador de la uniformidad de la producción. La distribución del tamaño molecular se determina con un criterio de aceptación idéntico a la proteína tetánica purificada, con el fin de verificar que la etapa de concentración no afecta la proporción de monómeros.

- Prueba de esterilidad bacteriana y fúngica

La especificación coincide con los requisitos de la Ph. Eur.

- Ausencia de toxina (toxicidad específica) e irreversibilidad del toxoide

