

Tabla 17: Presencia o ausencia de anillo para cada referencia

Antisuero utilizado	Lote de PFAG FDV02328	Cepa A/ California/7/2009 (H1N1) lote FA516286	Cepa A/ Texas/50/2012 (H3N2) lote FA513976	Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria), lote FA495977	Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata), lote FA492930
Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)	Presencia de anillos	/	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos
Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)	Presencia de anillos	Ausencia de anillos	/	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos
Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria)	Presencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	/	Anillos más difusos y de menor intensidad
Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata)	Presencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	/
Ausencia de anticuerpos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos	Ausencia de anillos

4.3.3.2 Precisión

El diseño experimental se basó en:

- Se analizaron 3 series 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 días diferentes.
- En cada serie se realizaron 6 análisis en condiciones que garantizaban la repetibilidad: los análisis se llevaron a cabo de manera independiente, utilizando el mismo método, en una muestra primaria homogénea, en el mismo laboratorio, con el mismo equipo, con el mismo operador y el mismo día.

El dato sometido a análisis es la concentración de hemaglutinina, expresada en µg/mL, y se presenta a continuación en la Table 18 y en la Table 19.

Nota: Todos los cálculos se realizan en logaritmos ya que la distribución de los datos es logarítmica normal.



Tabla 18: Precisión, cepas A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) y A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2): Contenido de antígeno HA (µg/mL)

Cepa	Serie 1	Serie 2	Serie 3
A/H1N1/California/7/2009 (H1N1)	37,083	36,181	34,284
	34,272	36,600	34,530
	34,652	32,337	33,494
	35,420	33,053	31,088
	34,996	33,474	30,283
	35,809	33,907	31,362
A/H3N2/Texas/50/2012 (H3N2)	33,849	36,628	36,052
	33,510	35,470	34,690
	32,233	36,071	31,688
	33,023	35,703	36,438
	33,735	37,067	34,702
	33,214	35,665	33,583

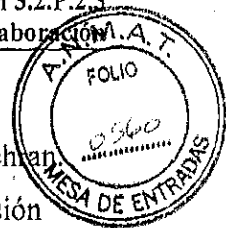


Tabla 19: Precisión, cepas B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) y B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata): concentraciones de hemaglutinina (µg/mL)

Cepa	Serie 1	Serie 2	Serie 3
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134)	34,778	36,899	38,334
	35,219	36,194	39,140
	INV*	35,843	39,974
	36,119	36,351	39,046
	35,709	29,094	39,279
	37,499	37,273	39,996
B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134)	37,397	35,100	37,632
	38,897	36,036	37,694
	38,729	34,652	39,088
	35,865	35,058	37,248
	38,485	39,651	37,838
	39,054	38,922	38,872
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134)	29,636	36,146	34,363
	29,053	36,724	34,564
	29,490	34,452	28,888
	29,187	30,619	34,026
	INV	34,306	33,329
	33,774	34,517	37,543
B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134).	27,702	35,045	34,550
	26,378	36,976	34,231
	29,083	38,617	34,556
	INV	38,489	36,789
	30,205	39,060	38,662
	31,018	37,392	37,139

* INV: Valor no válido (el intervalo de confianza del título no respeta los criterios de validez del método).

La precisión del método se prueba mediante los siguientes pasos, aplicados a los datos tomados de la Table 18 y de la Table 19:



- La homogeneidad de las varianzas intragrupal se verifica mediante la prueba de Cochran
- Dependiendo de la homogeneidad, se calculan los parámetros de repetibilidad y precisión intermedia.

4.3.3.2.1 Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series son homogéneas.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 20.

Tabla 20: Precisión, cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1): Características de repetibilidad y precisión intermedia

Característica	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad		4,6%	0,020	/
Características de precisión intermedia con k = 1 y n = 1 (liberación)	1,531; expresión aritmética:	6,0%	0,026	± 0,055; es decir x/: 1,14 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con k = 3 y n = 1 (estabilidad)	33,995 µg/mL			± 0,032; es decir, x/: 1,08 en expresión aritmética.

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $\times/\pm 1,2$, el método es preciso para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1).

4.3.3.2.2 Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series no son homogéneas. Por lo tanto, se mantiene la varianza más alta (el caso más desfavorable) como estimación de la varianza de la repetibilidad, es decir, la varianza de la serie 3.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 21.

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

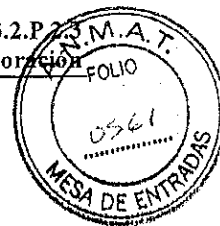


Tabla 21: Precisión, cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) H3N2: Características de repetibilidad y precisión intermedia

Característica	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad		5,1%	0,022	/
Características de precisión intermedia con k = 1 y n = 1 (liberación)	1,539; expresión aritmética:	6,2%	0,027	± 0,064; es decir, x/: 1,16 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con k = 3 y n = 1 (estabilidad)	34,594 µg/mL			± 0,037; es decir, x/: 1,09 en expresión aritmética.

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $x \pm 1,2$, el método es preciso para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2).

4.3.3.2.3 Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (referencia bivalente): antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series no son homogéneas. Por lo tanto, se mantiene la varianza más alta (el caso más desfavorable) como estimación de la varianza de la repetibilidad, es decir, la varianza de la serie 2.
- El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es mayor que el criterio de aceptación para k = 1 corrida y n = 1. De hecho, la medición correspondiente es $\pm 0,107$; es decir x/: 1,28 en expresión aritmética: es necesario aumentar el número de corridas de rutina para mejorar la precisión del resultado final y alcanzar el criterio de aceptación. El valor final que se debe informar para la liberación es la media geométrica ponderada de las 2 corridas con 1 medición.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 22.



Tabla 22: Precisión, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134): Características de repetibilidad y precisión intermedia

Característica	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad		9,4%	0,041	/
Características de precisión intermedia con k = 2 y n = 1 (liberación)	1,566; expresión aritmética:	10%	0,045	± 0,076; es decir, x/: 1,19 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con k = 3 y n = 1 (estabilidad)	36,774 µg/mL			± 0,062; es decir, x/: 1,15 en expresión aritmética.

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $\pm 1,2$, el método es preciso para la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134).

4.3.3.2.4 Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (referencia bivalente): antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series son homogéneas.
- El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior al criterio de aceptación para k = 1 corrida y n = 1 medición. De hecho, la medición correspondiente es $\pm 0,040$; es decir x/: 1,10 en expresión aritmética. Para que exista homogeneidad entre las cepas, para todas las cepas B (bivalentes), es necesario realizar de forma rutinaria 2 corridas con 1 medición en el momento de la liberación. El valor final que se debe informar para la liberación es la media geométrica ponderada de las 2 corridas con 1 medición.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 23.

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.

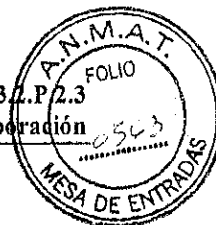


Tabla 23: Precisión, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134): Características de repetibilidad y precisión intermedia

Característica	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95%
Características de repetibilidad		4,0%	0,017	/
Características de precisión intermedia con k = 2 y n = 1 (liberación)	1,574;	4,4%	0,019	± 0,028; es decir, x/: 1,07 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con k = 3 y n = 1 (estabilidad)	expresión aritmética: 37,536 µg/mL			

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $\times/\pm 1,2$, el método es preciso para la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134).

4.3.3.2.5 Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (referencia bivalente): antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series son homogéneas.
- El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior al criterio de aceptación para k = 1 corrida y n = 1 medición. De hecho, la medición correspondiente es $\pm 0,087$; es decir x/: 1,22 en expresión aritmética. Para que exista homogeneidad entre las cepas, para todas las cepas B (bivalentes), es necesario realizar de forma rutinaria 2 corridas con 1 medición en el momento de la liberación. El valor final que se debe informar para la liberación es la media geométrica ponderada de las 2 corridas con 1 medición.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 24.



Tabla 24: Precisión, cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134): Características de repetibilidad y precisión intermedia

Característica	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95%
Características de repetibilidad		7,2%	0,031	/
Características de precisión intermedia con $k = 2$ y $n = 1$ (liberación)	1,517; expresión aritmética:	9,5%	0,041	$\pm 0,062$; es decir, $x/$: 1,15 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con $k = 3$ y $n = 1$ (estabilidad)	32,857 $\mu\text{g/mL}$			$\pm 0,05$; es decir, $x/$: 1,12 $\mu\text{g/mL}$ en expresión aritmética

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $x/+ 1,2$, el método es preciso para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134).

4.3.3.2.6 Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (referencia bivalente): antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134

Se llevó a cabo un análisis estadístico:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de las 3 series son homogéneas.
- El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es mayor que el criterio de aceptación para $k = 1$ corrida y $n = 1$ medición. De hecho, la medición correspondiente es $\pm 0,134$; es decir $x/$: 1,36 en expresión aritmética. Es necesario aumentar el número de corridas de rutina para mejorar la precisión del resultado final y alcanzar el criterio de aceptación. El valor final que se debe informar para la liberación es la media geométrica ponderada de las 2 corridas con 1 medición.

Los resultados se presentan a continuación en la Table 25.



Tabla 25: Precisión, cepa B/Massachusetts/02/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134): Características de repetibilidad y precisión intermedia

Características	Media general	Desviación estándar relativa	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad		5,2%	0,022	/
Características de precisión intermedia con k = 2 y n = 1 (liberación)	1,534;			±0,095; es decir, x/: 1,24 en expresión aritmética.
Características de precisión intermedia con k = 3 y n = 1 (estabilidad)	expresión aritmética: 34,219 µg/mL	15%	0,063	±0,077; es decir, x/: 1,19 µg/mL en expresión aritmética

Puesto que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no es superior a $\times/\pm 1,2$, el método es preciso para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134).

4.3.3.3 Linealidad

Para cada cepa, el diseño experimental se basó en 3 series independientes realizadas por 3 operadores. Cada corrida incluía el análisis de un rango de 5 concentraciones de hemaglutinina (3 vacunas diluidas, 1 vacuna sin diluir y 1 vacuna con agregado).

El dato sometido a análisis es la concentración de hemaglutinina, expresada en µg/mL. En la Table 27, se resumen los resultados del estudio.

La concentración teórica utilizada de hemaglutinina para la vacuna sin diluir (nivel 2) del lote FDV02328 es el valor objetivo de formulación:

- = 33 µg/mL para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1);
- = 32 µg/mL para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2);
- = 34 µg/mL para la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria);
- = 35 µg/mL para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata).

La concentración del monovalente con agregado obtenida con la media geométrica de los títulos (vea la Table 26) para cada cepa es:

- = 234,062 µg/mL para A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) (lote FA516286);
- = 208,716 µg/mL para A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) (lote FA513976);
- = 198,414 µg/mL para B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) antígeno 2011/89 B (lote FA495977);
- = 206,050 µg/mL para B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) antígeno 2014/101 B (lote FA495977);



- = 155,119 µg/mL para B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (lote FA492930).

Tabla 26: Títulos de los monovalentes utilizando el antígeno monovalente

Cepa	Número de lote	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4
A/H1N1/California/7/2009	FA516286	243,982	232,686	224,890	235,085
A/H3N2/Texas/50/2012	FA513976	192,331	234,321	201,747	INV*
B/Brisbane/60/2008 antígeno 2011/89B	FA495977	190,151	206,817	200,053	196,995
B/Brisbane/60/2008 antígeno 2014/101B	FA495977	214,108	189,813	215,257	INV*
B/Massachusetts/2/2012	FA492930	146,819	143,802	176,785	INV*

* INV: Valor no válido (el intervalo de confianza del título no respeta los criterios de validez del método).

La concentración teórica prevista de hemaglutinina de la muestra se calcula del siguiente modo:

$$\text{Theoretical expected concentration } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{Concentration of Batch FDV02328} \times \text{Volume of sample} + \text{Concentration of spiked monovalent} \times \text{Spiked volume}}{\text{Volume of Batch FDV02328} + \text{Spiked volume} + \text{Volume of diluent}}$$

(con el volumen expresado en mL y la concentración en µg/mL).

Ejemplo:

- En el nivel 1 para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1):

$$\text{Theoretical expected concentration } (\mu\text{g/mL}) = \frac{33 \times 15.000 + 234.062 \times 1.108}{15.000 + 1.108 + 0.000} = 46,830 \mu\text{g/mL}$$

Se han obtenido los siguientes resultados que se indican en la Table 27.



Tabla 27: Linealidad: Concentraciones medidas frente a concentraciones teóricas previstas (µg/mL)

Cepa	Nivel	Muestra de QIV lote FDV02328		Monovalente con agregado		Diluyente PBS IXC Volumen (mL)	Concentración teórica prevista (µg/mL)	Serie 1	Serie 2	Serie 3
		Concentración (µg/mL)	Volumen (mL)	Concentración (µg/mL)	Volumen (mL)					
A/H1N1/California /7/2009	1	33	15,000	234,062	1,108	0,000	47,757	50,732	49,240	51,083
	2		1,000		0,000	0,000	33,995	37,083	34,284	35,280
	3		9,000		0,000	1,900	28,069	29,922	27,154	30,771
	4		9,000		0,000	4,900	22,011	22,494	24,278	23,140
	5		9,000		0,000	9,000	16,997	17,028	INV*	17,830
A/H3N2/Texas /50/2012	1	32	15,000	208,716	1,275	0,000	48,235	49,678	INV*	49,240
	2		1,000		0,000	0,000	34,594	33,849	36,628	36,052
	3		9,000		0,000	1,900	28,564	28,867	30,703	29,530
	4		9,000		0,000	4,900	22,399	23,024	24,971	22,620
	5		9,000		0,000	9,000	17,297	17,813	18,262	17,935
B/Brisbane /60/2008 antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134	1	34	20,000	198,414	1,146	0,000	45,534	43,605	46,695	44,747
	2		1,000		0,000	0,000	36,774	34,778	38,334	37,960
	3		18,000		0,000	6,100	27,466	26,171	30,008	28,601
	4		18,000		0,000	12,700	21,561	19,822	23,168	22,305
	5		18,000		0,000	21,800	16,631	16,534	17,407	16,848
B/Brisbane /60/2008 antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134	1	34	20,000	206,050	1,146	0,000	46,668	46,260	45,019	46,811
	2		1,000		0,000	0,000	37,536	37,397	35,100	37,632
	3		18,000		0,000	6,100	28,035	28,536	28,483	29,263
	4		18,000		0,000	12,700	22,008	22,558	22,280	21,420
	5		18,000		0,000	21,800	16,976	16,980	17,345	16,413
B/Massachusetts /2/2012 antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134	1	35	20,000	155,119	1,834	0,000	43,127	37,003	38,887	44,662
	2		1,000		0,000	0,000	32,857	29,636	34,541	36,146
	3		18,000		0,000	6,100	24,540	20,451	23,684	26,756
	4		18,000		0,000	12,700	19,265	17,232	19,406	19,932
	5		18,000		0,000	21,800	14,860	12,480	15,222	14,822
B/Massachusetts /2/2012 antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134	1	35	20,000	155,119	1,834	0,000	44,374	36,099	36,112	42,868
	2		1,000		0,000	0,000	34,219	30,549	27,702	35,045
	3		18,000		0,000	6,100	25,558	22,052	19,736	24,701
	4		18,000		0,000	12,700	20,063	INV*	16,802	19,798
	5		18,000		0,000	21,800	15,476	12,759	13,170	14,205

* INV: Valor no válido (el intervalo de confianza del título no respeta los criterios de validez del método)

La linealidad en el rango seleccionado se prueba mediante los siguientes pasos, aplicados a los datos presentados en la Table 27.

- Se verifica la homogeneidad de las varianzas límite mediante la prueba de Cochran.



- La dependencia entre la concentración teórica de hemaglutinina y la concentración medida de hemaglutinina, así como la linealidad de esta relación, se analizan mediante una regresión lineal no ponderada utilizando el método de los mínimos cuadrados. Debe mostrar una pendiente significativa y una desviación no significativa de la linealidad.

Nota: todos los cálculos se realizan en logaritmos, ya que la distribución de los datos es logarítmica normal.

Para cada cepa se llevó a cabo un análisis estadístico detallado:

- La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los 5 niveles son homogéneas.
- El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente es significativa y de que hay un buen ajuste de la regresión lineal: existe una dependencia lineal entre la concentración teórica (en logaritmos) y la concentración medida (en logaritmos).

4.3.3.3.1 Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)

Los resultados de linealidad para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) se presentan en la Table 28 y en la Figure 1.

Tabla 28: Linealidad, cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1): ecuación de la recta de regresión

ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (0,024 \pm 0,095) + (1,005 \pm 0,065) \cdot X$	R ² = 0,9895	[16,500-46,830]
Donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		

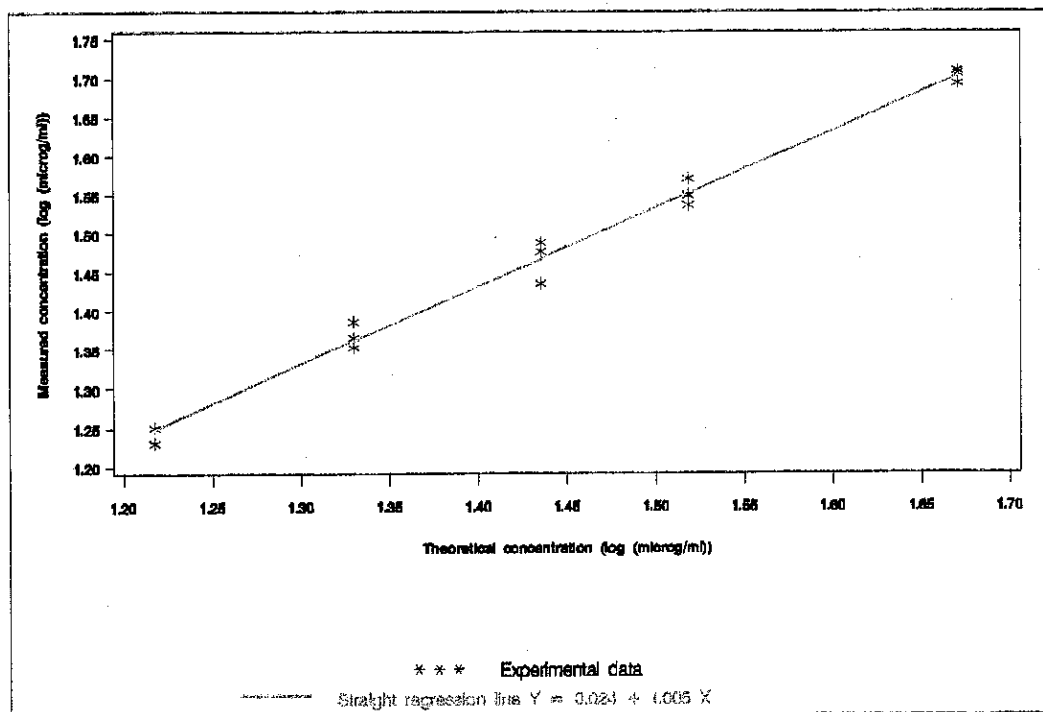
P_{linealidad} < 0,0001
 P_{falta de ajuste} = 0,88

El método es lineal en el rango de [16,5-46,8] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1).



Figura 1: Gráfico de linealidad, cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)



4.3.3.3.2 Cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)

Los resultados de linealidad para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2) se presentan en la Table 29 y en la Figure 2.

Tabla 29: Linealidad, cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2): ecuación de la recta de regresión

ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (0,104 \pm 0,077) + (0,960 \pm 0,055) \cdot X$	$R^2 = 0,9918$	[16,000 - 45,844]
donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		

$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$
 $P_{\text{falta de ajuste}} = 0,85$

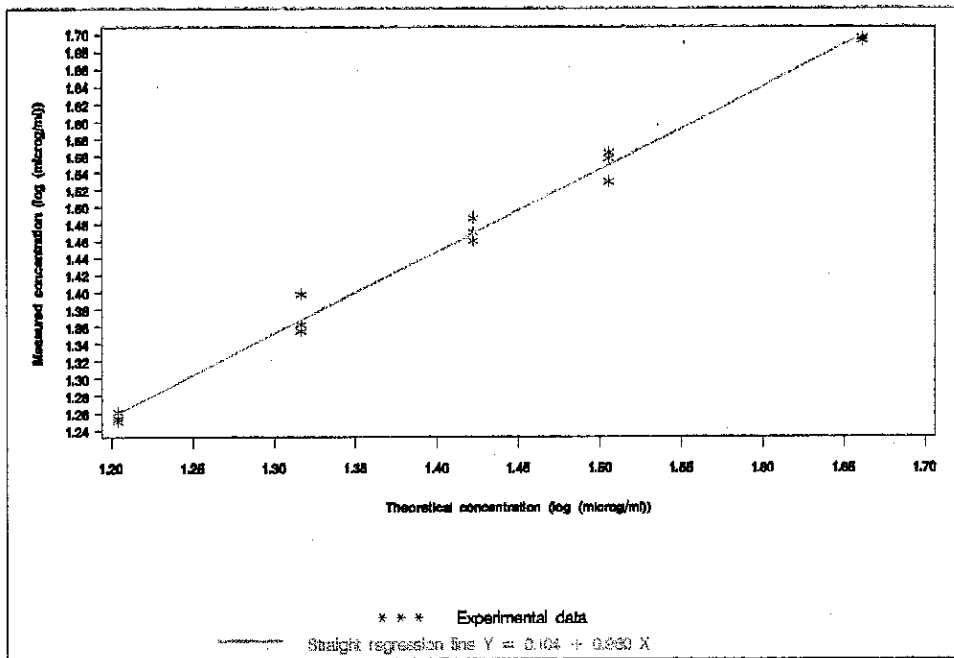
El método es lineal en el rango de [16,0-45,8] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S.A.



Figura 2: Gráfico de linealidad, cepa A/Texas/50/2012 (NYMC X-223A) (H3N2)



4.3.3.3 Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (referencia bivalente): antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134

Los resultados de linealidad para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) se presentan en la Table 30 y en la Figure 3.

Tabla 30: Linealidad, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134): ecuación de la recta de regresión

ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (0,090 \pm 0,113) + (0,962 \pm 0,079) \cdot X$	$R^2 = 0,9814$	[15,377-42,910]
Donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		

P_{linealidad} < 0,0001
 P_{falta de ajuste} = 0,83

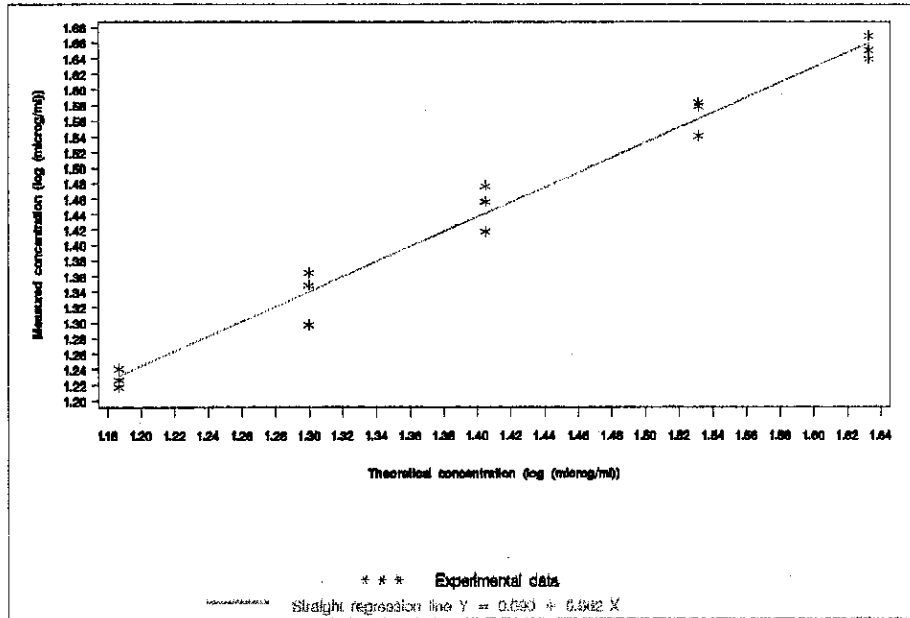
El método es lineal en el rango de [15,4-42,9] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa B/Brisbane/60/200 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134).

ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 APODERADA
 SANOFI PASTEUR S. A.



Figura 3: Gráfico de linealidad, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134)



4.3.3.4 Cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (referencia bivalente): antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134

Los resultados de linealidad para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) se presentan en la Table 31 y en la Figure 4.

Tabla 31: Linealidad, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134): ecuación de la recta de regresión

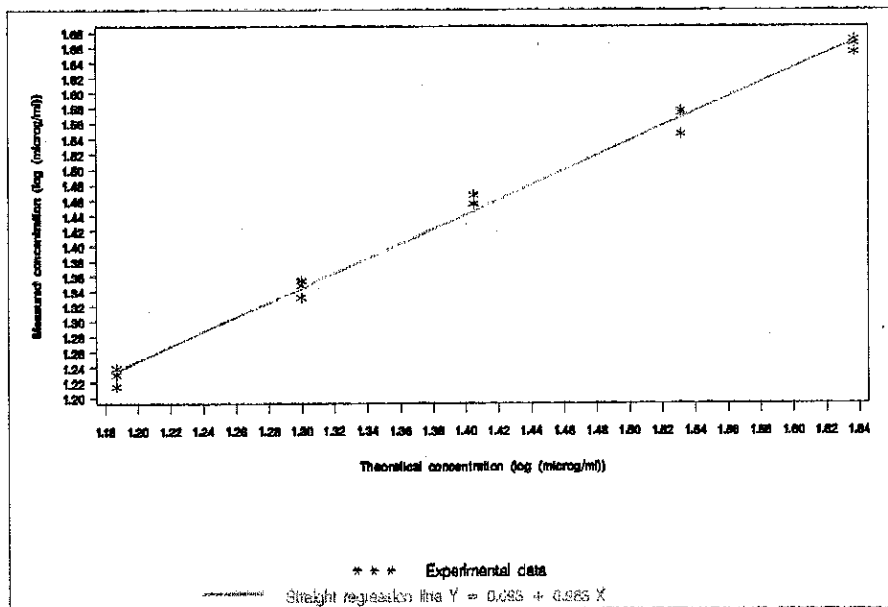
ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (0,093 \pm 0,064) + (0,963 \pm 0,045) \cdot X$	$R^2 = 0,9939$	[15,377-43,324]
Donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		

$P_{linealidad} < 0,0001$
 $P_{falta\ de\ ajuste} = 0,18$

El método es lineal en el rango de [15,4-43,3] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134).

Figura 4: Gráfico de linealidad, cepa B/Brisbane/60/2008 (linaje Victoria) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134)



4.3.3.3.5 Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (referencia bivalente): antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134

Los resultados de linealidad para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) se presentan en la Table 32 y en la Figure 5.

Tabla 32: Linealidad, cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134): ecuación de la recta de regresión

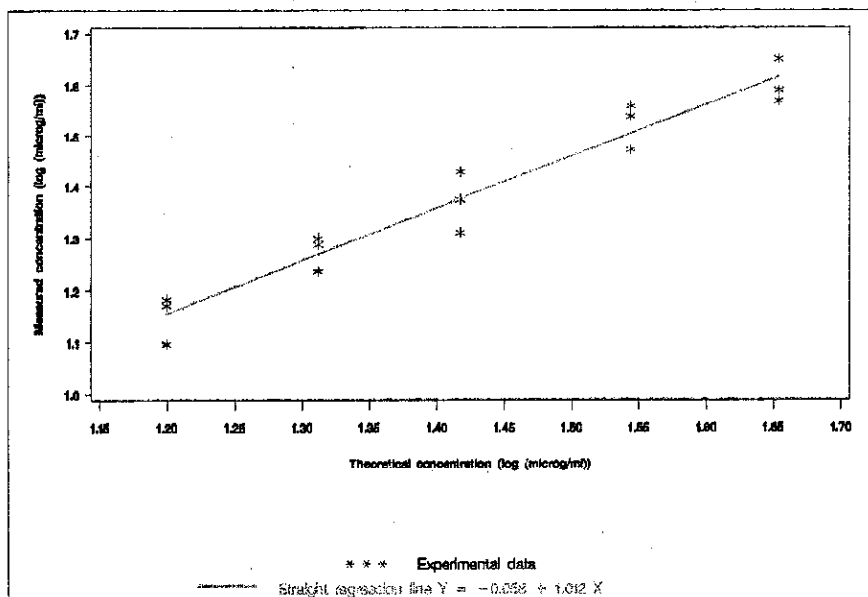
ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (-0,058 \pm 0,208) + (1,012 \pm 0,145) \cdot X$	R ² = 0,9458	[15,829-45,090]
Donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		
P _{linealidad}	<0,0001	
P _{falta de ajuste}	= 0,84	

El método es lineal en el rango de [15,8-45,1] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134).



Figura 5: Gráfico de linealidad, cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2011/89B + NIBSC 13/134)



4.3.3.3.6 Cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (referencia bivalente): antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134

Los resultados de linealidad para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) se presentan en la Table 33 y en la Figure 1.

Tabla 33: Linealidad, cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134): ecuación de la recta de regresión

ecuación de la recta de regresión	Coefficiente de determinación (R ²)	Rango de linealidad en µg/mL
$Y = (-0,075 \pm 0,202) + (1,007 \pm 0,140) \cdot X$	$R^2 = 0,9533$	[15,829 - 45,090]
Donde: X = concentración teórica (log[µg/mL]) Y = concentración medida (log[µg/mL])		

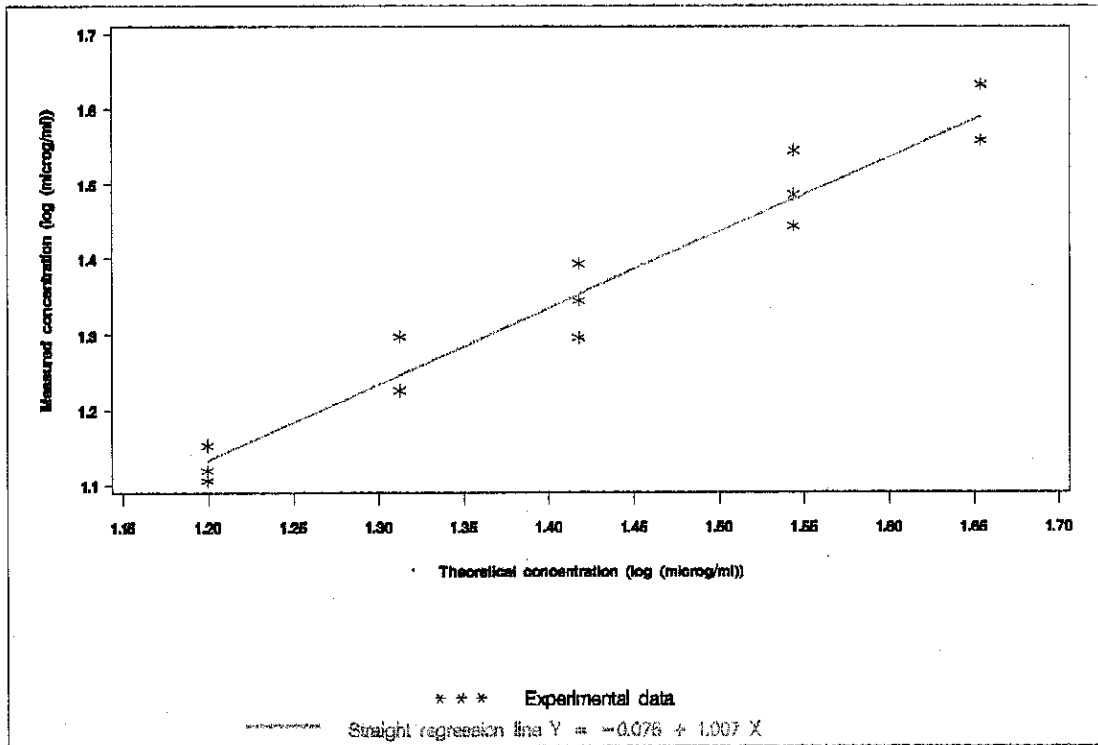
$P_{linealidad} < 0,0001$
 $P_{falta\ de\ ajuste} = 0,87$

El método es lineal en el rango de [15,8-45,1] µg/mL.

Todos los resultados cumplieron los criterios de aceptación, por lo que el método es lineal para la cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134).



Figura 6: Gráfico de linealidad, cepa B/Massachusetts/2/2012 (linaje Yamagata) (antígeno TGA 2014/101B + NIBSC 13/134)



4.3.3.4 Exactitud

Para cada cepa, el diseño experimental se basó en 3 series independientes realizadas por 3 operadores. Cada corrida incluyó el análisis de un rango de 5 concentraciones de antígeno HA (3 vacunas diluidas, 1 vacuna sin diluir y 1 vacuna con agregado). Los datos sometidos a análisis son las concentraciones de antígeno HA, expresadas en $\mu\text{g/mL}$ y se presentan en la Table 27. La exactitud se estudia en 5 niveles de concentración.

La exactitud se prueba mediante los siguientes pasos, aplicados a los datos de la Table 27:

- Se calcula la recuperación porcentual para cada nivel de concentración teórica prevista de antígeno HA y para cada grupo.
- Se verifica la homogeneidad de las varianzas intraniveles mediante la prueba de Cochran.
- En función de la homogeneidad, la no significancia de las diferencias entre los niveles de concentración esperada teórica se comprueba con un análisis adecuado de varianza.
- Una vez demostrada la igualdad de las medias interniveles, se calcula la recuperación porcentual promedio con los límites de confianza del 95 %.

4.3.3.4.1 Cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1)

Los cálculos para la cepa A/California/7/2009 (NYMC X-179A) (H1N1) se presentan en la Table 34.

