

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los tres grupos son homogéneas.

Se describen las características de repetibilidad y precisión intermedia y el intervalo de confianza del 95 % para 1 serie con 3 mediciones que se realizan de manera habitual en la tabla 45, tabla 46 y tabla 47 para el tipo 1, tipo 2 y tipo 3, respectivamente.

**Tabla 45: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 1**

Características	Media general	Coefficiente de variación	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 %
Características de repetibilidad	8,69 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL)	1,5%	0,13	/
Características de precisión intermedia		1,5%	0,13	± 0,16 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL).

Como el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es inferior a ± 0.5 log(DICC<sub>50</sub>/mL), el método es preciso para el tipo 1.

**Tabla 46: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 2**

Características	Media general	Coefficiente de variación	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 1 serie con 3 mediciones
Características de repetibilidad	8,84 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL)	1,1 %	0,10	/
Características de precisión intermedia		1,3 %	0,12	± 0,19 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL).

Como el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es inferior a ± 0.5 log(DICC<sub>50</sub>/mL), el método es preciso para el tipo 2.

**Tabla 47: Resultados estadísticos de la evaluación de la repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus: tipo 3**

Características	Media general	Coefficiente de variación	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 1 serie con 3 mediciones
Características de repetibilidad	8,60 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL)	0,90%	0,08	/
Características de precisión intermedia		0,92%	0,08	± 0,10 log <sub>10</sub> (DICC <sub>50</sub> /mL).

Como el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es inferior a ± 0,5 log<sub>10</sub>(DICC<sub>50</sub>/mL), el método es preciso para el tipo 3.





### 3.3.2.2.3 Conclusión

El método es específico.

El método es lineal en el rango:

- Tipo 1:  $[5,12 - 8,95] \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .
- Tipo 2:  $[4,65 - 10,94] \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .
- Tipo 3:  $[4,26 - 10,78] \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .

La exactitud queda demostrada en el mismo rango, con una recuperación de:

- Tipo 1: entre el 102 % y el 108 %.
- Tipo 2: entre el 108% y el 107%.
- Tipo 3: entre el 101% y el 105%.

El método es preciso, dado que el intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia es igual a:

- $\pm 0,16 \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .
- $\pm 0,19 \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .
- $\pm 0,10 \log_{10}(\text{DICC}_{50}/\text{mL})$ .

El método es válido para determinar el título infeccioso en la vacuna antipoliomielítica inactivada en las etapas de cosecha individual y bruta.

*Nota: Esta validación del método cubre también las etapas de lotes de siembra maestros, lotes de siembra submaestros y lotes de siembra de trabajo.*

### 3.3.3 Métodos de validación de la suspensión viral purificada y concentrada

Se presenta a continuación la validación de los procedimientos analíticos de la suspensión viral purificada y concentrada no descritos en la Ph. Eur. se presenta a continuación.

#### 3.3.3.1 Contenido proteico

##### 3.3.3.1.1 Panorama

La adición de una sal de cobre en un medio alcalino, seguida del reactivo de FOLIN CIOCALTEU, a una solución de proteínas produce un color azul oscuro. La intensidad de este último se mide por espectrofotometría a 760 nm.

Dado que muchos compuestos no proteicos pueden afectar a la intensidad del color, la precipitación de las proteínas de antemano mejora la especificidad del análisis.

Debido a que el método es un análisis cuantitativo, las características estudiadas son la especificidad, la linealidad, la exactitud y la precisión intermedia.

Como la longitud de onda (760 nm) no es específica del complejo formado, no se llevará a cabo el estudio de especificidad.



Las concentraciones de los 3 serotipos de suspensión viral purificada y concentrada se comparan con las concentraciones equivalentes. En consecuencia, el estudio de precisión se lleva a cabo sobre el serotipo 1.

- Linealidad y exactitud: tres operadores realizaron tres pruebas independientes durante 3 días. Cada prueba incluía un rango de 5 concentraciones de muestra de prueba.
- Precisión: se analizaron 3 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 días diferentes. En cada grupo 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 en un plazo breve.

Se presenta un resumen de la validación en la tabla 48.





Tabla 48: Contenido proteico: resumen de validación

Características	Criterios de aceptación	Resultados
<b>Linealidad</b>	$P_{\text{linealidad}} \leq 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,05$	Después de un ajuste lineal de $Y =$ concentración medida en función de $X =$ concentración teórica, se observan las siguientes relaciones: <b>Tipo 1:</b> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,50$ $Y = -0,959 + 1,012 \cdot X$ Rango de linealidad: [53 - 165] $\mu\text{g/mL}$ <b>Tipo 2:</b> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,96$ $Y = -0,648 + 0,997 \cdot X$ Rango de linealidad: [9 - 112] $\mu\text{g/mL}$ <b>Tipo 3:</b> $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,17$ $Y = -4,654 + 1,121 \cdot X$ Rango de linealidad: [2 - 115] $\mu\text{g/mL}$
<b>Exactitud</b>	La recuperación porcentual promedio calculada para los niveles de concentración teórica se encuentra entre el 80 % y el 120 %.	Las recuperaciones porcentuales promedio son las siguientes: <b>Tipo 1:</b> del 98 % al 102 %. <b>Tipo 2:</b> del 97% al 99%. <b>Tipo 3:</b> del 97 % al 111 %.
<b>Precisión</b>	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser superior a $\pm 30 \mu\text{g/mL}$ .	El estudio de precisión se lleva a cabo en un lote de tipo 1 y cubre los tipos 2 y 3. - Media general: $\bar{m} = 122 \mu\text{g/mL}$ - Los coeficientes de variación de la precisión intraoperador e intermedia son ambos iguales al: 8,12 %. - Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 serie con 1 medición: $\pm 23 \mu\text{g/mL}$ .

3.3.3.1.2 Resultados

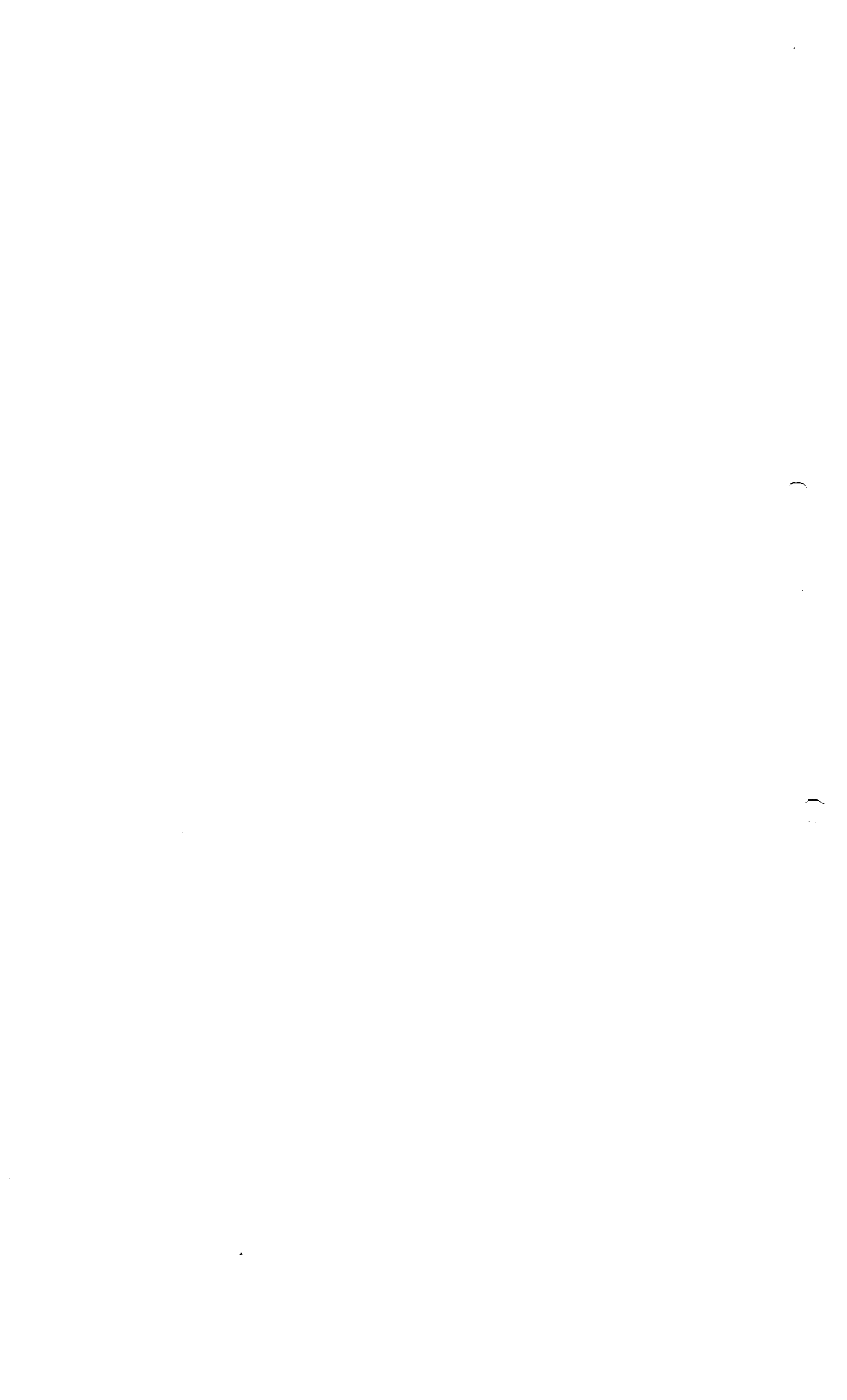
Los datos son concentraciones de proteínas expresadas en  $\mu\text{g/mL}$ .

• Linealidad

La concentración promedio de proteínas en la muestra pura es la media de 3 grupos:

- $P_{\text{urTipo1}} = 124,13 \mu\text{g/mL}$ .
- $P_{\text{urTipo2}} = 75,21 \mu\text{g/mL}$ .
- $P_{\text{urTipo3}} = 69,47 \mu\text{g/mL}$

La concentración teórica de proteínas en la muestra se calcula del siguiente modo:





$$\text{Concentración teórica} = \frac{\text{MVC\_qty} \times \text{Pur}}{\text{Pur\_qty}}$$

Donde:

MVC\_qty: volumen de suspensión viral purificada y concentrada (mL).

Pur: concentración de proteínas en la muestra pura (µg/mL).

Pur\_qty: volumen de muestra pura = 0,2 mL para el tipo 1 e = 0,4 mL para los tipos 2 y 3.

Los resultados para cada serotipo se presentan en las siguientes tablas.

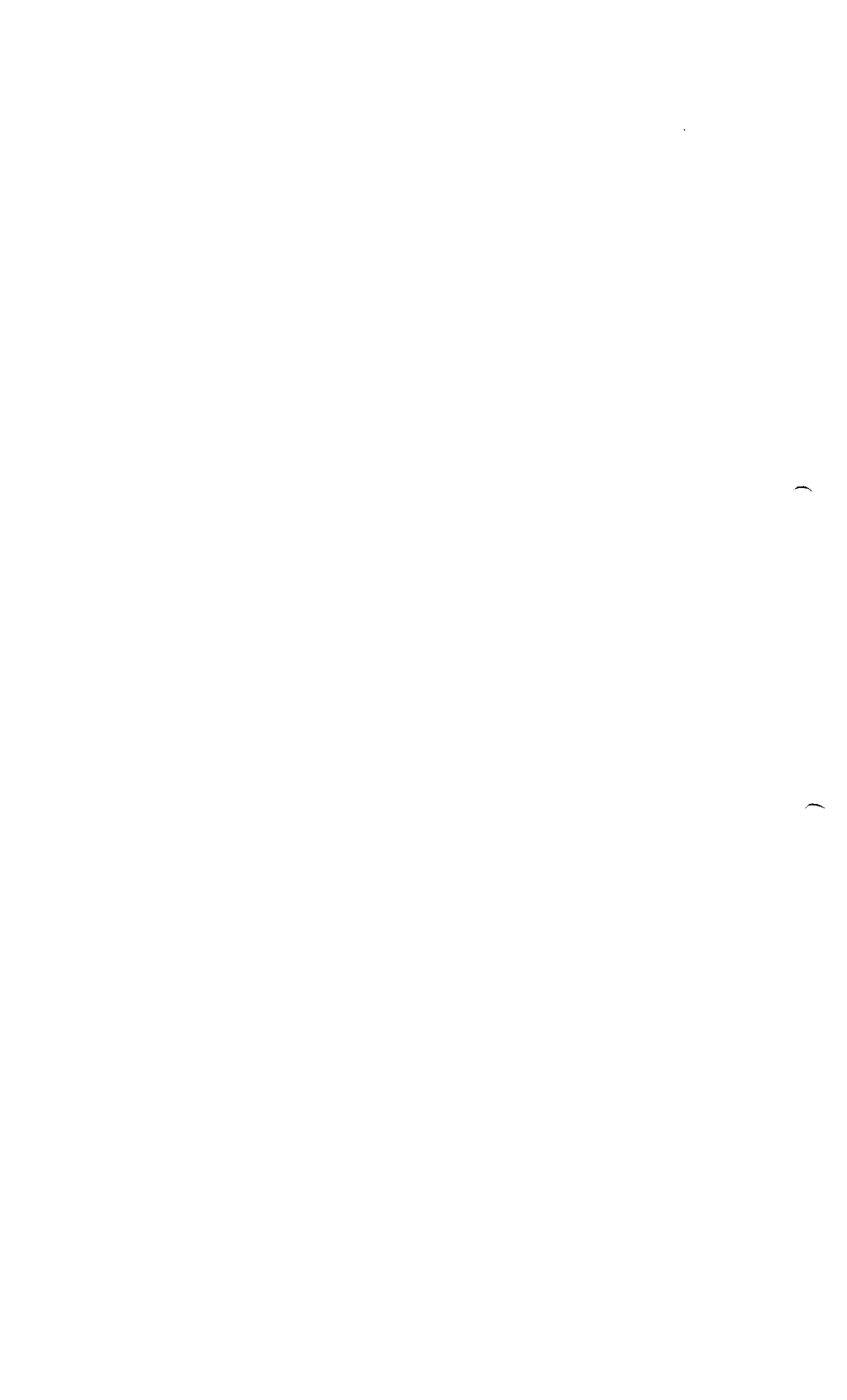
**Linealidad para el tipo 1**

**Tabla 49: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 1 (µg/mL)**

Concentración teórica (µg/mL)	Volumen de suspensión viral purificada y concentrada (mL)	Grupo 1 (µg/mL)	Grupo 2 (µg/mL)	Grupo 3 (µg/mL)
62,07	0,10	63,18	63,66	62,36
93,10	0,15	97,58	87,46	89,95
124,13	0,20	126,86	123,63	121,90
155,16	0,25	156,96	154,54	159,24
248,26	0,40	234,28	248,52	219,14

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los 3 grupos no son homogéneas.

La prueba de Dixon muestra un valor aberrante. En consecuencia no se puede llevar a cabo la ecuación de la recta de regresión (vea la figura 4).







Como la concentración más elevada tiene la mayor variabilidad, el análisis de linealidad para el tipo 1 se lleva a cabo sobre las cuatro primeras concentraciones, esto es [62,07 – 155,16 µg/mL].

La prueba de Cochran demuestra que las varianzas de los 3 grupos son homogéneas considerando las cuatro concentraciones.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente y el ajuste correcto de la regresión lineal son significativos. Existe una dependencia lineal entre la concentración teórica y las concentraciones medidas.

La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 5 es la siguiente:

$$Y = (-0,959 \pm 6,523) + (1,012 \pm 0,057) \cdot X$$

Donde:

X: concentración teórica de proteínas (µg/mL).

Y: concentración medida de proteínas (µg/mL).

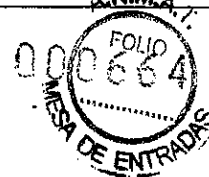
Coefficiente de correlación lineal:  $R^2 = 0,9968$ .

Rango de linealidad: [52,58 - 165,30].









*Linealidad para el tipo 2*

**Tabla 50: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 2 (µg/mL)**

Concentración teórica (µg/mL)	Cantidad de suspensión viral purificada y concentrada (mL)	Grupo 1 (µg/mL)	Grupo 2 (µg/mL)	Grupo 3 (µg/mL)
18,80	0,10	17,76	17,87	18,94
37,61	0,20	36,45	36,36	36,32
75,21	0,40	70,75	79,68	75,21
84,61	0,45	81,53	84,49	84,96
103,42	0,55	95,17	107,28	103,66

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los 3 grupos son homogéneas.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente y el ajuste correcto de la regresión lineal son significativos. Existe una dependencia lineal entre la concentración teórica y las concentraciones medidas.

La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 6 es la siguiente:

$$Y = (-0,648 \pm 4,006) + (0,997 \pm 0,056) \cdot X$$

Donde:

X: concentración teórica de proteínas (µg/mL).

Y: concentración medida de proteínas (µg/mL).

Coefficiente de correlación lineal:  $R^2 = 0,9956$ .

Rango de linealidad: [8,67 - 111,90].

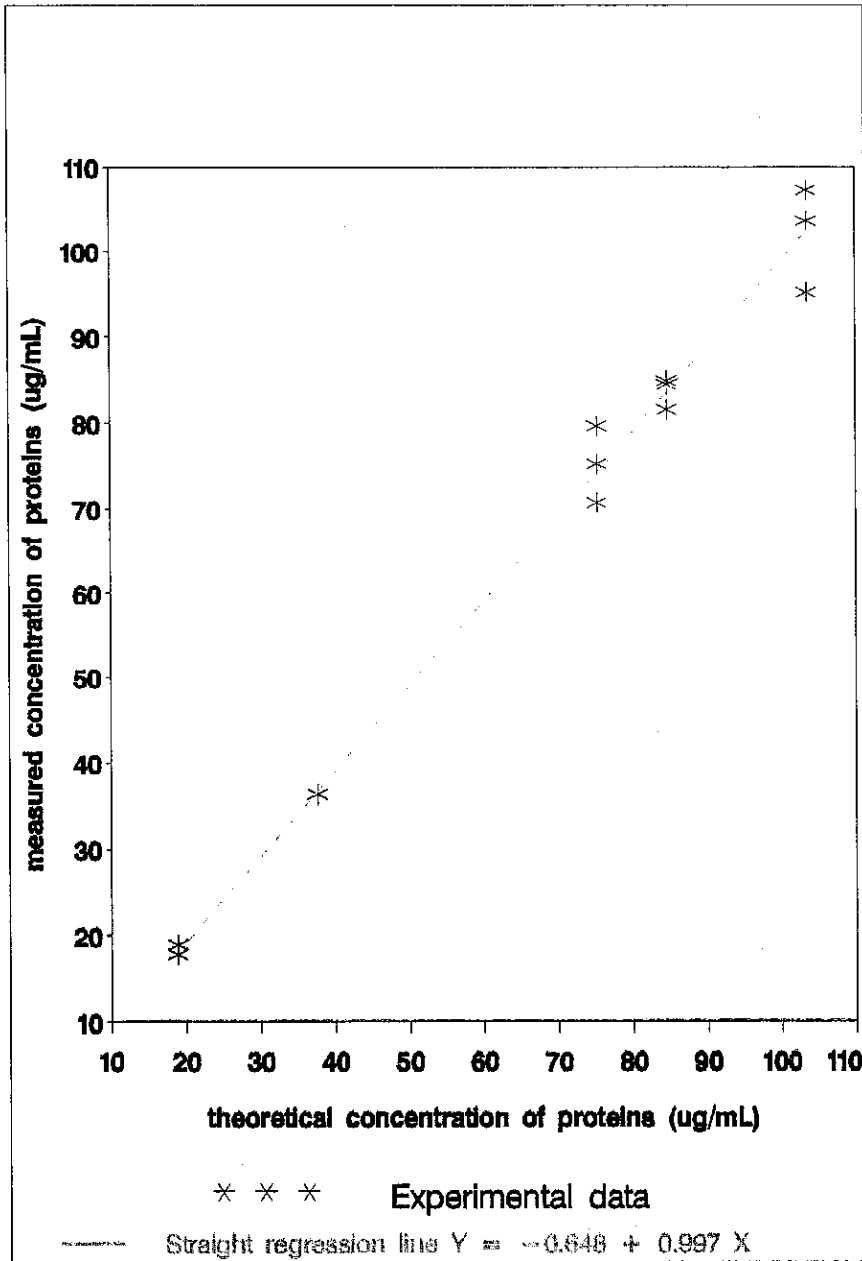
  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

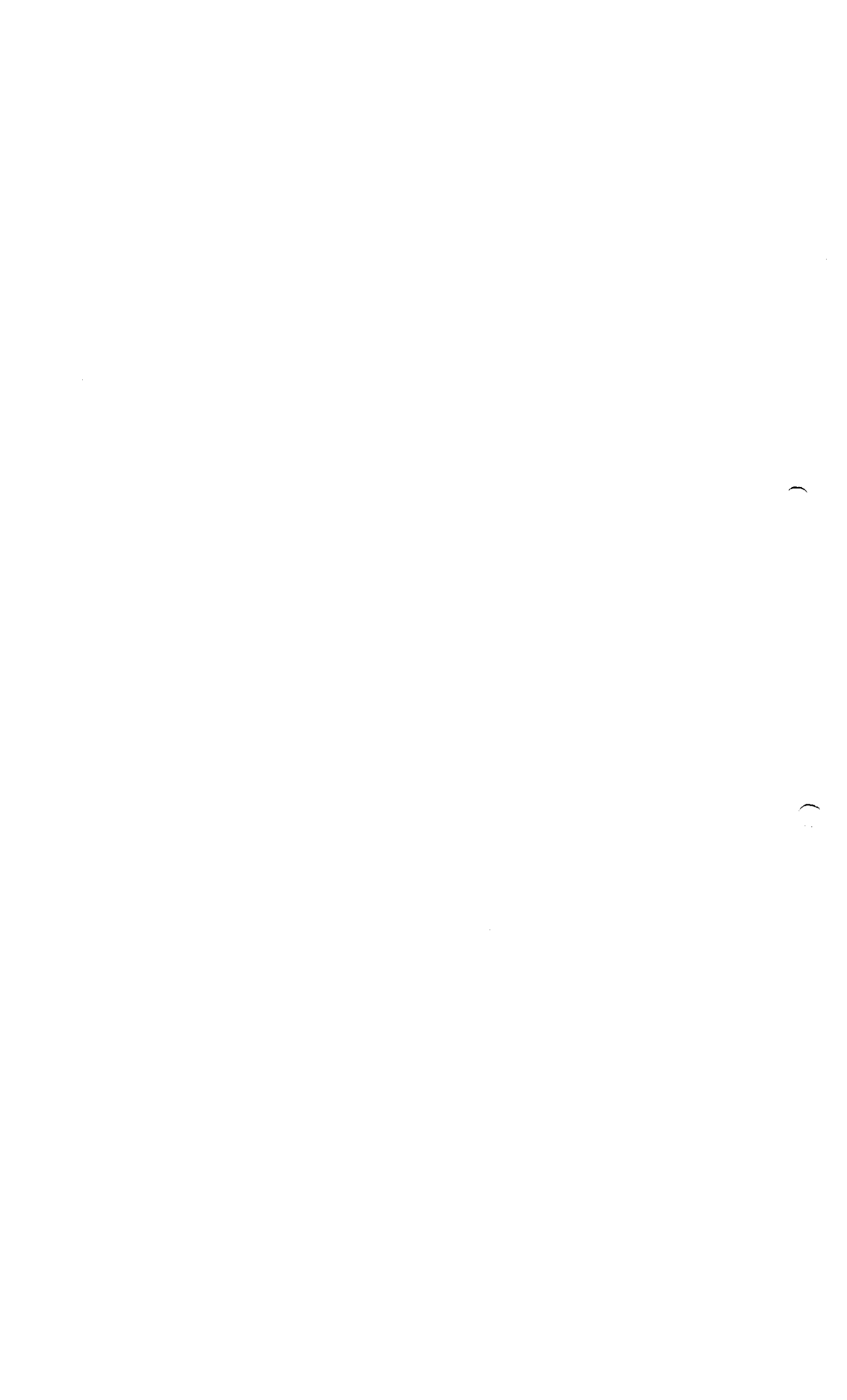
  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.

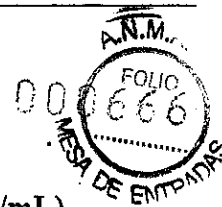




Figura 6: Gráfico de linealidad del tipo 2







*Linealidad para el tipo 3*

**Tabla 51: Linealidad: concentración de proteínas en la muestra del tipo 3 (µg/mL)**

Concentración teórica (µg/mL)	Volumen de suspensión viral purificada y concentrada (mL)	Grupo 1 (µg/mL)	Grupo 2 (µg/mL)	Grupo 3 (µg/mL)
17,37	0,10	16,79	16,34	17,23
34,74	0,20	38,16	29,61	32,84
69,47	0,40	75,79	62,28	70,35
78,16	0,45	83,26	81,26	82,81
95,53	0,55	105,59	107,20	103,88

La prueba de Cochran demuestra que las varianzas de los 3 grupos son homogéneas.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente y el ajuste correcto de la regresión lineal son significativos. Existe una dependencia lineal entre la concentración teórica y las concentraciones medidas.

La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 7 es la siguiente:

$$Y = (-4,654 \pm 5,284) + (1,121 \pm 0,080) \cdot X$$


Donde:

X: concentración teórica de proteínas (µg/mL).

Y: concentración medida de proteínas (µg/mL).

Coefficiente de correlación lineal:  $R^2 = 0,9929$ .

Rango de linealidad: [2,38 - 114,89].

  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

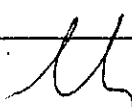
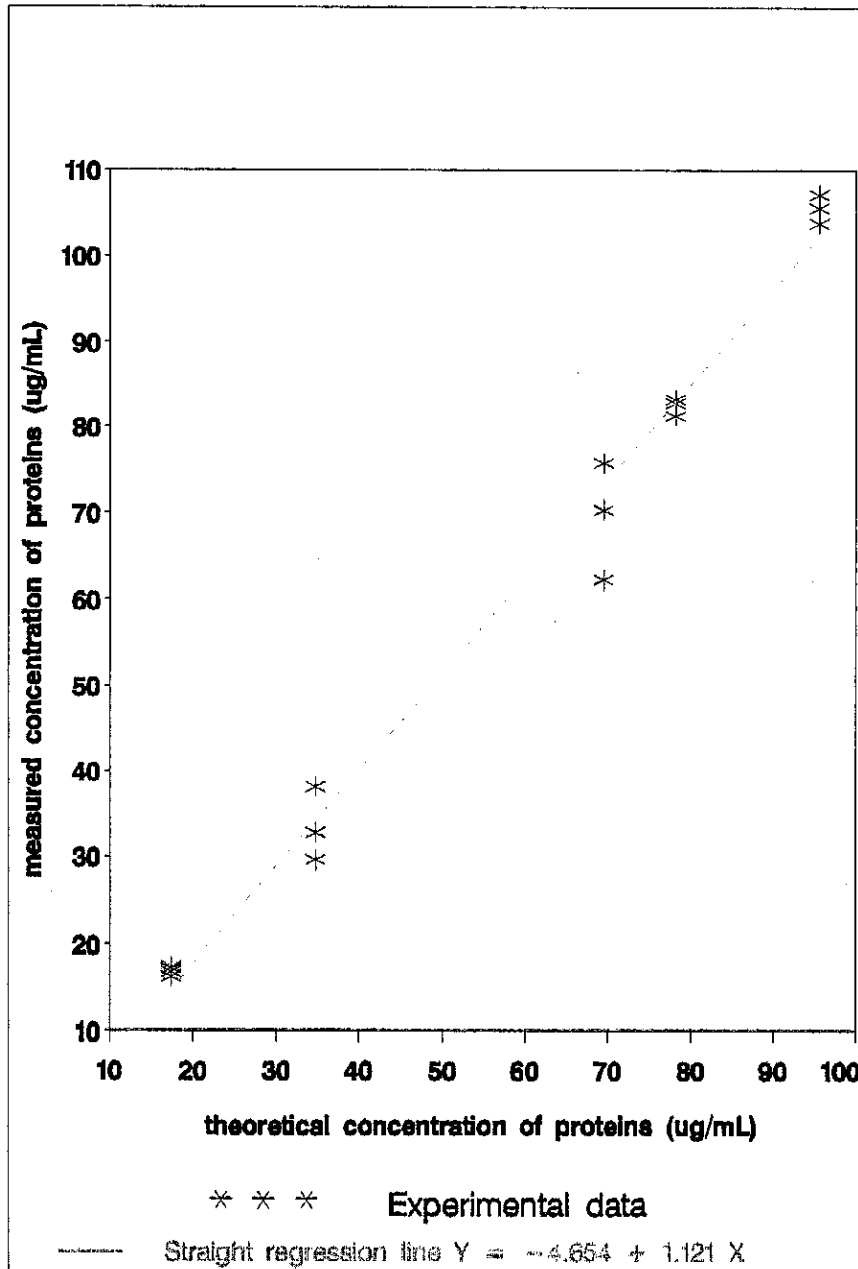
  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





Figura 7: Gráfico de linealidad del tipo 3



- Exactitud

Como las concentraciones teóricas se obtienen para cada tipo por la concentración media de proteína en la muestra pura, los niveles de concentración correspondientes no se incluyen en el estudio de exactitud.

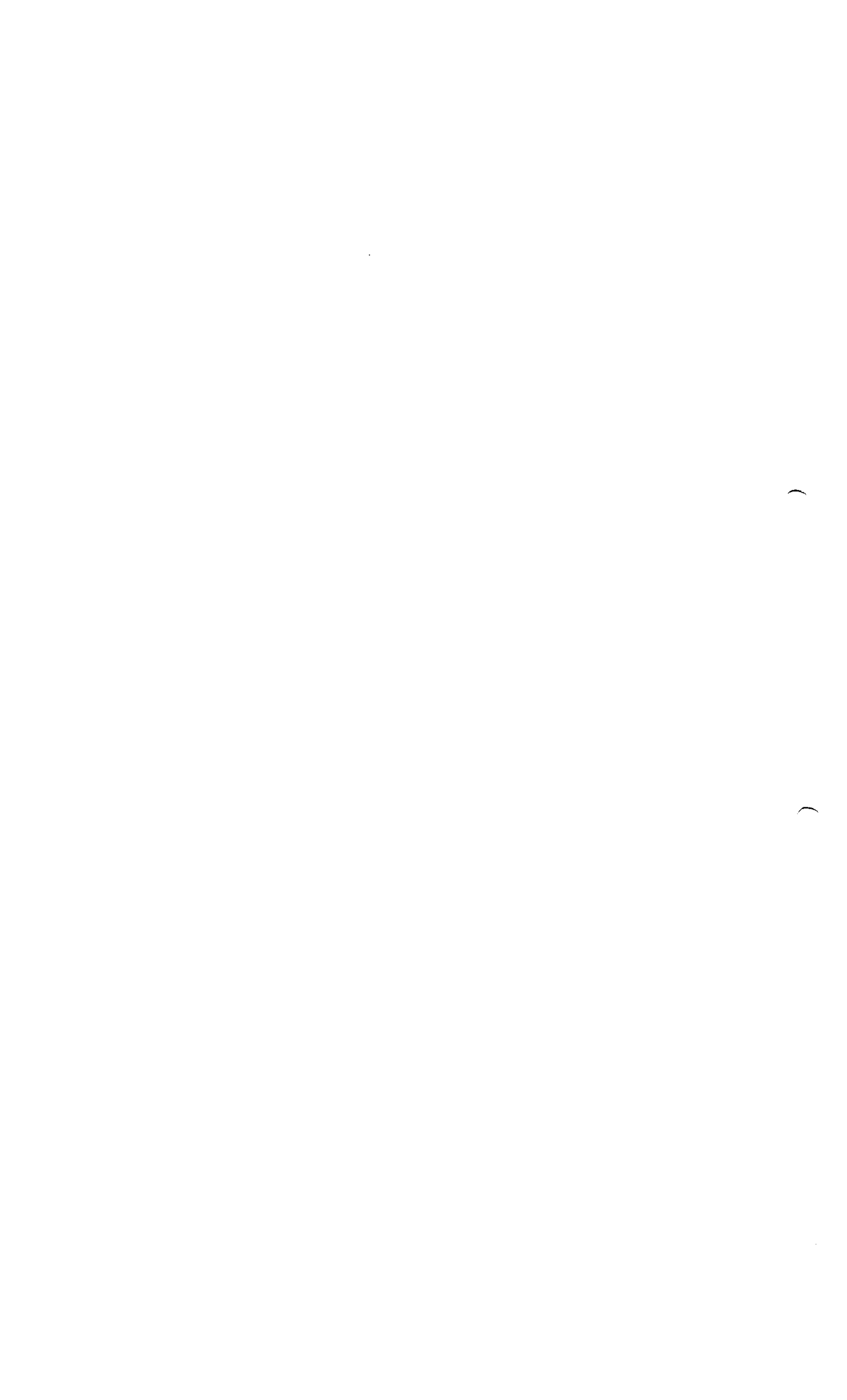


Tabla 52: Correspondencia entre el volumen de la muestra de prueba y el nivel de concentración



Tipo	Volumen de la suspensión viral purificada y concentrada en la muestra pura (mL)	Nivel de concentración correspondiente (µg/mL)
Tipo 1	0,20	124,13
Tipo 2	0,40	75,21
Tipo 3	0,40	69,47

**Exactitud del tipo 1**

El estudio de exactitud se lleva a cabo en las concentraciones de 62,07 µg/mL, 93,10 µg/mL y 155,16 µg/mL, que son las concentraciones utilizadas en el estudio de linealidad. La concentración de 124,13 µg/mL que fue útil para determinar las concentraciones teóricas no se utiliza.

Las recuperaciones porcentuales promedio se presentan en la tabla 53:

Tabla 53: Exactitud del tipo 1: porcentaje de recuperación

Nivel de concentración teórica (µg/mL)	Media (%)
62,07	102
93,10	98
155,16	101

**Exactitud del tipo 2**

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los niveles de concentración teórica son homogéneas.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que las medias entre niveles son iguales.

Las recuperaciones porcentuales promedio se presentan en la tabla 54:

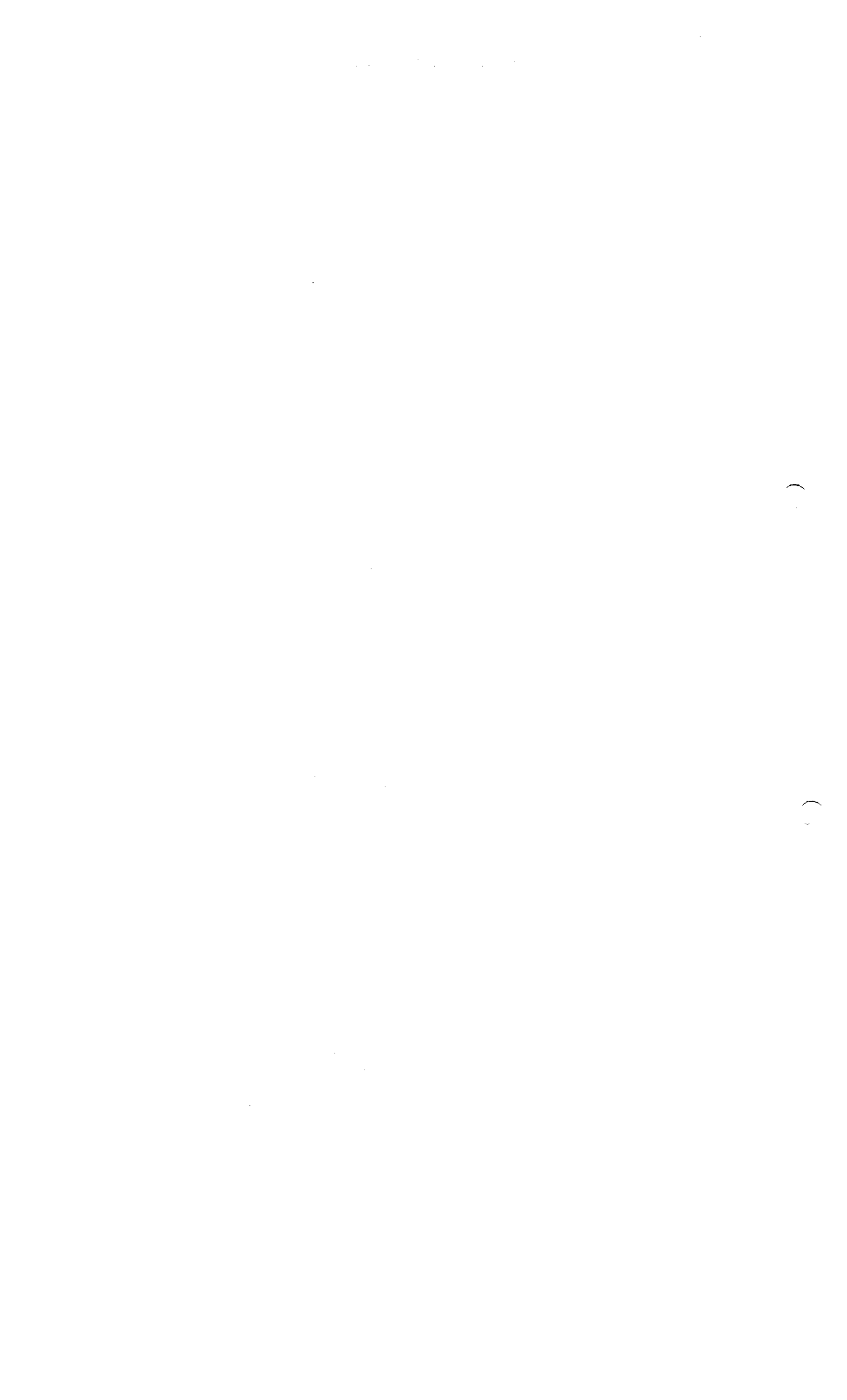
Tabla 54: Exactitud del tipo 2: porcentaje de recuperación

Nivel de concentración teórica (µg/mL)	Media (%)
18,80	97
37,61	97
84,61	99
103,42	99

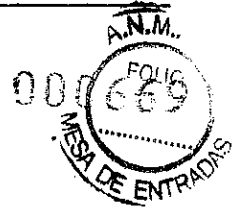
**Exactitud del tipo 3**

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los niveles de concentración teórica no son homogéneas.

El análisis de varianza ponderado de Welch no permite llegar a la conclusión de que las medias entre niveles son iguales.



La recuperación porcentual de cada nivel se presente en la tabla 55:



**Tabla 55: Exactitud del tipo 3: porcentaje de recuperación**

Nivel de concentración teórica (µg/mL)	Media (%)
17,37	97
34,74	97
78,16	105
95,53	111

- Precisión

Los resultados obtenidos para la precisión se presentan en la tabla 56.

**Tabla 56: Precisión: concentración de proteína en la muestra del tipo 1 (µg/mL)**

Grupo 1 (µg/mL)	Grupo 2 (µg/mL)	Grupo 3 (µg/mL)
126,42	112,54	127,98
118,12	107,08	118,11
123,09	135,82	127,78
123,58	119,22	118,65
124,59	124,15	125,18
124,87	118,38	124,10

La prueba de Cochran se halla en el límite de significancia.

La prueba de Dixon muestra un valor aberrante pero el laboratorio no ha identificado la causa de este valor aberrante. Por lo tanto, se elige la máxima variabilidad (el peor de los casos) como variabilidad de la repetibilidad, y es la variabilidad del grupo 2.

En la tabla 57 se presentan las características intraoperador y de precisión intermedia, y el intervalo de confianza del 95 % para una corrida y una medición que se realizan de manera habitual.

**Tabla 57: Características de repetibilidad y precisión intermedia para la concentración de poliovirus**

Características	Coefficiente de variación (%)	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 1 corrida con 1 medición
Características de repetibilidad	8,12	9,920	/
Características de precisión intermedia	8,12	9,920	± 23,456 µg/mL.





### 3.3.3.1.3 Conclusión

- Tipo 1:

El método es lineal en el rango: [53 - 165] µg/mL.

Se demuestra la exactitud en el mismo rango, con una recuperación del 98 % al 102 %.

- Tipo 2:

El método es lineal en el rango: [9 - 112] µg/mL.

Se demuestra la exactitud en el mismo rango, con una recuperación del 97% al 99%.

- Tipo 3:

El método es lineal en el rango: [2 - 115] µg/mL.

Se demuestra la exactitud en el mismo rango, con una recuperación del 97% al 111%.

Para el tipo 1, el método es preciso, ya que el intervalo de confianza de la precisión intermedia es  $\pm 23$  µg/mL para 1 corrida y 1 medición que se realizan de manera habitual. Este resultado es válido para los tipos 2 y 3.

El método de Lowry es válido para medir la concentración proteica en la vacuna antipoliomielítica inactivada, en la etapa de suspensión viral purificada y concentrada para los tipos 1, 2 y 3.

### 3.3.3.2 Contenido de antígeno D (mediante el método sigmoideo)

#### 3.3.3.2.1 Panorama

La titulación del antígeno D en productos con virus de la poliomielitis se determina específicamente para cada serotipo, con respecto a un estándar de referencia de titulación conocida utilizando el método sigmoideo ELISA.

El sistema elegido es un micrométodo de referencia cuantitativo donde el marcador enzimático es la peroxidasa de Raifort, el sustrato es el peróxido de hidrógeno y el indicador es ortodiansidina (ODA).

El método utilizado es "indirecto". Los anticuerpos antipolio pertenecen a 2 especies animales diferentes para cada serotipo, y el combinado es común a los tres tipos y está orientado contra las gammaglobulinas de una de las especies animales.

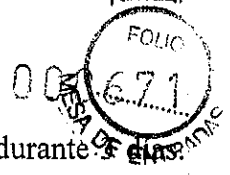
La titulación del antígeno D es una determinación cuantitativa. Para la validación de este método analítico, las características estudiadas son la especificidad, la linealidad, la exactitud y la precisión.

Todos los productos se analizan con 3 diluciones y 3 determinaciones por dilución. Se obtienen nueve densidades ópticas que, por interpolación en la curva del estándar de referencia, conducen a 9 titulaciones expresadas en UD/mL. Cada título está vinculado con una ponderación estadística en función de su ubicación con respecto al punto de inflexión.

Una vez realizadas las compensaciones de dilución, la homogeneidad de estas 9 titulaciones equilibradas se verifica mediante la prueba estadística Khi-2.



La etapa de mezcla viral concentrada cubre la etapa J0 de monovalente inactivado.



- Linealidad y exactitud: tres operadores realizaron tres pruebas independientes durante 3 días. Cada serie incluía un rango de 5 titulaciones teóricas.
- Precisión: se llevaron a cabo 3 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 un plazo breve. En cada grupo 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 en un solo día.

Se presenta un resumen de la validación en la tabla 58.

**Tabla 58: Contenido de antígeno D, resumen de validación**

Características	Criterios de aceptación	Resultados
<b>Especificidad</b>	La especificidad se ha estudiado en este caso evaluando la presencia de señal en ensayos de serotipos cruzados.	- Verificación por densidades ópticas positivas de que para la mezcla viral concentrada tipo 1: señal positiva en la placa tipo 1 y ausencia de señal en las placas tipo 2 y tipo 3. - Verificación por densidades ópticas positivas de que para la mezcla viral concentrada tipo 2: señal positiva en la placa tipo 2 y ausencia de señal en las placas tipo 1 y tipo 3. - Verificación por densidades ópticas positivas de que para la mezcla viral concentrada tipo 3: señal positiva en la placa tipo 3 y ausencia de señal en las placas tipo 1 y tipo 2.
<b>Linealidad</b>	$P_{\text{linealidad}} < 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,05$	Después del ajuste lineal en una escala doble logarítmica de $Y =$ titulación medida respecto a $X =$ titulación teórica, se observa la siguiente relación: Tipo 1: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} < 0,05$ La curvatura insignificante en relación con la pendiente de la regresión: $Y = 0,736 + 0,810 \cdot X$ Rango de linealidad: [5954 – 24927] UD/mL. Tipo 2: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,09$ $Y = -0,112 + 1,024 \cdot X$ Rango de linealidad: [552 – 5256] UD/mL. Tipo 3: $P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,53$ $Y = 0,021 + 0,998 \cdot X$ Rango de linealidad: [2047 – 12314] UD/mL.





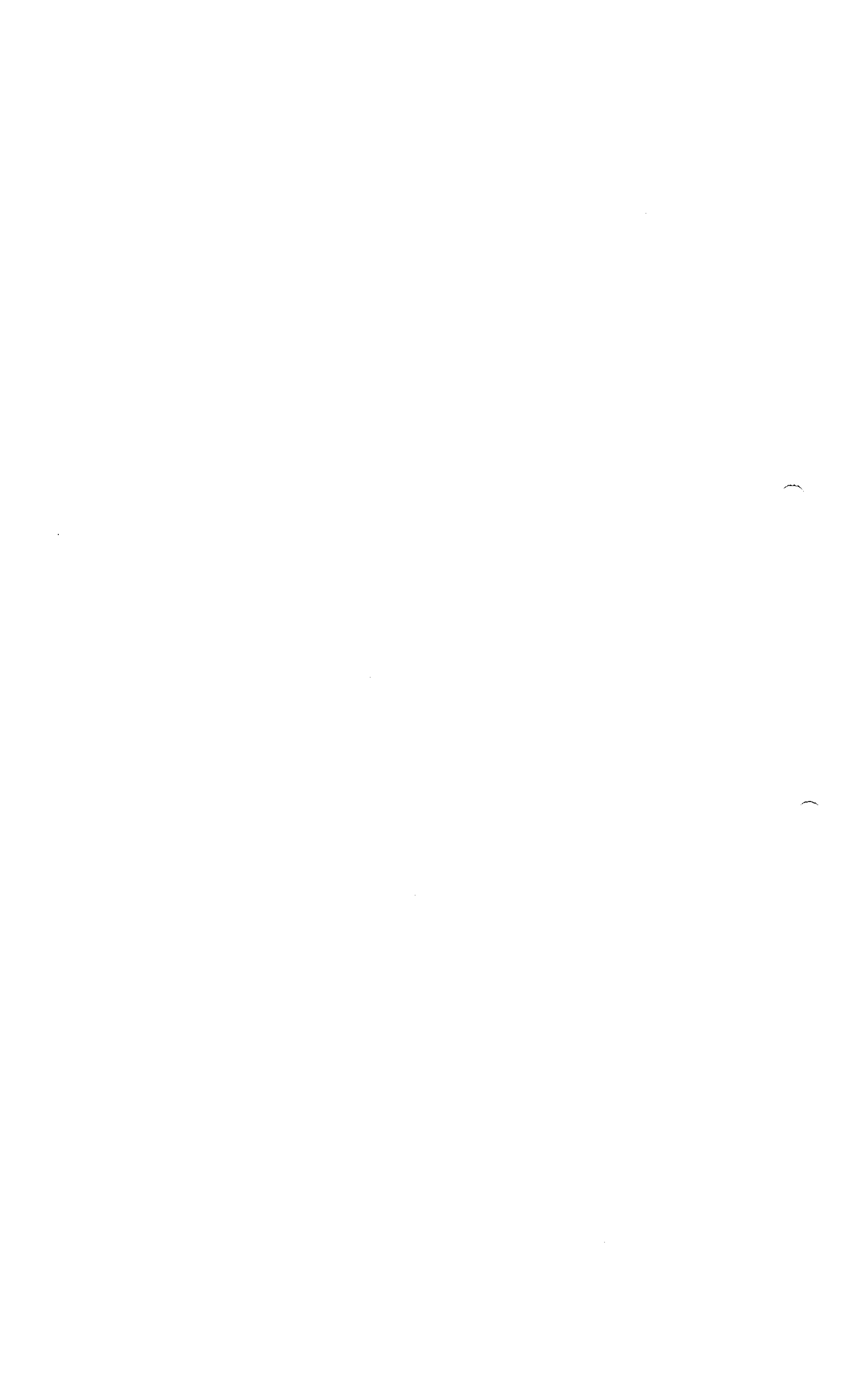
Características	Criterios de aceptación	Resultados
<b>Exactitud</b>	La recuperación porcentual promedio calculada para los títulos teóricos debe estar entre el 80 % y el 120 %.	La recuperación porcentual promedio y sus límite de confianza de 95 % son los siguientes: <u>Tipo 1:</u> Para los niveles teóricos 6 776 y 10 855 UD/mL: 98 % [97 % - 100 %]. Para el nivel teórico 17 337 UD/mL: 85% [72% - 97%]. <u>Tipo 2:</u> 93% [90% - 96%]. <u>Tipo 3:</u> 104% [101% - 106%].
<b>Precisión</b>	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia debe ser menor o igual que $x \pm 1,20$ .	<u>Tipo 1:</u> - Media general: 11 723 UD/mL. Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 2 corridas con 1 medición que se realizan habitualmente: $\pm 0,048$ es decir, $x \pm 1,12$ en notación aritmética. <u>Tipo 2:</u> - Media general: 2 193 UD/mL. Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 2 corridas con 1 medición que se realizan habitualmente: $\pm 0,023$ es decir, $x \pm 1,05$ en expresión aritmética. <u>Tipo 3:</u> - Media general: 5 957 UD/mL. Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 2 corridas con 1 medición que se realizan habitualmente: $\pm 0,040$ es decir, $x \pm 1.10$ en expresión aritmética.

**3.3.3.2.2 Resultado**

Los datos son títulos de antígeno D expresados en UD/mL. Los resultados se presentan a continuación.

- Especificidad

Los datos para la especificidad del método se presentan en la tabla 59 a la tabla 61.



FOLIO  
030673  
DE ENTRADAS

Tabla 59: Promedios del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 1

Media de las dos DO	Trivalente de control de validez FA213875		Suspensión viral concentrada Tipo 1 FA283667		Suspensión viral concentrada Tipo 2 FA283541		Suspensión viral concentrada Tipo 3 FA278759	
	La dilución inicial produce diluciones secundarias hasta factorial 2,5	1:2	0,7560	1:350	0,7585	01:10 a.m.	0,0000	01:10 a.m.
Segunda dilución	1:5	0,6490	1:875	0,6020	01:25 a.m.	0,0000	01:25 a.m.	0,0000
Tercera dilución	1:12,5	0,4170	1:2187,5	0,3675	1:62,5	0,0000	1:62,5	0,0000

Tabla 60: Medias del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 2

Media de las dos DO	Trivalente de control de validez FA213875		Suspensión viral concentrada Tipo 1 FA283667		Suspensión viral concentrada Tipo 2 FA283541		Suspensión viral concentrada Tipo 3 FA278759	
	La dilución inicial produce diluciones secundarias hasta factorial 2,5	1:2	0,5990	01:10 a.m.	0,0000	1:230	0,6165	01:10 a.m.
Segunda dilución	1:5	0,4675	01:25 a.m.	0,0000	1:575	0,4695	01:25 a.m.	0,0000
Tercera dilución	1:12,5	0,2660	1:62,5	0,0000	1:1437,5	0,2830	1:62,5	0,0000

Tabla 61: Medias del valor de la densidad óptica (DO) del testigo del reactivo para el tipo 3

Media de las dos DO	Trivalente de control de validez FA213875		Suspensión viral concentrada Tipo 1 FA283667		Suspensión viral concentrada Tipo 2 FA283541		Suspensión viral concentrada Tipo 3 FA278759	
	La dilución inicial produce diluciones secundarias hasta factorial 2,5	1:2	0,4920	01:10 a.m.	0,0000	01:10 a.m.	0,0000	1:200
Segunda dilución	1:5	0,3350	01:25 a.m.	0,0000	01:25 a.m.	0,0000	1:500	0,3970
Tercera dilución	1:12,5	0,2445	1:62,5	0,0000	1:62,5	0,0000	1:1250	0,2690

La especificidad se llevó a cabo realizando una reactividad cruzada entre los tres tipos. Los análisis han demostrado la especificidad de los anticuerpos hacia cada tipo de poliovirus.

Tabla 62: Resultados de la reactividad cruzada entre los tres tipos

	Placa tipo 1	Placa tipo 2	Placa tipo 3
Mezcla viral concentrada tipo 1 FA283667	Presencia de señal. Densidades ópticas positivas.	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.
Mezcla viral concentrada tipo 2 FA283541	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.	Presencia de señal. Densidades ópticas positivas.	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.
Mezcla viral concentrada tipo 3 FA278759	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.	Ausencia de señal, densidades ópticas inútiles.	Presencia de señal. Densidades ópticas positivas.





• Linealidad

Para cada tipo, se calcula la media general (media geométrica) para determinar el título teórico de la suspensión viral concentrada.

- **Tipo 1:**  $\bar{m} = 4,069$ , que equivale en notación aritmética a: **11 723 UD/mL.**
- **Tipo 2:**  $\bar{m} = 3,341$ , que equivale en notación aritmética a: **2 193 UD/mL.**
- **Tipo 3:**  $\bar{m} = 3,775$ , que equivale en notación aritmética a: **5 957 UD/mL.**

Estos títulos teóricos se utilizan para redefinir el título teórico de la suspensión viral concentrada diluida y con adición.

- **Linealidad diluida, suspensión viral concentrada**

**Tabla 63: Linealidad: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada diluida (UD/mL)**

Tipo	Dilución	Grupo 1 (UD/mL)	Grupo 2 (UD/mL)	Grupo 3 (UD/mL)
1 (Suspensión concentrada 1)	1:2,77	4179	3934	3720
		3788	4044	4084
	1:1,73	7143	6814	6658
		6277	6658	6392
	1:1,08	11 188	10 828	10 839
		10 486	10 737	10 217
2 (Suspensión concentrada 2)	1:3,00	637	654	660
		612	619	663
	1:1,88	1119	1165	1092
		1018	1000	1063
	1:1,17	1720	1991	1886
		1749	1689	1916
3 (Suspensión concentrada 3)	1:2,63	2551	2376	2297
		2317	2319	2136
	1:1,75	3915	3576	3413
		3552	3558	3285
	1:1,17	5709	5681	5261
		5219	5205	5206





- Linealidad con adición, suspensión viral concentrada

**Tabla 64: Linealidad: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada con agregado (UD/mL)**

Tipo	Agregado	Grupo 1 (UD/mL)	Grupo 2 (UD/mL)	Grupo 3 (UD/mL)
Suspensión viral concentrada 1 (C2 = 329 235 UD/mL)	0,090 mL de concentrado 2 + 5 mL de suspensión viral concentrada 1.	14 403	16 273	14 716
		13 513	15 068	14 143
	0,250 mL de concentrado 2 + 4,750 mL de suspensión viral concentrada 1.	22 542	22 109	20 890
		19 708	21 302	20 750
Suspensión viral concentrada 2 (C2 = 50 591 UD/mL)	0,080 mL de concentrado 2 + 5,100 mL de suspensión viral concentrada 2.	3013	3144	2873
		2474	2630	3117
	0,250 mL de concentrado 2 + 4,750 mL de suspensión viral concentrada 2.	4197	4530	4485
		3445	3799	4592
Suspensión viral concentrada 3 (C2 = 94 870 UD/mL)	0,080 mL de concentrado 2 + 5,140 mL de suspensión viral concentrada 3.	7773	8247	7314
		7210	6915	6609
	0,250 mL de concentrado 2 + 4,750 mL de suspensión viral concentrada 3.	11 523	12 671	10 456
		10 330	10 404	10 094

Para cada tipo y cada dilución o adición, el título medido de antígeno D es la media geométrica de 2 determinaciones.

- Linealidad: títulos teóricos y medidos en la suspensión viral concentrada diluida y con agregado

Las medias geométricas de la precisión de cada suspensión viral concentrada se utilizan para redefinir el título teórico de la suspensión viral concentrada diluida y con agregado.

- Los títulos teóricos para la dilución son iguales a:

$$- \text{ [media.de.la.precisión} * \text{ dilución]}$$

- Los títulos teóricos para la adición son iguales a:

$$\frac{[V_1 \times \text{concentración.del.concentrado}2 + V_2 \times \text{media.de.la.precisión}]}{V_1 + V_2}$$

Donde:

V<sub>1</sub> = volumen del concentrado 2 agregado a la suspensión viral concentrada (mL).

V<sub>2</sub> = volumen de suspensión viral concentrada (mL).



Los títulos medidos y teóricos de antígeno D se presentan en las tablas siguientes.



  
ROXANA MONTEMILONE  
DIRECTORA TÉCNICA  
SANOFI PASTEUR S.A.

  
CHRISTIAN DOMINGUEZ  
APODERADO  
SANOFI PASTEUR S.A.





**Tabla 65: Linealidad: títulos teóricos y medidos de antígeno D en la suspensión viral concentrada diluida y con agregado (UD/mL)**

Tipo	Título teórico (DU/ml)	Grupo 1 (UD/mL)	Grupo 2 (UD/mL)	Grupo 3 (UD/mL)
1 (Suspensión viral concentrada 1)	4232	3979	3989	3898
	6776	6696	6736	6523
	10 855	10 831	10 782	10 523
	17 337	13 951	15 659	14 427
	27 598	21 077	21 702	20 820
2 (Suspensión viral concentrada 2)	731	624	636	662
	1166	1067	1079	1077
	1874	1734	1834	1901
	2940	2730	2876	2993
	4613	3802	4148	4538
3 (Suspensión viral concentrada 3)	2265	2431	2347	2215
	3404	3729	3567	3348
	5092	5459	5438	5233
	7320	7486	7552	6953
	10 403	10 910	11 482	10 273

La recuperación porcentual se obtiene al expresar el título medido frente al título teórico.

**Tipo 1**

- Linealidad en los 5 niveles de titulación teóricos.

En todos los niveles de titulación teóricos, la prueba de Cochran se halla en el límite de significancia. Con la prueba de Dixon se detecta un valor atípico. Se acepta la ligera diferencia de varianza.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente es significativa, pero el ajuste correcto de la regresión lineal no lo es. No existe dependencia lineal entre los títulos teóricos y los títulos medidos en el conjunto de los niveles de titulación teóricos.

- Linealidad en los 4 niveles de titulación teóricos.

El enfoque se repite en los 4 niveles de titulación teóricos [6776 – 10 855 – 17 337 – 27 598] UD/mL.

En los 4 niveles de titulación teóricos la prueba de Cochran se halla en el límite de significancia y no se detecta ningún valor atípico con la prueba de Dixon. Se acepta la ligera diferencia de varianza.

El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que la pendiente es significativa. Se observa una desviación significativa de la linealidad; no obstante, la ligera curvatura es insignificante en relación con la pendiente de la regresión. Existe una dependencia lineal entre los títulos teóricos y los títulos medidos en los 4 niveles de titulación teóricos [6776 – 10855 – 17 337 – 27 598] UD/mL.



La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 8 es la siguiente:

$$Y = (0,736 \pm 0,250) + (0,810 \pm 0,060) \cdot X$$

Donde:

X: título teórico del antígeno D (log(UD/mL)).

Y: título medido del antígeno D (log(UD/mL)).

Coefficiente de correlación lineal:  $R^2 = 0,9945$ .

Rango de linealidad: [5954,13 – 24 927,30].

