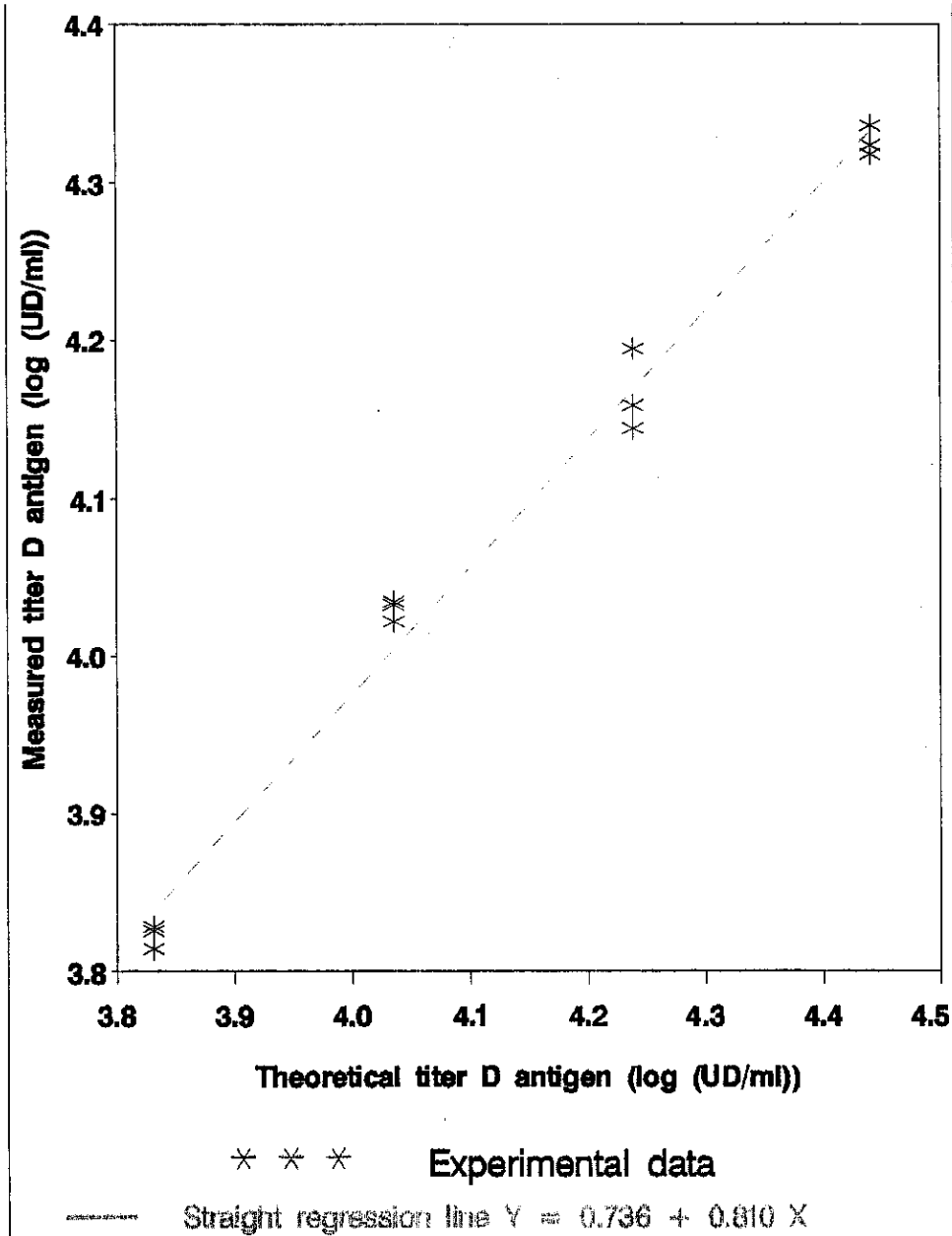


Figura 8: Gráfico de linealidad del tipo 1







Tipo 2

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de todos los niveles de titulación teórica 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 los títulos teóricos y los títulos medidos.

La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 9 es la siguiente:

$$Y = (-0,112 \pm 0,171) + (1,024 \pm 0,052) \cdot X$$

Donde:

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

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

Coefficiente de correlación lineal: $R^2 = 0,9964$.

Rango de linealidad: [552,15 - 5256,43].

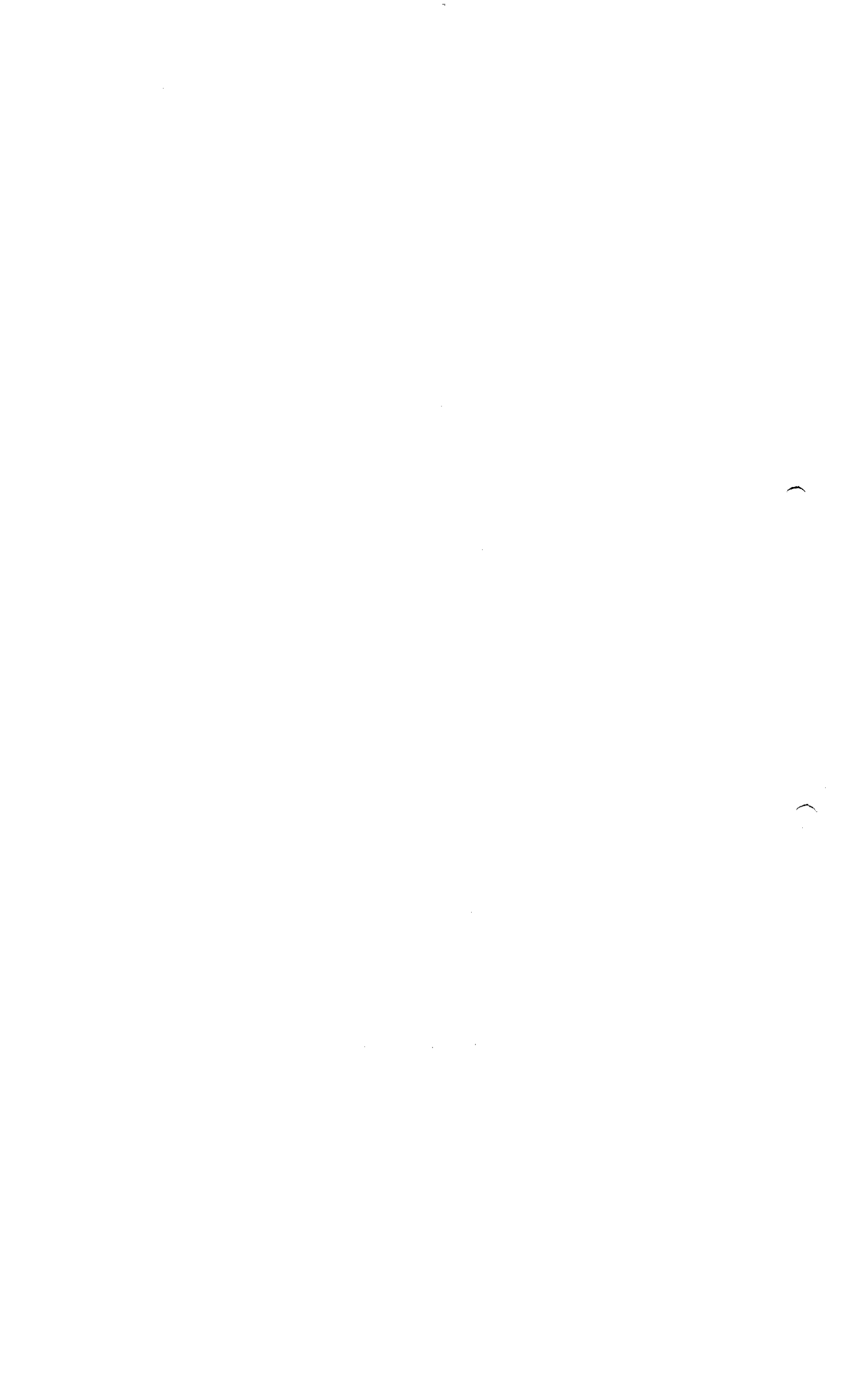
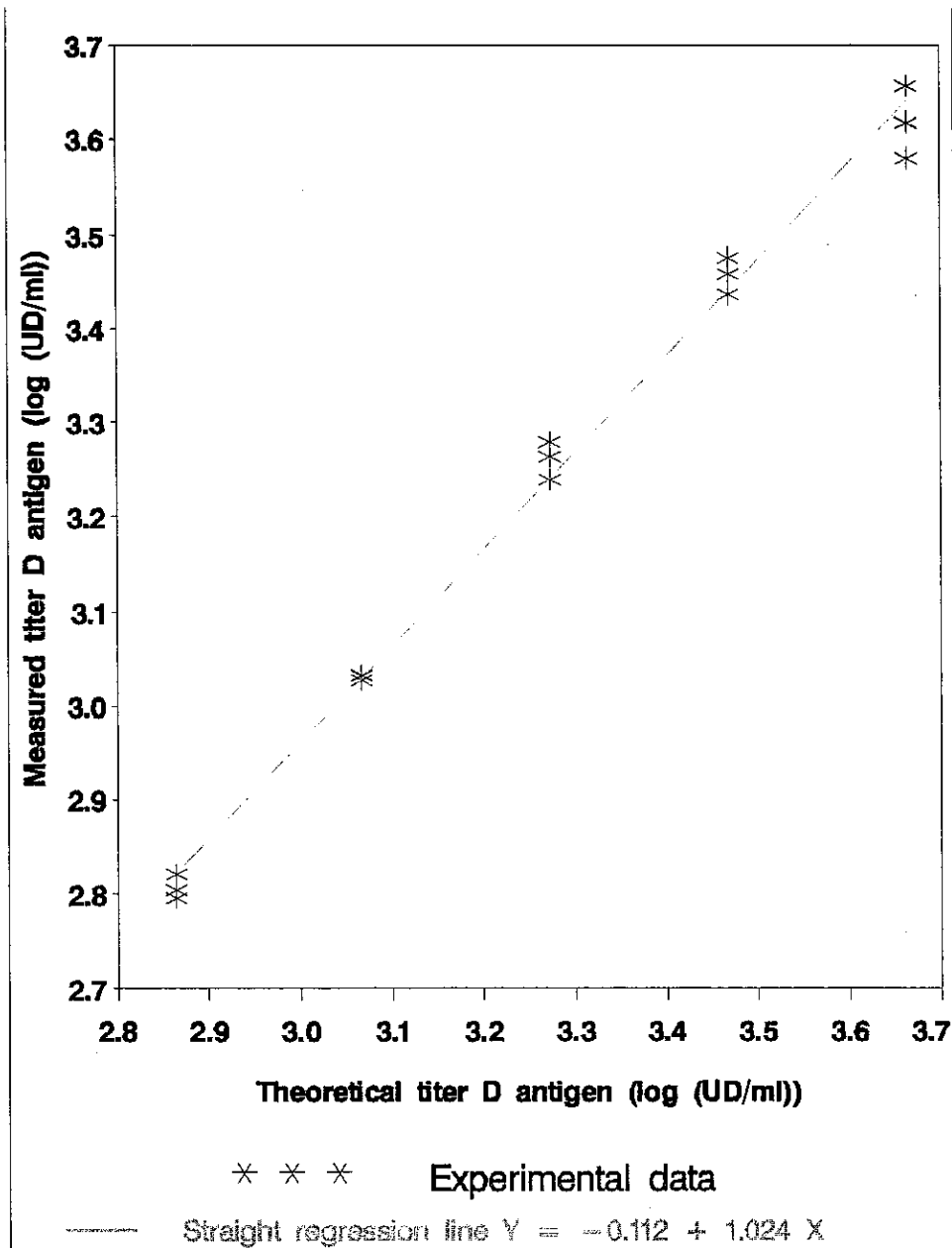
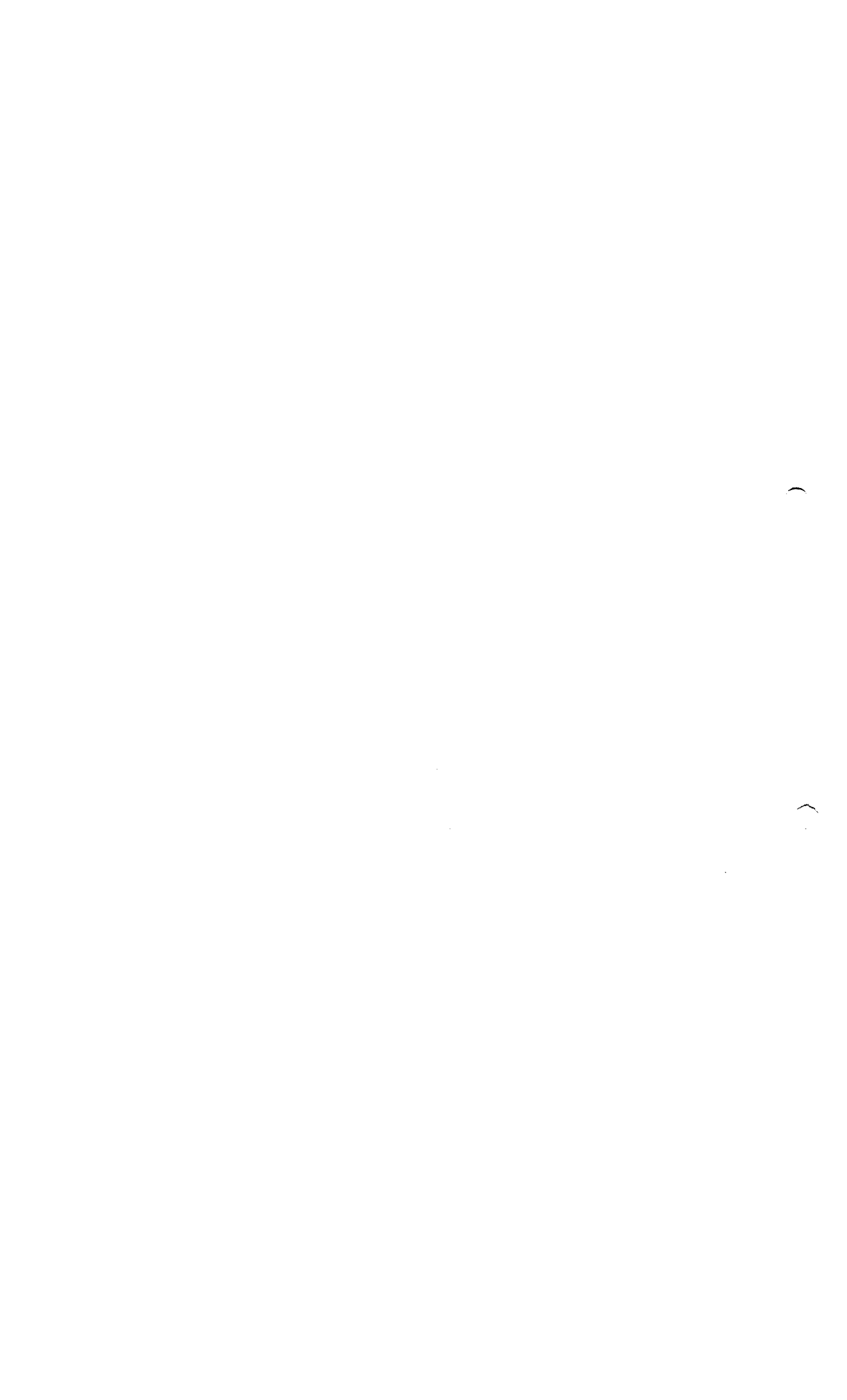




Figura 9: Gráfico de linealidad del tipo 2







Tipo 3

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de todos los niveles de titulación teóricos 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 los títulos teóricos y los títulos medidos.

La ecuación de la recta de regresión presentada en la figura 10 es la siguiente:

$$Y = (0,021 \pm 0,174) + (0,998 \pm 0,047) \cdot X$$

Donde:

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

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

Coefficiente de correlación lineal: $R^2 = 0,9969$.

Rango de linealidad: [2046,81 – 12 313,72].

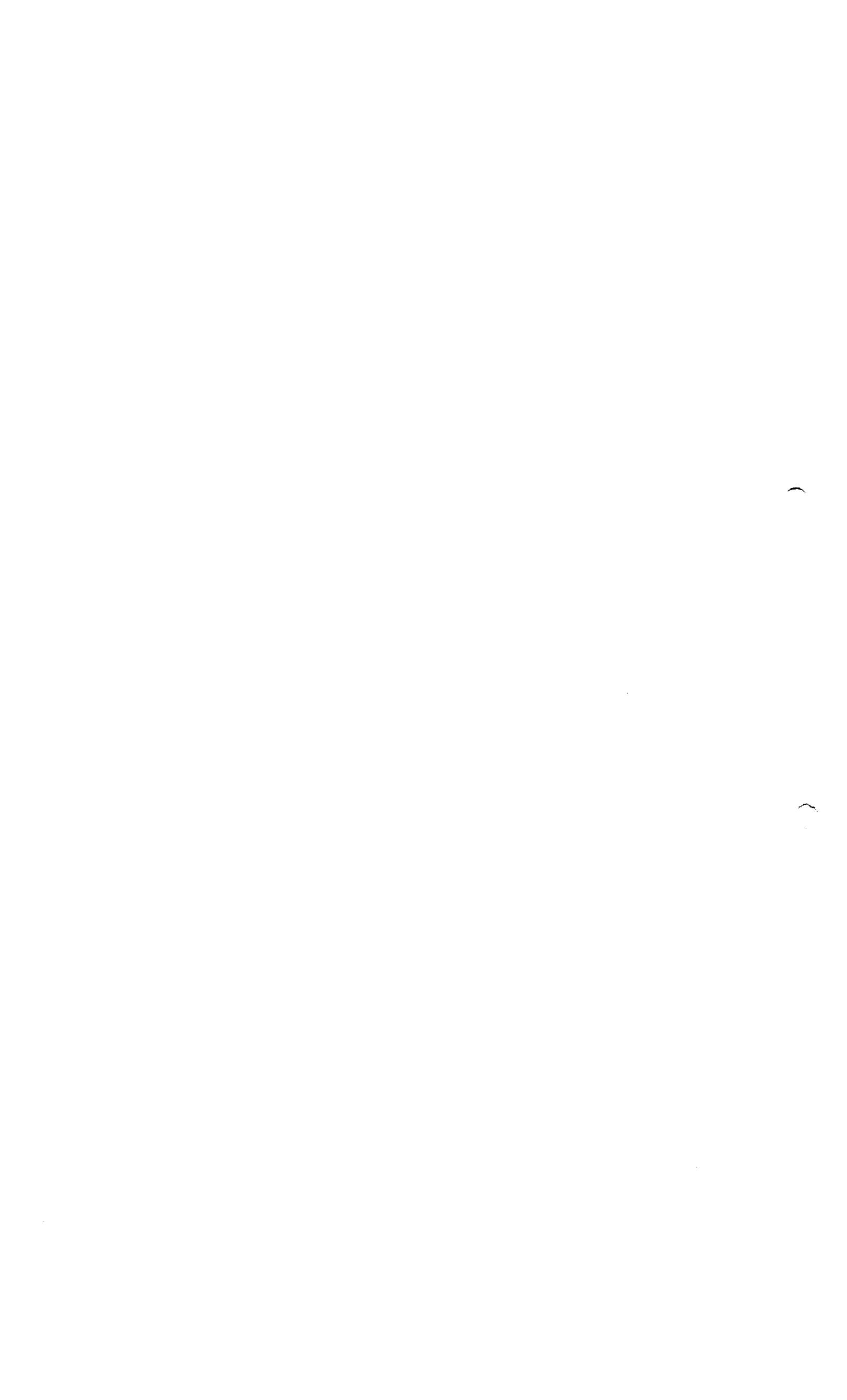
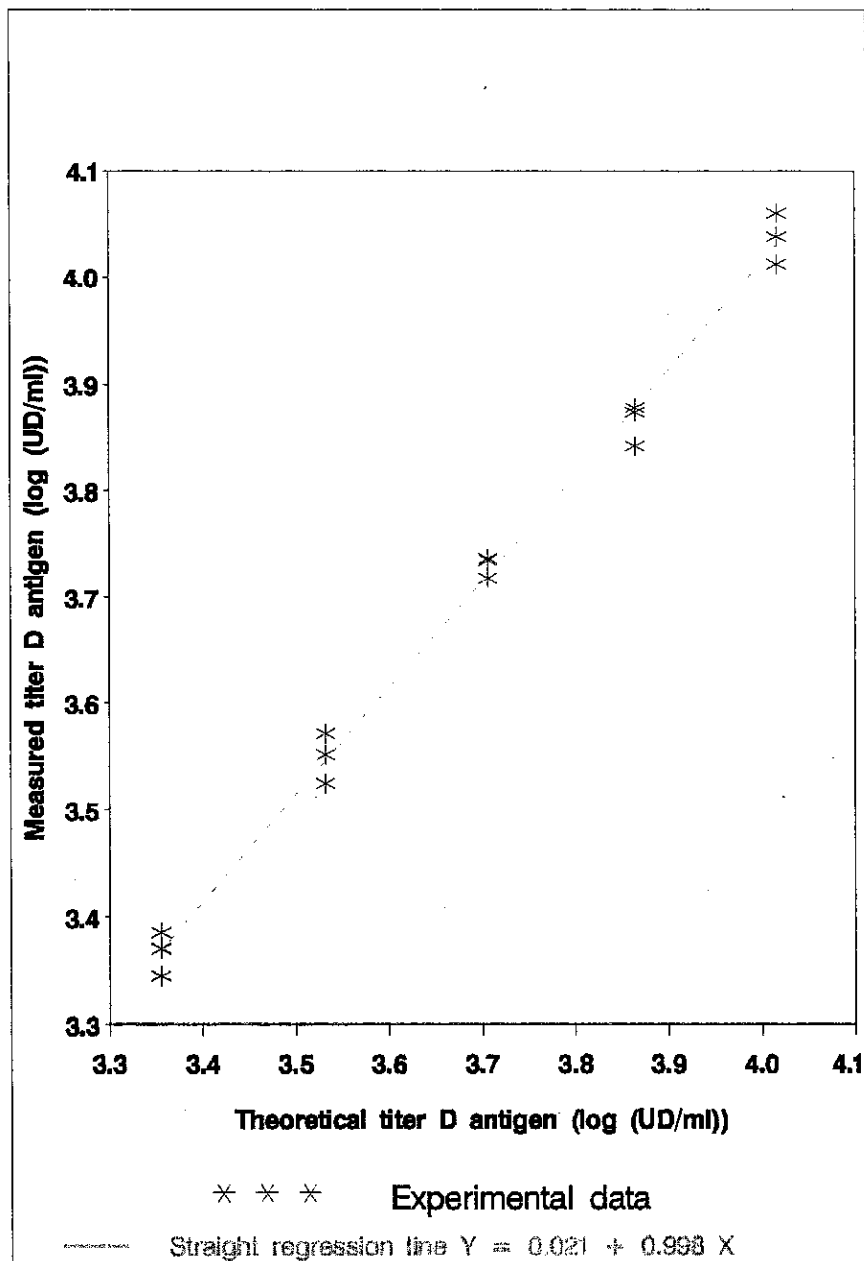
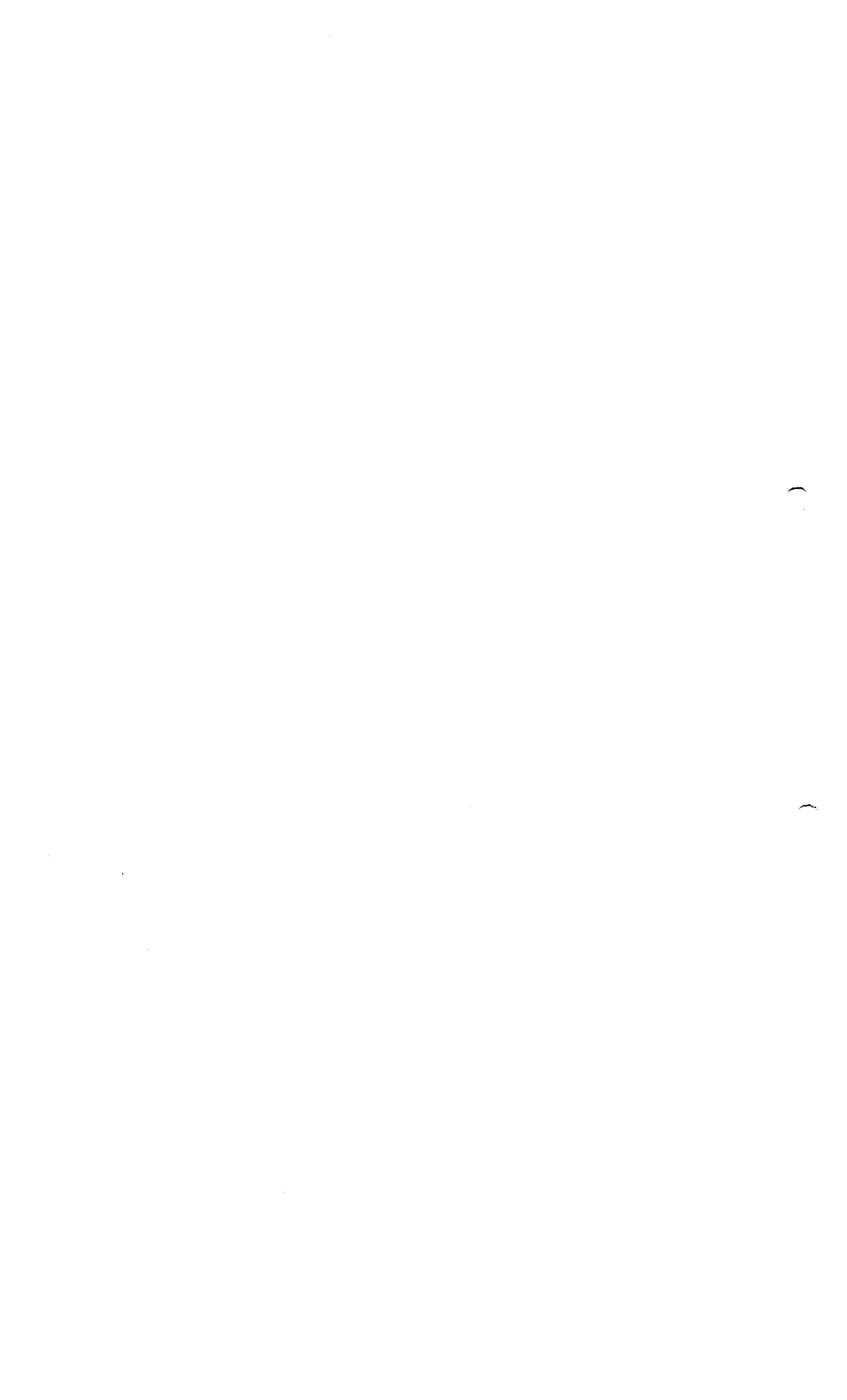


Figura 10: Gráfico de linealidad del tipo 3







- Exactitud

Los datos analizados corresponden a los resultados obtenidos para la linealidad.

Tipo 1

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los 3 niveles de titulación teóricos [6776 – 10 855 – 17 337] son homogéneas.

El análisis de varianza no permite llegar a la conclusión de que las medias entre niveles son iguales. Como las recuperaciones medias en los 3 niveles de titulación teóricos no son homogéneas, no se puede calcular la recuperación porcentual promedio.

Se calcula una recuperación promedio para el nivel de titulación teórico [6776 – 10 855] UD/mL y para el nivel de titulación teórico 17 337 UD/mL.

Las recuperaciones porcentuales promedio y sus límites de confianza del 95 % se presentan en la tabla 66.

Tabla 66: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulación teóricos previstos de antígeno D, tipo 1

Título teórico (DU/ml)	Recuperación porcentual	Límites de confianza del 95 %
[6776 – 10 855]	98%	[97 – 100]%
17 337	85%	[72 – 97]%

La recuperación porcentual promedio se sitúa entre el 80 % y el 120 %.

Tipo 2

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los niveles de titulación teóricos son homogéneas.

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

La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % se presentan en la tabla 67.

Tabla 67: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulación teóricos previstos de antígeno D, tipo 2

Recuperación porcentual	Límites de confianza del 95 %
93 %	[90 %- 96 %]

La recuperación porcentual promedio se sitúa entre el 80 % y el 120 %.

Tipo 3

La prueba de Cochran muestra que las varianzas de los niveles de titulación teóricos son homogéneas. El análisis de varianza permite llegar a la conclusión de que las medias entre niveles son iguales.

La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % se presentan en la tabla 68.

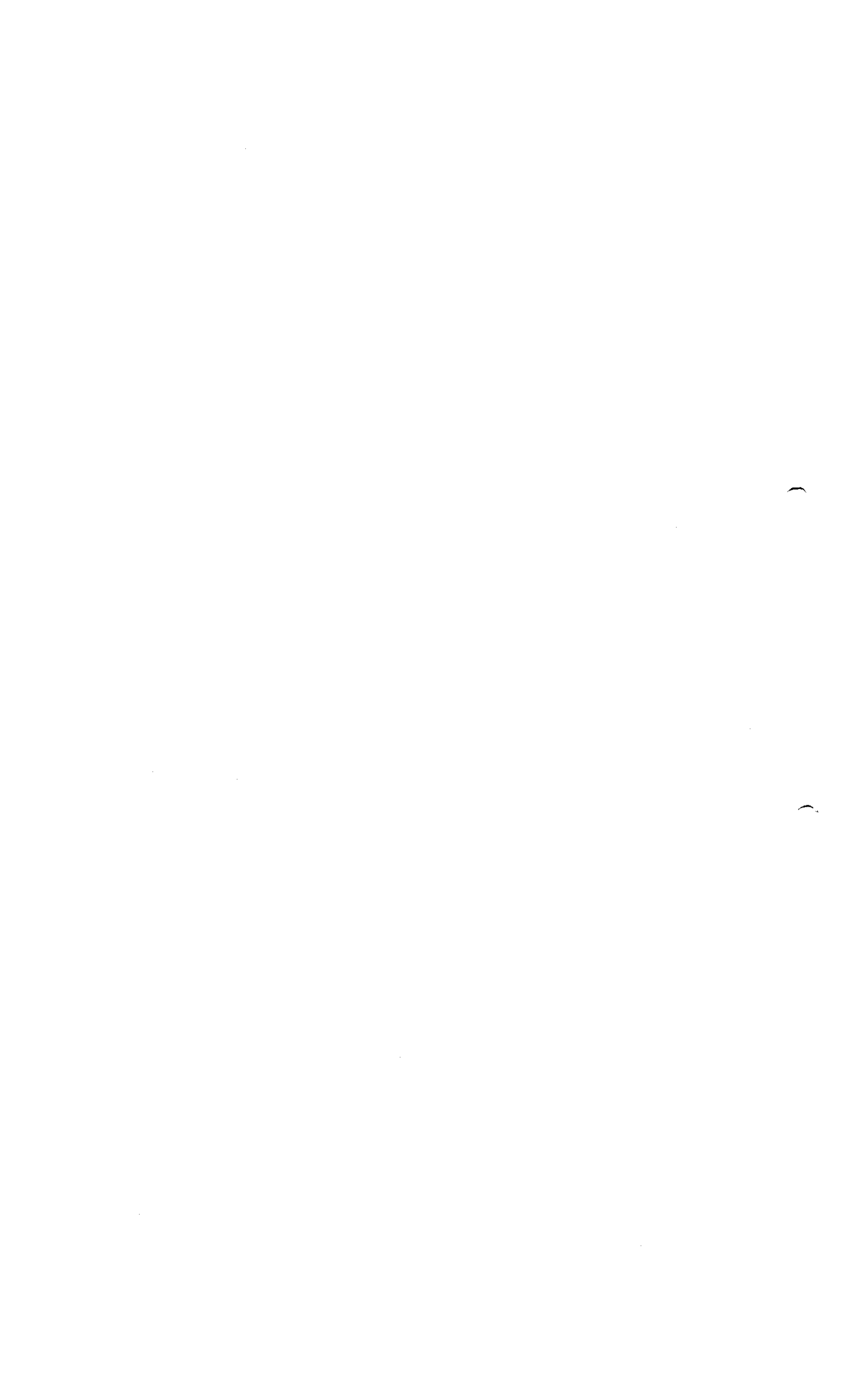




Tabla 68: Recuperaciones porcentuales promedio calculadas para los niveles de titulaciones teóricas previstos de antígeno D, tipo 3

Recuperación porcentual	Límites de confianza del 95 %
104 %	[101 %- 106 %]


La recuperación porcentual promedio se sitúa entre el 80 % y el 120 %.


- Precisión

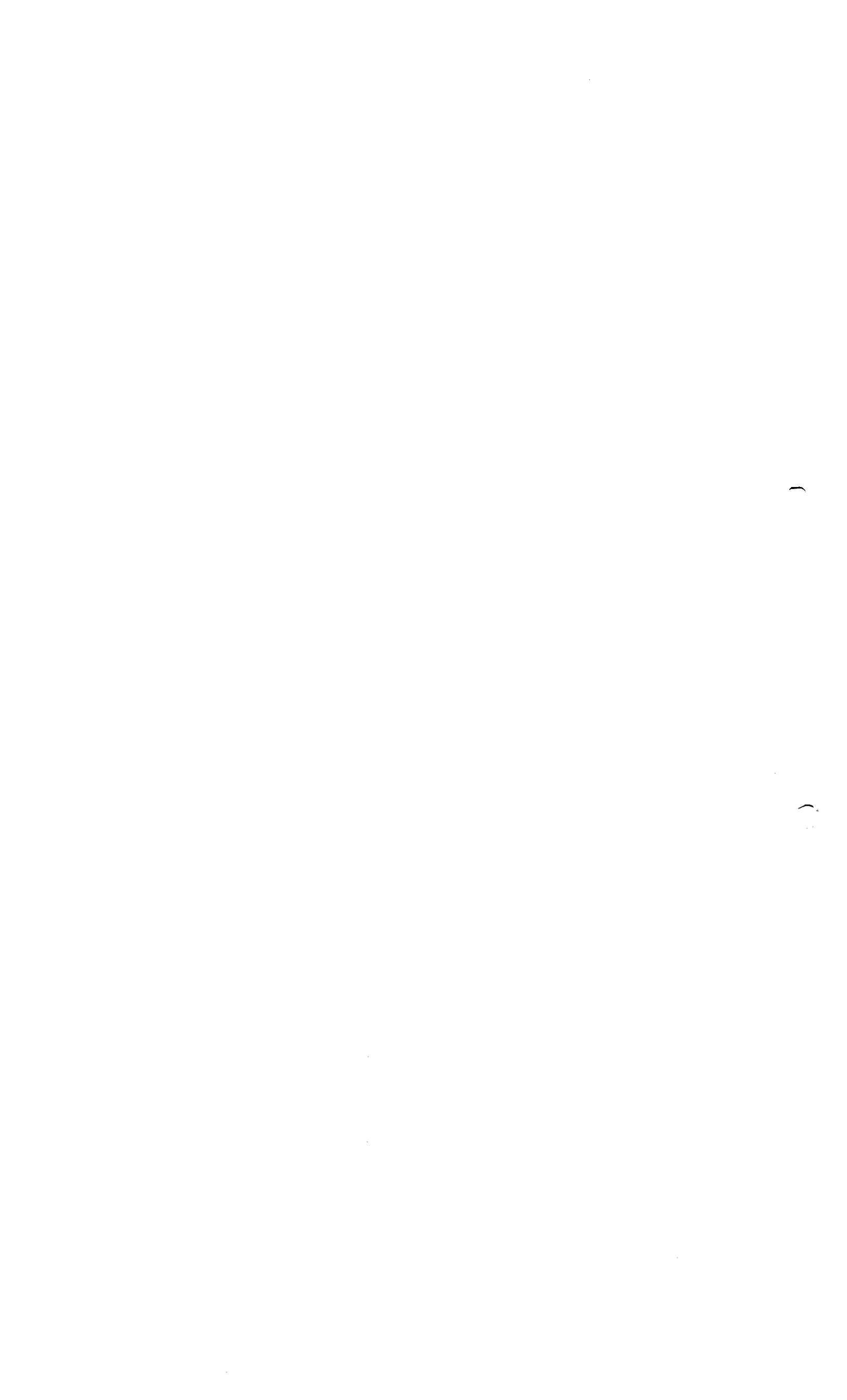
Tabla 69: Precisión: título de antígeno D en la suspensión viral concentrada (UD/mL)^a

Tipo	Grupo 1 (UD/mL)	Grupo 2 (UD/mL)	Grupo 3 (UD/mL)
1 (Suspensión viral concentrada 1)	11 031	11 176	11 879
	11 559	11 728	11 659
	11 477	12 857	11 644
	11 771	11 689	12 029
	10 942	12 541	11 491
	11 054	12 966	11 752
2 (Suspensión viral concentrada 2)	2315	2136	2258
	2217	2290	2165
	2096	2315	2076
	2162	2204	2168
	2173	2233	2240
	2115	2108	2223
3 (Suspensión viral concentrada 3)	5475	6307	5701
	5927	6115	6087
	5601	6326	6312
	5979	6282	5966
	5460	6116	6015
	5323	6326	6065

^a Todos los cálculos se realizan con logaritmos, dado que los datos siguen una distribución logarítmica normal.


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





Tipo 1

La media general es de 11 723 UD/mL en notación aritmética.

La prueba de Cochran se halla en el límite de significancia. Con la prueba de Dixon se detecta un valor atípico. Por tanto, se mantiene la varianza más alta (el caso más desfavorable) como estimación de la varianza de la repetibilidad, es decir, la varianza del grupo 2.

Las características de repetibilidad y precisión intermedia, y el intervalo de confianza del 95 % para 2 corridas y 1 medición que se realizan de manera habitual se presentan en la tabla 70:

Tabla 70: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 1

Características	Varianza	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 2 series con 1 medición
Características de repetibilidad	0,000685	0,026	/
Características de precisión intermedia	0,000813	0,029	± 0,048; esto es ×: 1,12 UD/mL en forma aritmética.

Tipo 2

La media general es de 2193 UD/mL en notación aritmética.

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

Las características de repetibilidad y precisión intermedia, y el intervalo de confianza del 95 % para 2 corridas y 1 medición que se realizan de manera habitual se presentan en la tabla 71:

Tabla 71: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 2

Características	Varianza	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 2 series con 1 medición
Características de repetibilidad	0,000228	0,015	/
Características de precisión intermedia	0,000228	0,015	± 0,023; esto es ×: 1,05 UD/mL en forma aritmética.

Tipo 3

La media general es de 5957 UD/mL en notación aritmética.

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

Las características de repetibilidad y precisión intermedia, y el intervalo de confianza del 95 % para 2 series y 1 medición que se realizan de manera habitual se presentan en la tabla 72:

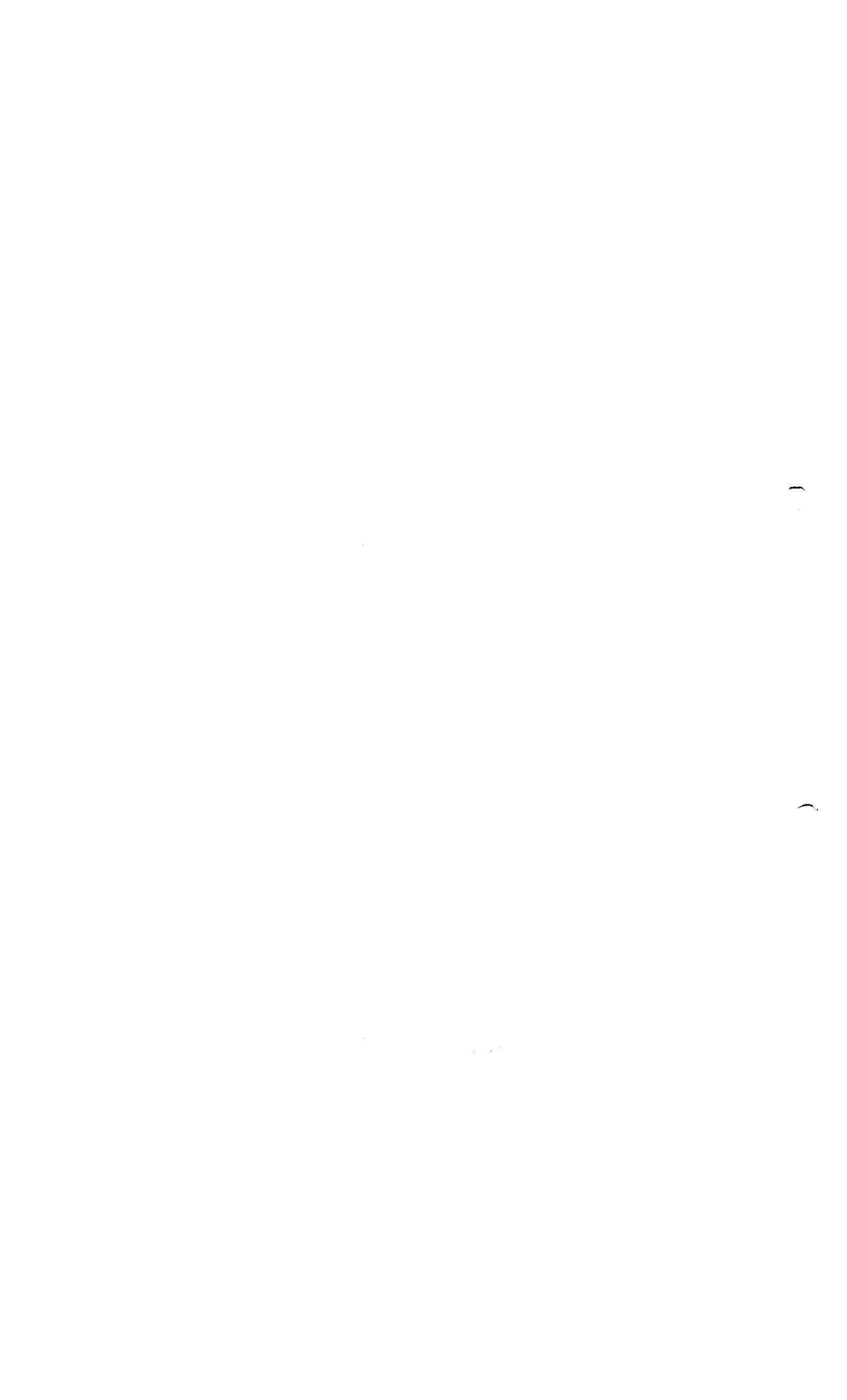




Tabla 72: Características de repetibilidad y precisión intermedia; tipo 3

Características	Varianza	Desviación estándar	Intervalo de confianza del 95 % para 2 series con 1 medición
Características de repetibilidad	0,000226	0,015	/
Características de precisión intermedia	0,000724	0,027	± 0,040; esto es x: 1,10 UD/mL en forma aritmética.

3.3.3.3 Conclusión

El método es específico para los tipos 1, 2 y 3.

El método es lineal en una escala doble logarítmica, en el rango:

- Tipo 1: [5954 – 24 927] UD/mL, no obstante, según la exactitud, el rango correspondiente es de [6776 – 17 337] UD/mL.
- Tipo 2: [552 – 5256] UD/mL.
- Tipo 3: [2047 – 12 314] UD/mL.

La exactitud queda demostrada para:

- Tipo 1: en el rango de [6776 – 17 337] UD/mL con una recuperación promedio de:
 - Para los niveles de titulación teóricos de 6 776 y 10 855 UD/mL: 98 %.
 - Para el nivel de titulación teórico de 17 337 UD/mL: 85%.
- Tipo 2: en el mismo rango descrito para la especificidad, con una recuperación promedio del 93 %.
- Tipo 3: en el mismo rango descrito para la especificidad, con una recuperación promedio del 104 %.

El método es preciso, ya que el intervalo de confianza de la precisión intermedia para 2 corridas con 1 medición que se realizan de manera habitual es de:

- Tipo 1: x/+ 1,12.
- Tipo 2: x/+ 1,05.
- Tipo 3: x/+ 1,10.


El método para determinar la titulación del antígeno D por ELISA (método sigmoideo) en la vacuna antipoliomielítica inactivada a la mezcla viral concentrada es válido.

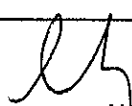
La etapa de mezcla viral concentrada cubre la etapa J0 de monovalente inactivado.

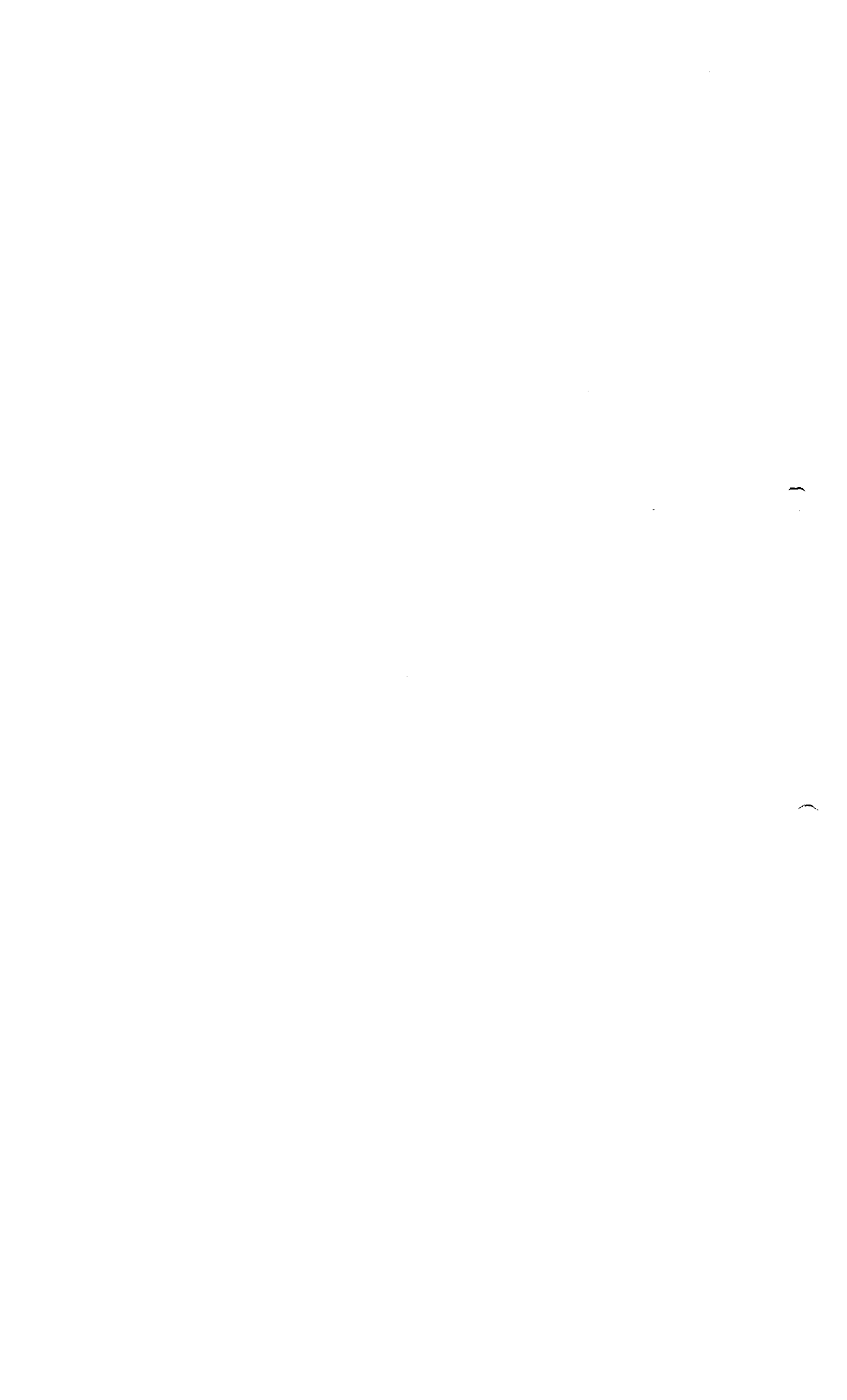
3.3.4 Métodos de validación del monovalente

La validación de los procedimientos analíticos de la cosecha única no descritos en la Ph. Eur. se presenta a continuación.

La validación del método de contenido del antígeno D se presenta en la sección 3.2.S.4.3 Validación del procedimiento analítico.


 ROXANA MONTEMILONE
 DIRECTORA TÉCNICA
 SANOFI PASTEUR S.A.


 CHRISTIAN DOMINGUEZ
 APODERADO
 SANOFI PASTEUR S.A.





3.3.4.1 Contenido proteico

3.3.4.1.1 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, cuya intensidad 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.

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 monovalente se consideran equivalentes. En consecuencia, los estudios se llevan a cabo sobre el serotipo 2.

- **Linealidad y exactitud:** tres operadores realizaron tres corridas independientes durante 3 días.
Cada corrida incluía un rango de 5 concentraciones de muestra de prueba.
- **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 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 73.





Tabla 73: Contenido proteico, resumen de validación

Características	Criterios de aceptación	Resultados
Linealidad	$P_{\text{linealidad}} \leq 0,01$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} > 0,05$	$P_{\text{linealidad}} < 0,0001$ $P_{\text{desviación de la linealidad}} = 0,94$ Después de un ajuste lineal de Y = concentración medida en función de X = concentración teórica, se observa la siguiente relación: $Y = 1,788 + 0,924 \cdot X$ Rango de linealidad: [2 - 47] µg/mL
Exactitud	La recuperación porcentual promedio calculada para los 4 niveles teóricos de concentración está incluida entre el 80% y el 120%.	La recuperación porcentual promedio y sus límites de confianza del 95 % son los siguientes: 102 % [93 % - 112 %].
Precisión	El intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia no debe ser superior a ± 10 µg/mL.	Media general: $\bar{m} = 34$ µg/mL. Los coeficientes de variación de repetibilidad y precisión intermedia son respectivamente iguales a: 6,56% y 8,09%. Intervalo de confianza del 95 % de la precisión intermedia para 1 serie con 1 medición: ± 7 µg/mL.

3.3.4.1.2 Resultados

Los datos analizados son concentraciones de proteína expresadas en µg/mL. Éstos se presentan en las tablas siguientes.

- Linealidad

La concentración media de proteína en la muestra pura es = 30,91 µg/mL (media de los 3 grupos). Así, la concentración teórica de proteína en la muestra se calcula del siguiente modo:

$$\text{Concentración teórica} = \frac{\text{Cantidad de monovalente (mL)} \times 30,91}{\text{Volumen de la muestra de prueba (mL)}}$$

