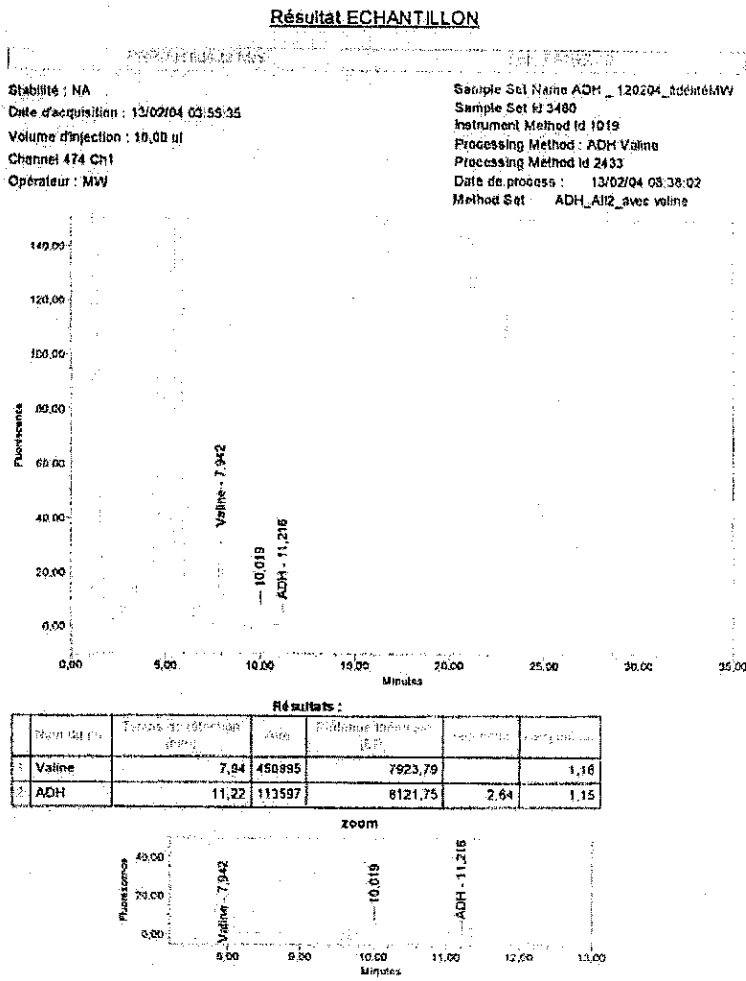




Figura 6: Contenido de ADH libre por HPLC en el PRP-AH: validación, cromatograma



Current Date 03/05/04

1 of

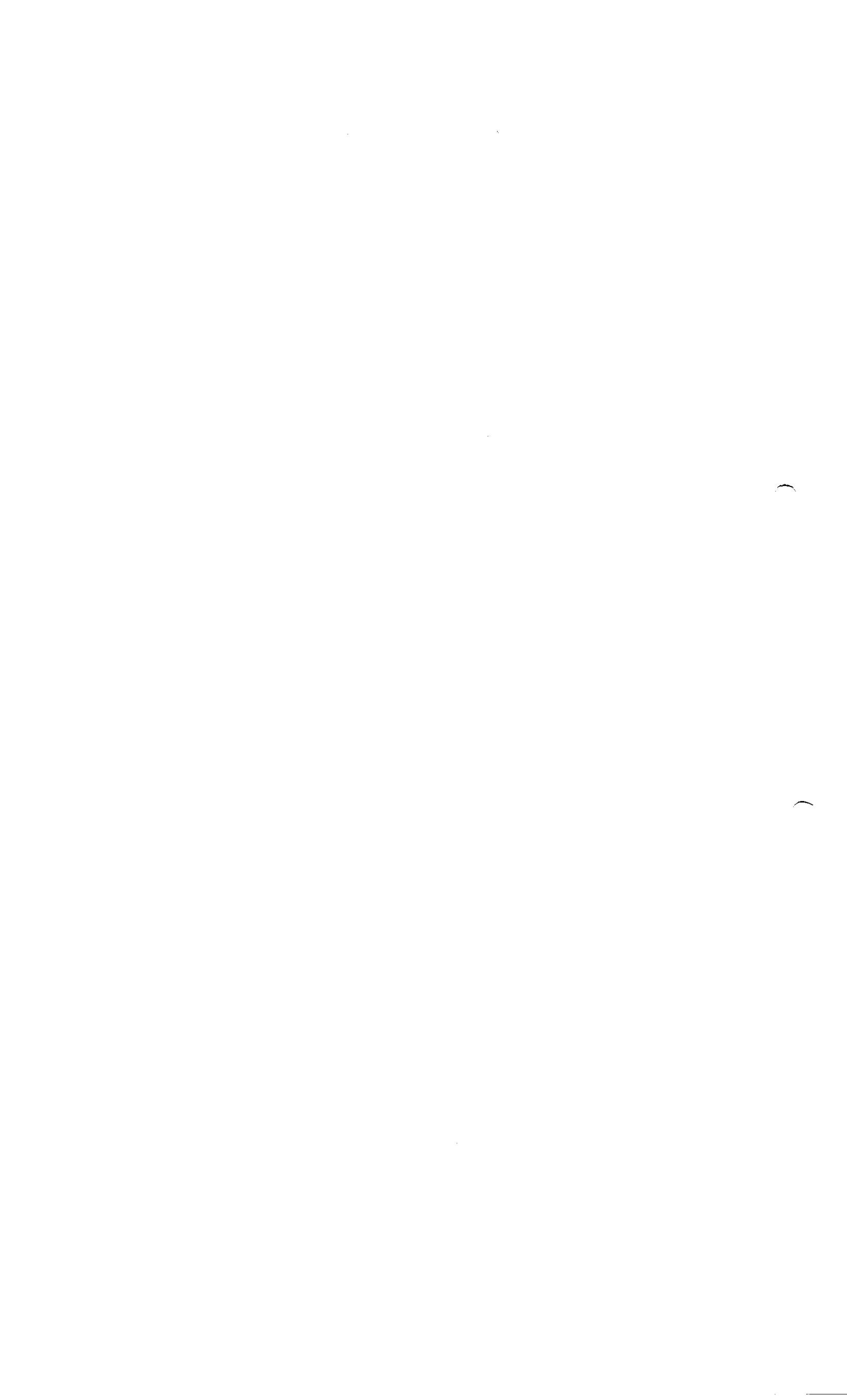
### 3.3.2 Linealidad, exactitud

Tres operadores llevaron a cabo tres corridas independientes en 2 días diferentes. Cada corrida incluía un rango de concentraciones de ADH diferentes (soluciones diluidas de PRP-AH o soluciones de PRP-AH con agregado con ADH).

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 19. Los datos corresponden a las concentraciones medidas de ADH expresadas en  $\mu\text{mol/L}$ .

**ROXANA MONTEMILONE**  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

**CHRISTIAN DOMINGUEZ**  
 APODERADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.



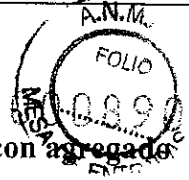


Tabla 19: Contenido de ADH libre por HPLC en el PRP-AH: validación; linealidad/exactitud; contenido de ADH en soluciones de PRP-AH diluidas o con agregado

Cantidad teórica(μmol/L)	Grupo 1 (μmol/L)	Grupo 2 (μmol/L)	Grupo 3 (μmol/L)	Dilución	Agregado(μmol/L de ADH)
1,122	1,29	1,33	0,99	1:20	/
4,487	5,00	4,26	3,69	1:5	/
7,243	7,58	6,97	6,45	/	5
12,243	12,22	11,85	11,25	/	10
22,243	21,29	19,59	20,79	/	20


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 teóricas y las cantidades medidas de ADH libre, y la linealidad de esta relación, se evalúan 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 = 0,82).

La ecuación de la recta de regresión es:

$$Y = (0,278 \pm 0,498) + (0,918 \pm 0,042) \cdot X$$

Donde:

- X = concentración teórica (g/L)
- Y = concentración medida (g/L)
- El coeficiente de correlación lineal obtenido es: r = 0,9971 con 13 grados de libertad.

  
**ROXANA MONTEMILONE**  
 DIRECTORA TÉCNICA  
 SANOFI PASTEUR S.A.

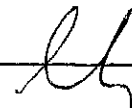
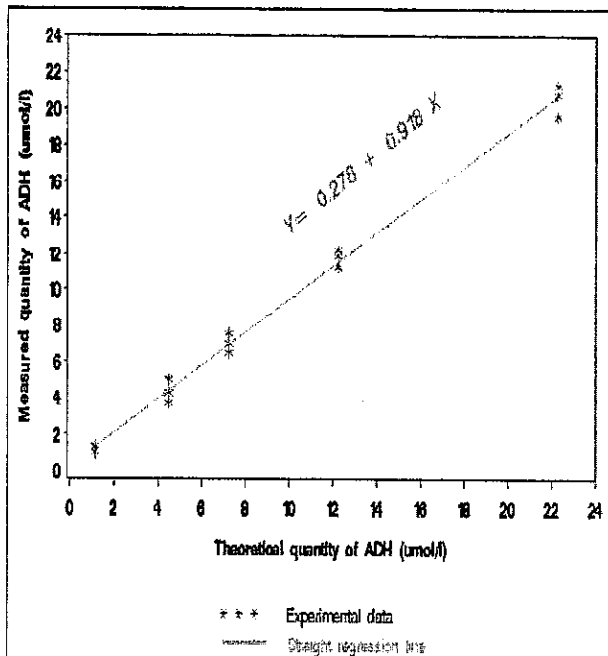
  
**CHRISTIAN DOMINGUEZ**  
 APODERADO  
 SANOFI PASTEUR S.A.





Figura 7: Contenido de ADH libre por HPLC en el PRP-AH: validación, gráfica de linealidad



**Exactitud**

Las recuperaciones porcentuales entre las cantidades de ADH libre medida y teórica se calculan para cada nivel de concentración y para todos los grupos. La homogeneidad de las varianzas intraniveles se verifica mediante la prueba de Cochran con un nivel de significancia del 5 %. Se demuestra la igualdad de las medias entre los niveles mediante el análisis de varianza y se calcula la recuperación porcentual media con límites de confianza del 95 %:

Tabla 20: Recuperación porcentual promedio

Recuperación porcentual	Límites de confianza del 95 %
97,7%	[91,9 - 103,5] %

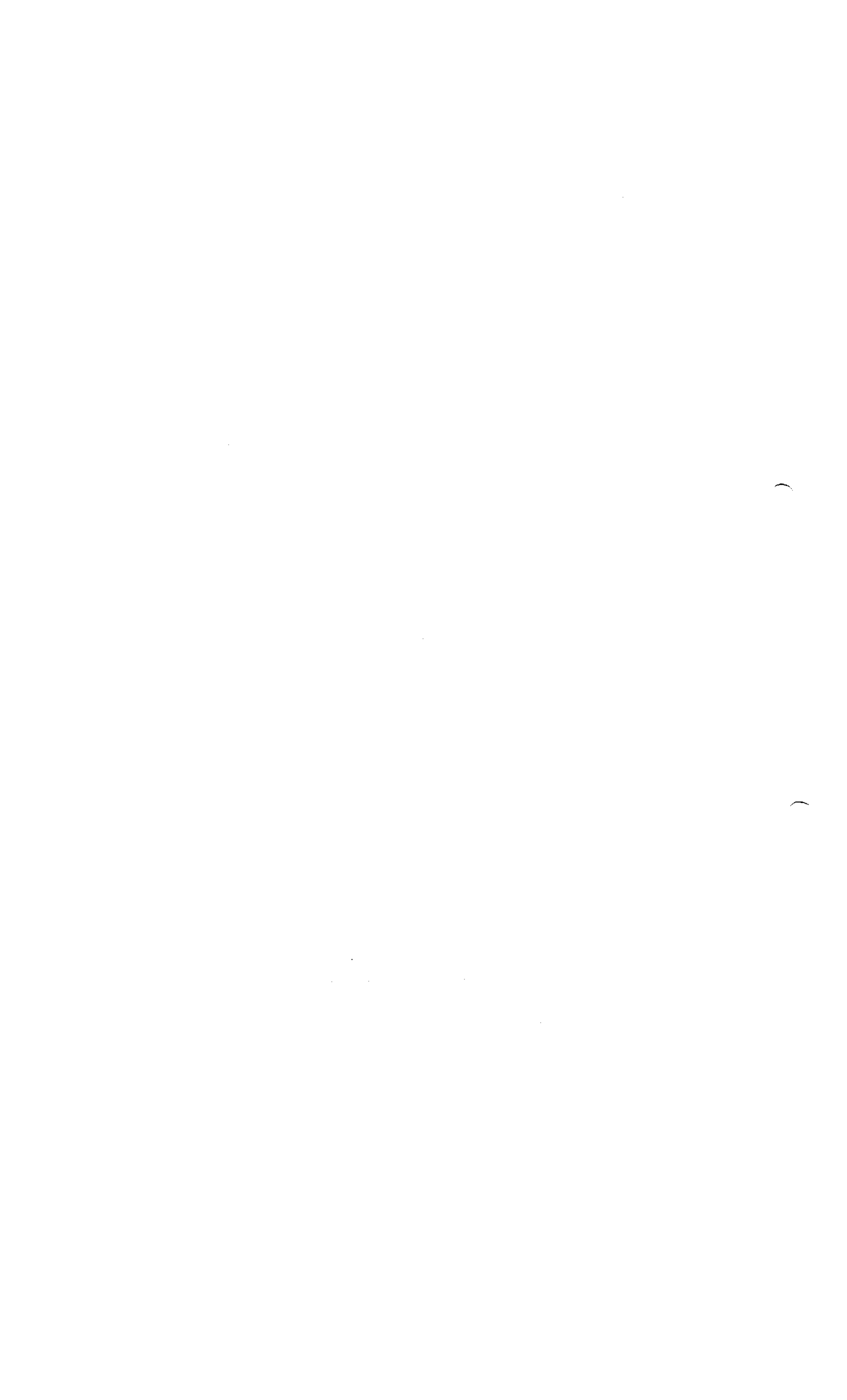
La recuperación porcentual promedio se encuentra entre el 75 % y el 125 %.

**Conclusión**

El método es lineal y exacto en el rango de [0,22,34] µmol/L de ADH en PRP-AH.

**3.3.3 Precisión**

Se analizaron nueve 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 2 operadores en diferentes días.





La precisión se expresó en función de la reproductibilidad y no de la repetibilidad debido a que la duración de la prueba es larga (20 horas). Para cada corrida, se determinó el contenido de ADH libre (expresado en  $\mu\text{mol/L}$ ). Los resultados se presentan en la tabla 21.

**Tabla 21: Contenido de ADH libre por HPLC en el PRP-AH: validación, precisión; contenido de ADH libre ( $\mu\text{mol/L}$ )**

Serie	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Contenido de ADH libre en el PRP-AH ( $\mu\text{mol/L}$ )	25,11	23,04	22,97	22,20	19,88	20,11	19,07	21,63	20,64

Las características de precisión intermedia, así como el intervalo de confianza del 95 %, correspondientes a 1 corrida se describen en la tabla 22.

**Tabla 22: Características de precisión intermedia**

Características	Varianza	Coefficiente de variación	Intervalo de confianza del 95 %
Características de precisión intermedia	1,908	8,8%	$\pm 4,40 \mu\text{mol/L}$

El intervalo de confianza de la precisión intermedia es inferior a  $\pm 10 \mu\text{mol/L}$ .

### 3.3.4 Límite inferior de cuantificación

La señal de ruido se determinó por medio de cromatogramas de las 9 soluciones del testigo del estudio de precisión. Las señales de ADH se midieron en las tres concentraciones para 9 pruebas en condiciones de precisión intermedia (dos operadores). Los resultados se presentan en la tabla 23.

**Tabla 23: Contenido de ADH libre por HPLC en el PRP-AH: validación, límite inferior de cuantificación**

Señal medida para los picos de ADH ( $\mu\text{V}$ )			Ruido de la solución testigo ( $\mu\text{V}$ )
0,5 $\mu\text{mol/L}$	1,0 $\mu\text{mol/L}$	2,5 $\mu\text{mol/L}$	
1831	3771	9653	197
1781	3377	8301	233
1467	2902	7134	300
1476	3311	8928	340
1401	2063	6316	318
808	1788	6001	328
1344	2987	8112	277

