

Estandarización de un procedimiento espectrofotométrico para la cuantificación de polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo X

Felix Cardoso-San Jorge* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2540-7934>

Bárbara Baró-Vinent ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5017-6571>

Marislen Hernández-Hernández ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9201-5004>

Jessy Pedroso-Fernandez** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5591-4972>

Vicente Veréz-Bencomo ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5596-6847>

Instituto Finlay de Vacunas, La Habana, Cuba.

email: fcardoso@finlay.edu.cu; jpedroso@finlay.edu.cu

En el presente trabajo se realiza la estandarización del procedimiento espectrofotométrico de determinación de polisacárido capsular e intermedios de *Neisseria meningitidis* serogrupo X, mediante la determinación de los grupos fosfodiéster presentes en su estructura, por el método de Chen. Se realizó un análisis de los siguientes criterios para la estandarización: linealidad, precisión (repetibilidad y precisión intermedia) y exactitud. Se demostró mediante el diseño experimental y los procedimientos estadísticos empleados que el método es lineal ($r > 0,99$), el coeficiente de variación del factor respuesta $< 5\%$, la desviación estándar relativa de la pendiente $< 2\%$, no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el intercepto de la ecuación con respecto a cero; exacto, porque no existe diferencia estadísticamente significativa entre la concentración determinada en un material de trabajo y su concentración nominal; también demostró ser repetible, pues el coeficiente de variación de las concentraciones de la muestra evaluada (2,44; 2,43; 0,88% para las concentraciones bajas, medias y altas, respectivamente) es inferior al 3% y no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los resultados obtenidos por dos analistas, evaluados durante cuatro días a tres niveles de concentración. La precisión intermedia es satisfactoria.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*; fósforo; estandarización; espectrofotometría.

Introducción

Neisseria meningitidis es el agente causal fundamental de la meningitis severa y otras formas de enfermedades meningocócicas como la sepsis y la septicemia. En estudios epidemiológicos realizados por la Organización Mundial de la Salud, se han identificado hasta 12 serogrupos de este microorganismo; seis de ellos (A, B, C, W, X y Y) son los responsables de la inmensa mayoría de las epidemias.

El factor de virulencia más importante de esta bacteria, para la mayoría de los serogrupos, es su cápsula polisacárida. Por eso, desde hace más de tres décadas, se aplican en el mundo vacunas compuestas por polisacáridos capsulares aislados a partir del cultivo bacteriano. El principio fundamental de esta acción se basa en que la respuesta inmune contra la cápsula es capaz de iniciar la destrucción de la bacteria, lográndose la protección contra las enfermedades. Su

uso en las epidemias cíclicas en el llamado cinturón de la meningitis en África, así lo demuestra.

Una segunda generación son las vacunas conjugadas, más complejas, pues se realiza la modificación química del polisacárido que se acopla a una proteína portadora, con lo que se logra generar memoria inmunológica en los niños.⁽¹⁾

Se han descritos casos ocasionados por serogrupos de esta bacteria antes considerados poco frecuentes, comenzando a emerger el serogrupo X, en diferentes países como Burkina Faso,⁽²⁾ Níger,^(3,4) Tongo⁽⁵⁾ y Ghana.⁽⁶⁾

En la epidemia del año 2010 se informaron más de 6.500 casos de meningitis. En Burkina Faso se estimó que alrededor de 1.000 fueron provocados por el meningococo serogrupo X, con localidades que informaron incidencias de 120 casos por cada 100.

* MSc. Química, Investigador Agregado.

** MSc. Química, Investigador Auxiliar.

000 habitantes.⁽⁷⁾ Ninguna de las vacunas comerciales contra *Neisseria meningitidis* incluye al serogrupo X.

La adición del serogrupo X a cualquier vacuna polivalente está considerada una necesidad. En el Instituto Finlay de Vacunas (IFV), se han iniciado las investigaciones para la obtención de un candidato vacunal, que tendrá entre sus componentes, el polisacárido correspondiente a este serogrupo, conjugado a una proteína portadora, en este caso el toxoide diftérico o tetánico.

La cápsula polisacáridica en el meningococo serogrupo X está constituida por unidades repetitivas de N-acetilglucosaaminafosfodiéster, siendo el método de Chen y col.^(8,9) el más utilizado para la cuantificación del contenido del grupo fosfato presente en la unión fosfodiéster de los monosacáridos. Este método es uno de los más reportados para la cuantificación de fosfatos.

Los métodos analíticos que se utilizan en los laboratorios se deben estandarizar y validar como garantía de la calidad del producto.⁽¹⁰⁾ La estandarización y la validación son metodologías para la obtención de pruebas que documentan y demuestran experimentalmente que un proceso es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de los intervalos definidos.⁽¹¹⁾ Las normas de Buenas Prácticas de Fabricación, la Convención de Farmacopeas y la Conferencia Internacional de Armonización plantean que la estandarización y validación debe aplicarse tanto a los procesos de fabricación como a los métodos de análisis y control.⁽¹²⁾

Materiales y Métodos

Muestras y disoluciones empleadas

Los polisacáridos capsulares del serogrupo X de meningococo se suministraron por el Grupo de Fermentación de la Dirección de Desarrollo.

Los productos intermedios (polisacáridos fragmentados y modificados) se suministraron por el Grupo de Glicoconjugación perteneciente a la Dirección de Investigaciones.

El material de referencia del polisacárido de meningococo serogrupo X, se suministró por el Laboratorio de Control de Calidad, de la Dirección de Control de Calidad, todos pertenecientes al IFV, Cuba.

Todos los reactivos utilizados fueron suministrados por Merck y son de calidad puros para análisis.

Disolución estándar de dihidrógeno fosfato de potasio monobásico: 43,8 µg/mL (cada 100 µL contiene 100 µg de fósforo elemental).

Mezcla de reactivos desarrolladores de color: se utilizó para la cuantificación del polisacárido capsular y los productos intermedios, se preparó inmediatamente antes de su uso y se obtuvo mediante la mezcla de disoluciones de ácido sulfúrico 6 mol/L, molibdato de amonio 2,5% (m/v), agua destilada y ácido ascórbico 10% (m/v) en una proporción 1:1:2:1 (v:v:v:v).

Mezcla de fusión (F): tres volúmenes de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ 98,079g/mol; 1,83g/cm³; 95-97% y dos volúmenes de ácido perclórico (HClO₄ 100,46g/mol; 1,67g/cm³; 72%).

Procedimiento basado en el método de Chen

A un volumen de 0,1 mL de la muestra, se le añadió 0,1 mL de la mezcla de fusión y se calentó por 20 min a 200°C en baño seco. A continuación, se enfrió hasta temperatura ambiente y se adicionó 3,9 mL de agua destilada.

A un volumen de 1 mL de las muestras digeridas, el blanco (agua destilada) y el patrón de trabajo de fósforo elemental, se les añadió 1 mL de la disolución desarrolladora de color (descrita previamente en: muestras y disoluciones empleadas).

Se calentó a 37°C por 90 min en un baño de agua. Se midió la absorbancia a 820 nm en un espectrofotómetro modelo JENWAY 6705.

Para el procesamiento de los resultados se empleó una hoja de cálculo en Microsoft Excel, versión 2016. Se determinó el valor de concentración de cada punto de la curva de calibración a partir de las absorbancias y se obtuvo un ajuste lineal a partir de la ecuación: $y = mx + a$. La concentración de las muestras se calculó a partir de los valores de absorbancias mediante el método de mínimos cuadrados. Se promediaron los valores de las concentraciones (mg/mL) obtenidas, cuyas absorbancias estuvieran dentro del rango de la curva de calibración y que su coeficiente de variación (CV) intraensayo fuera inferior al 5%. Se utilizó el programa STATGRAPHICS 5 plus, para realizar los cálculos y procesamientos estadísticos.

Parámetros de estandarización

Se evaluaron la especificidad, linealidad, exactitud y precisión.⁽¹³⁾

Especificidad

Se realizó la evaluación, utilizando el procedimiento basado en el método de Chen, a muestras de proteínas portadoras: anatoxina tetánica (TT) y diftérica (TD) y de polisacáridos (dextrana) sin presencia de fosfatos en su estructura (sin realizarle una previa dilución antes de aplicarle el procedimiento en estudio), así como a muestras de dos lotes de MenX como comparador.

Linealidad

Para ello se evaluó la curva de calibración en el intervalo de 1-9 µg de fósforo elemental, evaluando cada una de las concentraciones por cuadruplicado. Mediante los programas Microsoft Excel versión 2016 y STATGRAPHICS 5 plus, se calculó la ecuación de la recta, su coeficiente de correlación (r), el coeficiente de variación del factor respuesta (CVf), la desviación estándar relativa de la pendiente (Sbrel), así como se realizó la prueba de proporcionalidad para el intercepto, demostrándose que no hay diferencia estadística del intercepto con cero.⁽¹⁴⁾

Exactitud

Se realizó mediante la cuantificación de un material de referencia del polisacárido capsular del meningococo serogrupo X, con un valor nominal, determinado a través de procedimientos de resonancia magnética nuclear cuantitativa, HPLC con detector DIONEX, método de determinación de fosforo inorgánico y electroforesis capilar.⁽⁹⁾

Se evaluó que no existiera diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos usando el procedimiento y su valor nominal. Para ello, utilizando el programa STATGRAPHICS 5 plus, se realizó una comparación de la media obtenida experimentalmente de la cuantificación del material de referencia y el valor nominal de este material.

Precisión

Se evaluó en condiciones de repetibilidad (estudio intraensayo) y precisión intermedia (estudio interensayo).

Para el estudio de repetibilidad, se realizó la determinación, por sextuplicado en estudio intraensayo, de muestras de polisacárido capsular del serogrupo X a tres niveles de concentración (bajo, medio y alto), por un mismo analista, en las mismas condiciones de día, laboratorio y equipamiento.

Los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente, con la utilización de las herramientas de Microsoft Excel versión 2016; se calcularon los CV de cada nivel de concentración y se compararon con el valor del coeficiente aceptado para metodologías basadas en métodos espectrofotométricos, que debe ser inferior al 3%.⁽¹⁵⁾

Para el estudio de precisión en condiciones de precisión intermedia, se cuantificaron muestras de polisacárido del serogrupo X a tres niveles de concentración (bajo, medio y alto), por dos analistas en tres días diferentes, en iguales condiciones de laboratorio y equipamiento.^(16,17) Para demostrar su cumplimiento se evaluó que los CV fueran inferiores al 5% entre los resultados obtenidos, para ambos analistas, durante los tres días, para tres niveles de concentración (baja, media, alta).⁽¹⁸⁾

Resultados y Discusión

La estandarización y validación de los métodos analíticos utilizados en las actividades de Investigación-Desarrollo desempeñan un papel determinante, pues de ellos depende la comprobación confiable y reproducible de los índices de calidad de los resultados obtenidos para el desarrollo de los diferentes candidatos vacunales que se investigan y se desarrollan.

Tabla 1. Procesamiento analítico del estudio de especificidad.

Causalidad	A1	A2	Am
Dextrana	0,005	0,003	0,004
TT(H ₂ O)1708	0,012	0,010	0,011
DT(H ₂ O)1709	0,018	0,021	0,020
Men X lote A	0,619	0,625	0,609
Men A lote B	0,432	0,429	0,426

TT: anatoxina tetánica. TD: anatoxina diftérica. A_{1,2,...n}: absorbancia de cada réplica. A_m: absorbancia media.

Tabla 2. Comparación de los resultados experimentales y los criterios de aceptación para el estudio de la linealidad.

Parámetros	Teórico	Experimental
Ecuación de la recta	$y = mx + a$	$y = 0,1073x - 0,0091$
r	$\geq 0,99$	0,9994
CVf	$\leq 5 \%$	4,08
Sb_{rel}	$\leq 2 \%$	0,84
Intercepto(a)	0 incluido en IC a	[-0,0199; 0,0017]

Tabla 3. Resultados experimentales de cuantificación del material de referencia utilizado en el estudio de exactitud.

C_1 (mg/mL)	C_2 (mg/mL)	C_3 (mg/mL)	C_m (mg/mL)	S	IC(0;05;S;9)	Valor nominal (mg/mL)
3,456	3,472	3,500				
3,454	3,443	3,476	3,478*	0,044	0,028	3,500
3,411	3,456	3,483				
3,476	3,587	3,520				

Tabla 4. Resultados del estudio de repetibilidad a tres niveles de concentración.

Réplicas	C_1	C_2	C_3	C_m (S)	CV(%)
Concentraciones bajas (mg/mL)					
1	0,280	0,284	0,286		
2	0,284	0,286	0,287		
3	0,287	0,285	0,288		
4	0,282	0,290	0,283	0,288(0,007)	2,44
5	0,299	0,307	0,299		
6	0,282	0,290	0,285		
Concentraciones medias (mg/mL)					
1	0,544	0,541	0,546		
2	0,543	0,549	0,550		
3	0,585	0,561	0,564		
4	0,561	0,573	0,552	0,560(0,014)	2,43
5	0,577	0,583	0,567		
6	0,564	0,568	0,559		
Concentraciones altas (mg/mL)					
1	0,816	0,822	0,821		
2	0,811	0,816	0,819		
3	0,825	0,830	0,822		
4	0,826	0,831	0,823	0,823(0,007)	
5	0,822	0,815	0,820		
6	0,836	0,831	0,836		

$C_{1,...,n}$: concentración. C_m : concentración media (mg/mL). S: desviación estándar. CV: coeficiente de variación.

Tabla 5. Resultado del estudio de precisión intermedia a tres niveles de concentración.

	Concentraciones bajas (mg/mL)		Concentraciones medias (mg/mL)		Concentraciones altas (mg/mL)	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
	0,221	0,223	0,466	0,459	0,657	0,671
	0,227	0,233	0,457	0,458	0,659	0,672
	0,224	0,228	0,453	0,458	0,661	0,671
	0,220	0,227	0,463	0,433	0,665	0,658
	0,220	0,227	0,469	0,441	0,670	0,670
	0,223	0,227	0,464	0,437	0,660	0,664
	0,227	0,219	0,447	0,450	0,660	0,656
	0,228	0,224	0,451	0,453	0,657	0,670
	0,222	0,224	0,448	0,452	0,650	0,676
C_m	0,225		0,453		0,664	
S	0,004		0,010		0,007	
CV (%)	1,60		2,18		1,07	

C_m : concentración en mg/mL. S: desviación estándar. CV: coeficiente de variación

El método analítico establecido se clasificó como ensayo cuantitativo, de acuerdo con la clasificación de las agencias reguladoras del uso de medicamentos,⁽¹³⁾ por tratarse de un ensayo destinado a cuantificar contenido de analitos mayoritarios. El diseño de la estandarización que se empleó, se realizó teniendo en cuenta la clasificación reguladora por lo que se evaluaron los parámetros siguientes: especificidad, linealidad, precisión (precisión intraensayo e interensayos) y exactitud.⁽¹¹⁾

Se estudió la especificidad del método mediante la evaluación de muestras de proteínas que se utilizan frecuentemente como portadoras en la obtención de conjugados y polisacáridos que no presentan fosfato en su estructura, sin realizarle diluciones previas para el análisis.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. Se observó que aun siendo altas las concentraciones de las muestras estudiadas, las absorbancias medidas son muy pequeñas, lo que demuestra que el procedimiento es específico para analitos que tengan fósforo en su estructura.

El estudio de la linealidad de la curva de calibración en el rango de trabajo, resultó que es satisfactoria (Tabla 2). Se observó que los resultados de los análisis estadísticos obtenidos en todos los casos cumplieron con el criterio de aceptación propuestos para cada prueba: la ecuación de curva de calibración obtenida fue: $y = 0,1073 x - 0,0091$ y el coeficiente de correlación (r) igual a 0,9994.

El CVf (Absorbancia/Concentración) fue de 4,08%. La Sbrel calculada tiene un valor de 0,84%. Al aplicar la prueba de proporcionalidad del intercepto, el intervalo de confianza resultó ser $[-0,0199; 0,0017]$.

Los resultados del estudio de exactitud del procedimiento analítico se muestran en la Tabla 3. Se compara la concentración media de un material de referencia (por cuadruplicado), evaluada mediante el procedimiento en estudio, con su valor nominal, utilizando la prueba t student; se demuestra que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el valor obtenido experimentalmente y el valor nominal del material utilizado para un nivel de confianza del 95%, por lo que el método es exacto bajo las condiciones del estudio.

Los resultados de la evaluación de la precisión (repetibilidad y precisión intermedia) cumplen los criterios de aceptación preestablecidos, los CV son inferiores al 3% para la repetibilidad (Tabla 4) e inferior al 5% para la precisión intermedia (Tabla 5).

Conclusiones

Los resultados de la estandarización del procedimiento basado en el método de Chen demostraron que puede utilizarse en Investigación-Desarrollo al mantener un control analítico adecuado y demostrarse que es específico, lineal en el intervalo de concentraciones estudiadas, preciso en condiciones de repetibilidad y precisión intermedia y exacto.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Roles de autoría

Felix Cardoso-San Jorge participó en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, Investigación, metodología, visualización, redacción (borrador original) y revisión/edición.

Barbara Baró-Vinent participó en la conceptualización, curación de datos, investigación, metodología y visualización.

Marislen Hernández-Hernández participó en la investigación, visualización.

Jessy Pedroso-Fernández participó en el análisis formal, metodología, redacción (borrador original), revisión y visualización.

Vicente Vérez-Bencomo participó conceptualización, revisión y visualización.

Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final de este manuscrito.

Referencias

- Marshall HS, McMillan M, Koehler AP, Lawrence A, Sullivan TR, MacLennan JM, et al. Meningococcal B vaccine and meningococcal carriage in adolescents in Australia. *New Engl J Med.* 2020;382(4):318-27. doi: <https://10.1056/NEJMoa1900236>.
- Soeters HM, Diallo AO, Bicaba BW, Kadadé G, Dembélé AY, Aycl MA, et al. Bacterial meningitis epidemiology in five countries in the meningitis belt of sub-Saharan Africa, 2015–2017. *J Infect Dis.* 2019;220(220 Suppl4):S165-74. doi: <https://10.1093/infdis/jiz358>.
- Djibo I, Yanogo P, Kaboré J, Sawadogo B, Alkassoum I, Antara S, et al. Tendances de la méningite au Niger de 2008 à 2015: analyses complémentaires des données. *Médecine et Santé Tropicales.* 2019;29(4):435-9. doi: <https://10.1684/mst.2019.0954>.
- Mustapha MM, Harrison LH. Vaccine prevention of meningococcal disease in Africa: Major advances, remaining challenges. *Hum Vaccin Immunother.* 2018;14(5):1107-15. doi: <https://10.1080/21645515.2017.1412020>.
- Brynildsrud OB, Eldholm V, Bohlin J, Uadiale K, Obaro S, Caugant DA. Acquisition of virulence genes by a carrier strain gave rise to the ongoing epidemics of meningococcal disease in West Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(21):5510-5. doi: <https://10.1073/pnas.1802298115>.
- Hamid A. Molecular Epidemiology and Predictability of Meningococcal Outbreaks in Upper East Region of Northern Ghana. [Tesis de Maestría]. Ghana: Universidad de Ghana; 2018. Disponible en: <http://ugspace.ug.edu.gh/handle/123456789/26248>. (Consultado en línea: 31 agosto de 2022).
- Chen WH, Neuzil KM, Boyce CR, Pasetti MF, Reymann MK, Martellet L, et al. Safety and immunogenicity of a pentavalent meningococcal conjugate vaccine containing serogroups A, C, Y, W, and X in healthy adults: a phase 1, single-centre, double-blind, randomised, controlled study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(10):1088-96. doi: [https://10.1016/S1473-3099\(18\)30400-6](https://10.1016/S1473-3099(18)30400-6).
- Micoli F, Romano MR, Tontini M, Cappelletti E, Gavini M, Proietti D, et al. Development of a glycoconjugate vaccine to prevent meningitis in Africa caused by meningococcal serogroup X. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(47):19077-82. doi: <https://10.1073/pnas.1314476110>.
- Vipond C, Swann CJ, Dougall TW, Rigsby P, Gao F, Beresford NJ, et al. Evaluation of candidate international standards for meningococcal serogroups A and X polysaccharide. *Biologicals.* 2017;47:33-45. doi: <https://10.1016/j.biologicals.2017.03.001>.
- López ÁM, Garzón WF, Rosero-Moreano M, Tabora G. Análisis de cocaína en diferentes muestras por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID). *Rev Colomb Quím.* 2015;44(1):19-22. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v44n1/v44n1a03.pdf>. (Consultado en línea: 31 agosto de 2022).
- Wood-Duque M, Hernández-Caso N, Delgado-Martínez I, Montañez-Valdez M, Sánchez-García JC. Validación del método de Ellman para la determinación de la concentración de grupos sulfhidrilosa muestras de la producción de la vacuna sintética contra el Haemophilus influenzae tipo b G de caballo antitoxina tetánica. *VacciMonitor.* 2014;23(2):73-80. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203431615006>. (Consultado en línea: 1 septiembre de 2022).
- Saha P, Pandey MM. Design of Experiment (DoE)-Approach Based RP-HPLC Analytical Method Development and Validation for Estimation of Efavirenz in Bulk and Formulations. *J Chromatogr Sci.* 2022;60(1):35-44. doi: <https://10.1093/chromsci/bmab029>.
- Parra TV, Carballo CRR, Torres GR. Validación de un método analítico para la valoración del inyectable liofilizado Amfotericina B. *Rev Cubana Farm.* 2021;54(3):e633. Disponible en: <http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/633/427>. (Consultado en línea: 1 septiembre de 2022).
- United States Pharmacopeial Convention. Committee of Revision. XXII UP, XVII N. United States Pharmacopeial Convention. Rockville: United States Pharmacopeial Convention Inc; 1990.
- Romero-Mariscal GM. Validación de un método analítico para la cuantificación de boro en aguas por espectrofotometría, Arequipa-2019. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Privada Autónoma del Sur; 2020. Disponible en: <http://repositorio.upads.edu.pe/xmlui/handle/UPADS/84>. (Consultado en línea: 1 septiembre de 2022).
- Dalal J, Rana R, Harale K, Hanif S, Kumar N, Singh D, et al. Development and pre-clinical evaluation of a synthetic oligosaccharide-protein conjugate vaccine against Neisseria meningitidis serogroup C. *Vaccine.* 2019;37(36):5297-306. doi: <https://10.1016/j.vaccine.2019.07.053>
- Má Pensamiento SF. Validación de los métodos analíticos aplicados al agua potable utilizada en el elaboración de soluciones orales hidratantes de acuerdo a la Farmacopea USP XXV como

método documentado de control para el mantenimiento de la calidad de la misma en Laboratorios Alfa Farmacéutica SA. [Tesis para optar por el título de Ingeniero Químico]. Ciudad de Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2015. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2252/1/Sergio%20Fernando%20M%C3%A1%20Pensamiento.pdf>. (Consultado en línea: 1 septiembre de 2022).

18. Vadell HC, Calviño LC, Hernández LR, Rodríguez CR. Evaluación del desempeño de los métodos analíticos para el estado redox extracelular en suero humano. *Rev Cubana Farm.* 2021;54(3): e630. Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/630/422>. (Consultado en línea: 31 agosto de 2022).

Standardization of a spectrophotometric procedure for the quantification of *Neisseria meningitidis* serogroup X capsular polysaccharide

Abstract

The present work comprises the standardization a spectrophotometric procedure for assessing *Neisseria meningitidis*, serogroup X capsular polysaccharide and their intermediates of modification, the phosphodiester groups present in its structure, based on Chen method. An analysis of the following standardization criteria was performed: linearity, precision (repeatability and intermediate precision) and accuracy. It was demonstrated through the experimental design and the statistical procedures used that the method is linear ($r > 0.99$), the coefficient of variation of the response factor $< 5\%$, the relative standard deviation of the slope $< 2\%$, with no statistically significant difference between the intercept of the equation with respect to zero; exact, because there is no statistically significant difference between the concentration determined in a work material and its nominal concentration; it also proved to be repeatable, because the coefficient of variation of the concentrations of the sample (2.44; 2.43; 0.88 % for low, medium and high concentrations respectively) is less than 3% and there is no statistically significant difference between the means of the results obtained by two analysts, evaluated for four days at three concentration levels. Its intermediate precision was satisfactory.

Keywords: *Neisseria meningitidis*; phosphorus, standardization; spectrophotometry.

Recibido: 21 de diciembre del 2021

Aceptado: 13 de abril de 2022